

**PENGARUH MANITOL DAN SUKROSA PADA MEDIA
PERTUMBUHAN UNTUK PENYIMPANAN JANGKA
MENENGAH TUNAS PISANG cv. KEPOK
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**






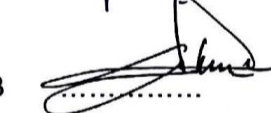
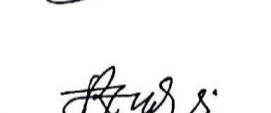
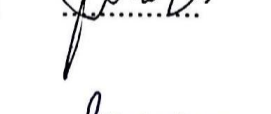

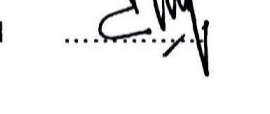
**STEFANI LIANATA
3425122235**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2017**

**PENGARUH MANITOL DAN SUKROSA PADA MEDIA PERTUMBUHAN
UNTUK PENYIMPANAN JANGKA MENENGAH TUNAS PISANG cv. KEPOK
SECARA IN VITRO**

Nama : Stefani Lianata

No. Reg : 3425122235

Nama		Tanggal
Penanggung Jawab		
Dekan : <u>Prof. Dr. Suyono, M.Si</u> NIP. 19671218 199303 1 005		10/02/2017
Wakil Penanggung Jawab		
Pembantu Dekan : <u>Dr. Muktiningsih, M.Si</u> NIP. 19640511 198903 2 001		10-02-2017
Ketua : <u>Dra. Yoswita Rustam, M.Si</u> NIP. 19530909 19800 2 002		9-02-2017
Sekretaris/Penguji I: <u>Dr. Adisyahputra, M.S</u> NIP. 19601111 198703 1 003		9/2/17
Anggota		
Pembimbing I : <u>Dr. Reni Indrayanti, M.Si</u> NIP 19621023 199803 2 002		3/2/2017
Pembimbing II : <u>Agung Sedayu, S.Si., M.Sc</u> NIP. 19750911 200112 1 004		3.2.17
Penguji II : <u>Dra. Ernawati, M.Si</u> NIP. 19650917 199203 1 001		6/2/2017

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 26 Januari 2017

ABSTRAK

STEFANI LIANATA. Pengaruh Manitol dan Sukrosa Pada Media Pertumbuhan Untuk Penyimpanan Jangka Menengah Tunas Pisang cv. Kepok Secara *In vitro*. Skripsi Program Studi Biologi. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2017.

Indonesia memiliki lebih dari 200 kultivar pisang, yang diantaranya adalah pisang cv. Kepok. Meskipun pisang cv. Kepok banyak terdapat dipasaran, hanya 10% yang diekspor karena jumlahnya hanya mampu memenuhi kebutuhan dalam negeri. Penyimpanan secara *in vitro* merupakan langkah yang dapat dilakukan untuk upaya penyimpanan plasma nutfah secara *in vitro* plantlet pisang cv. Kepok. Penggunaan manitol dan sukrosa dapat digunakan sebagai osmoregulator dan dapat memperlambat metabolisme pisang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari konsentrasi manitol dan sukrosa yang tepat untuk penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*. Metode yang dilakukan adalah eksperimen dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL), terdiri dari 2 faktor yaitu sukrosa (1.5, 3%) dan konsentrasi manitol (0,1,2%) dengan 20 pengulangan, masa penyimpanan selama 5-6 bulan. Hasil menunjukkan bahwa media MS (*Murashige and Skoog*) dengan penambahan manitol 20 gL^{-1} + sukrosa 30 gL^{-1} (M_2S_3) dapat digunakan untuk penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*. Media MS + manitol 20 gL^{-1} + sukrosa 30 gL^{-1} dapat mengakibatkan pertumbuhan minimal yang dapat dilihat dari jumlah daun, jumlah akar, dan tinggi plantlet. Perlakuan tersebut merupakan perlakuan yang efektif untuk menyimpan plantlet dalam waktu 6 bulan tanpa dilakukan subkultur.

Kata kunci: *penyimpanan jangka menengah, manitol, sukrosa, pisang cv. Kepok, regenerasi.*

ABSTRACT

STEFANI LIANATA. Effect of Mannitol and Sucrose In Medium Term Storage Media For Shoot Banana cv. Kepok In vitro. Thesis Biological Studies Program. Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Jakarta. 2017.

Indonesia has more than 200 cultivars of bananas, which include banana cv. Kepok. Although banana cv. Kepok widely available in the market, only 10% are exported because there is only able to meet domestic needs. In vitro storage is a step that can be done to attempt germplasm storage in vitro banana cv. Kepok. The use of mannitol and sucrose can be used as osmoregulator and can slow the metabolism of bananas. The purpose of this study was to look for mannitol and sucrose concentration appropriate for medium-term storage in vitro. The method used was experimental research design completely randomized design (CRD), consists of two factors, sucrose (1.5, 3%) and the concentration of mannitol (0,1,2%) with 20 repetitions, the storage period for 5-6 months. Results showed that MS medium (Murashige and Skoog) with the addition of mannitol 20 gL^{-1} + sucrose 30 gL^{-1} (M_2S_3) can be used for medium-term storage in vitro. Media MS + mannitol 20 gL^{-1} + sucrose 30 gL^{-1} resulted in minimum growth that can be seen from the number of leaves, number of roots, and the height of plantlets. Such treatment is an effective treatment for the storage of plantlets within 6 months without any subculture.

Keywords: *medium-term storage, mannitol, sucrose, banana cv. Kepok, regeneration.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan kasih dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Manitol dan Sukrosa Pada Media Pertumbuhan Untuk Penyimpanan Jangka Menengah Tunas Pisang cv. Kepok Secara *In vitro*” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta. Skripsi ini disusun berdasarkan apa yang telah penulis lakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Biologi kampus B FMIPA UNJ selama 10 bulan, dari bulan Januari 2016 – Oktober 2016.

Selesainya skripsi ini tidak terlepas dari bantuan banyak pihak yang telah membantu dan memberikan masukan kepada penulis. Penulis dengan ini mengucapkan terima kasih kepada ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si selaku Pembimbing I dan ketua program studi Biologi UNJ yang telah memberikan dukungan penulis serta mengarahkan penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan baik, bapak Agung Sedayu, S.Si, M.Sc selaku Pembimbing II yang dengan penuh kesabaran membimbing, memberi saran dan bantuan selama penyusunan skripsi hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, bapak Dr. Adisyahputra, M.S selaku Penguji I dan ibu Dra. Ernawati, M.Si selaku Penguji II yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam penulisan skripsi ini, dan ibu Yoswita Rustam, M.Si selaku pembimbing akademik yang setia memberikan arahan kepada penulis.

Penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada orang tua tercinta mama Nella Harahap, bapak Kadir Hutapea, ka Agnes, bang Loli, ka Linda, dan bang Erick yang telah banyak memberikan doa, nasehat, dorongan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan lancar. Teman-teman kultur jaringan (Riza, Debby, Putri, Hery, Rani, Amalia, Pratiwi, Ka Bagus, Ka Sunani, Ka Lutfi) yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian. Semangat terus buat

kita semua. Teman-teman seperjuangan Andisa, Family, Dwi, Agustina, Hazleini, Sherly, Dinda, Tiya, Tria dan Lita serta teman-teman BioRe 2012 yang selalu menghibur, mendukung, membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi dan menjadi bagian hidup penulis selama perkuliahan. Teman-teman selama KKN UNJ 2016 Melani, Qorina, Puji, Ranita, Hanifah, Dwi, Ipih dan Marwan yang telah memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini terdapat beberapa kekurangan. Penulis mohon maaf dengan segala kerendahan hati apabila terdapat kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik para pembaca agar dapat mengembangkan penelitian ini menjadi lebih baik lagi sehingga bermanfaat bagi masyarakat. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Jakarta, 27 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	
ABSTRAK PENELITIAN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Kajian Pustaka.....	5
1. Deskripsi Tanaman Pisang.....	5
2. Kultur Jaringan Tanaman.....	8
3. Penyimpanan Planlet Secara <i>In vitro</i>	10
4. Penggunaan Manitol dan Sukrosa Untuk Penyimpanan Plantlet Jangka Menengah.....	13
B. Kerangka Berfikir.....	17
C. Hipotesis Penelitian.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Tujuan Operasional.....	19
B. Tempat dan Waktu.....	19
C. Metode Penelitian.....	19
D. Prosedur Kerja.....	22

1. Peralatan Penelitian dan Bahan Kimia Medium Dasar	22
2. Pelaksanaan Percobaan	23
E. Teknik Pengumpulan Data	24
F. Teknik Analisis Data.....	25

BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Regenerasi tunas Pisang cv. Kepok Hasil Proliferasi Secara <i>In vitro</i>	26
B. Penyimpanan Jangka Menengah Secara <i>In Vitro</i> Plantlet Pisang cv. Kepok Hasil Regenerasi	28
1. Jumlah Daun	28
2. Jumlah Akar.....	31
3. Jumlah Tunas	35
4. Tinggi plantlet	39
C. Regenerasi Pisang cv. Kepok Hasil Penyimpanan Jangka Menengah Secara <i>In vitro</i>	44

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	52
B. Saran	52

DAFTAR PUSTAKA	53
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	60
-----------------------	-----------

SURAT KETERANGAN PENELITIAN

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Pisang cv. Kepok.....	7
2. Rumus bangun manitol.....	15
3. Rumus bangun sukrosa.....	16
4. Diagram alir penelitian.....	22
5. Plantlet hasil regenerasi selama 4 minggu.....	28
6. Jumlah daun yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol +Sukrosa selama masa simpan 4 bulan.....	31
7. Jumlah akar yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol +Sukrosa selama masa simpan 5 bulan.....	34
8. Jumlah tunas yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol +Sukrosa selama masa simpan 5 bulan.....	38
9. Tinggi Plantlet Pisang cv. Kepok dari perlakuan MS + Manitol +Sukrosa selama masa simpan 6 bulan.....	41
10. Pengaruh Tinggi Plantlet Pisang cv. Kepok dari perlakuan MS + Manitol +Sukrosa selama masa simpan 6 bulan.....	42
11. Kontaminasi Plantlet Pisang cv. Kepok dalam masa penyimpanan selama 6 bulan.....	43
12. Plantlet pisang cv. Kepok dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa sebelum dilakukan uji kandungan klorofil.....	46

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Rancangan percobaan penanaman plantlet Pisang cv. Kepok dengan berbagai kombinasi konsentrai manitol dan sukrosa	21
2. Pengaruh media MS + IAA 1.75 mgL-1 + BAP 2.25 mgL-1 terhadap jumlah daun dan akar selama 4 minggu.....	26
3. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah daun Plantlet Pisang cv. Kepok selama masa penyimpanan 6 bulan.....	31
4. Potensial osmotik larutan pada variasi konsentrasi manitol + sukrosa	32
5. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah akar Plantlet Pisang cv. Kepok selama masa penyimpanan 6 bulan.....	34
6. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah tunas Plantlet Pisang cv. Kepok selama masa penyimpanan 6 bulan.....	38
7. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap tinggi plantlet Pisang cv. Kepok selama masa penyimpanan 6 bulan.....	41
8. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap kontaminasi pisang cv. Kepok setelah disimpan 6 bulan.....	43
9. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap kandungan klorofil dan berat basah Pisang cv. Kepok selama masa simpan 6 bulan	45
10. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap ratio panjang dan lebar daun Pisang cv. Kepok selama masa simpan 6 bulan.....	47
11. Pengaruh daya regenerasi pasca pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar, dan tinggi plantlet dalam masa simpan 6 bulan	51

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Pembuatan Medium Murashige dan Skoog's (MS)	60
2. Perhitungan Statistik.....	61

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pisang merupakan komoditas yang memiliki volume produksi nasional dan luas panen yang relatif besar dibandingkan komoditas buah lainnya, menjadikan buah pisang merupakan tanaman unggulan di Indonesia (Balitbangtan, 2005). Luas lahan pisang di Indonesia pada tahun 2015 sebesar 88.728 km², jumlah lahan ini menurun -11.80% jika dibandingkan luas lahan pisang pada tahun 2014 (Dirjen Hort. Kementan 2016).

Keanekaragaman pisang di Indonesia yang cukup tinggi, lebih dari 200 kultivar pisang ada di Indonesia yang memberikan peluang usaha untuk pemanfaatan pisang sesuai kebutuhan konsumen (Pusdintan, 2014), namun demikian pengelolaan pisang masih sebatas tanaman pekarangan atau perkebunan rakyat yang kurang dikelola secara intensif.

Indonesia termasuk penghasil pisang terbesar, karena 50% produksi pisang di Asia dihasilkan di Indonesia. Didukung dengan iklim yang sesuai, hampir seluruh wilayah di Indonesia merupakan daerah penghasil pisang. Namun, 90% dari seluruh hasil pisang Indonesia di konsumsi dalam negeri, hanya 10% dari total pisang di Indonesia yang diekspor (Suhartanto *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab rendahnya jumlah pisang yang diekspor disebabkan karena pisang yang dihasilkan di Indonesia hanya mampu untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri, sehingga penyediaan bibit pisang

dalam jumlah besar diperlukan untuk dapat memenuhi kebutuhan pasar. Penyediaan bibit pisang dalam jumlah yang besar dan seragam dalam waktu yang relatif cepat, pada saat ini dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan (teknik *in vitro*). Namun perbanyakan dan perawatan benih tanaman *in vitro* yang berkelanjutan sepanjang tahun membutuhkan waktu dan tenaga yang cukup besar.

Mata tunas pisang yang dapat dihasilkan dalam satu kali subkultur sebanyak 1-2 tunas dan proses subkultur pada kultur jaringan dilakukan dengan maksimal 8-10 kali subkultur. Subkultur tidak disarankan lebih dari 10x untuk meminimalisir resiko adanya variasi somaklonal. Salah satu cara untuk mengurangi frekuensi subkultur adalah dengan melakukan penyimpanan, untuk mempertahankan karakteristik plantlet pisang yang diperoleh.

Metode yang dapat dilakukan untuk penyimpanan benih tanaman dalam jangka waktu yang lama dapat dilakukan melalui metode pembekuan atau *cryopreservation* yaitu penyimpanan benih dalam nitrogen cair dengan temperatur sangat rendah (-196°C), hal ini dilakukan ketika benih dalam jumlah banyak dan tidak dapat dilakukan penanaman dalam waktu singkat. Metode *cryopreservation* telah dilakukan pada tanaman pisang melalui teknik kultur meristem dan kultur suspensi sel embriogenik (Panis *et al.*, 2004; Panis 2009), namun metode tersebut membutuhkan biaya yang sangat besar.

Metode alternatif lain yang dapat digunakan adalah dengan penyimpanan secara *in vitro* atau yang dikenal dengan konservasi secara *in*

vitro (Engelman 1991; Hu *et al.*, 1983; Hassan 2004; George *et al.*, 2008).

Penyimpanan atau konservasi *in vitro* yang dilakukan pada tanaman bertujuan untuk penyimpanan jangka waktu pendek atau menengah dengan menumbuhkan tanaman dalam kondisi pertumbuhan minimal (Engelman, 1991; Negash *et al.*, 2001), atau penggunaan bahan pematat gel alternatif (isabgol) (Agrawal *et al.*, 2010). Konservasi dengan meminimalkan laju pertumbuhan plantlet dapat dilakukan dengan penambahan regulator osmotik dalam medium kultur, seperti sorbitol, manitol, dan sukrosa (de Oliviera *et al.*, 2000) atau mereduksi temperatur lingkungan kultur seperti pada tumbuhan enset (Negash *et al.*, 2001).

Penggabungan sukrosa dan manitol dapat mengakibatkan tanaman mengalami stress osmotik pertumbuhan tanaman akan lambat, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu. Penggunaan manitol dan sukrosa akan memberikan efek bagi penyimpanan plantlet jangka menengah, sehingga penelitian untuk mencari konsentrasi senyawa yang mampu meminimalkan pertumbuhan pisang cv. Kepok dengan penggunaan konsentrasi manitol dan sukrosa yang tepat pada penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* pisang cv. Kepok perlu dilakukan.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah yang dapat ditemukan adalah:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* untuk tanaman pisang cv. Kepok?

2. Berapakah konsentrasi manitol dan sukrosa yang tepat untuk pisang cv. Kepok yang efektif mengalami pertumbuhan minimal secara *in vitro*?
3. Bagaimana kemampuan daya regenerasi serta multiplikasi plantlet pisang cv. Kepok setelah masa penyimpanan *in vitro* jangka menengah?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui kombinasi konsentrasi manitol dan sukrosa yang efektif untuk pertumbuhan minimal pada penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* pisang cv. Kepok.
2. Mengetahui lama penyimpanan yang efektif untuk penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* pada pisang cv. Kepok.
3. Mengetahui kemampuan daya regenerasi dan multiplikasi tunas pisang cv. Kepok setelah dilakukan penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai upaya konservasi (penyimpanan) secara *in vitro* plantlet pisang cv. Kepok. Hasil penelitian ini dilakukan untuk mengetahui teknik dan waktu optimum untuk penyimpanan plantlet Pisang cv. Kepok yang efektif dan efisien, serta mengetahui daya regenerasi pasca dilakukan penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR DAN PERUMUSAN HIPOTESIS

A. Kajian Pustaka

1. Deskripsi Tanaman Pisang

Pengelompokan pisang awalnya dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu *Musa acuminata*, *Musa balbisiana*, dan hasil persilangan alami maupun buatan antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana*. Pisang yang dibudayakan saat ini diduga merupakan hasil domestifikasi buatan pisang liar, yaitu *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* (Heslop-Harrison dan Schwarzacher, 2007). Sebagian besar dari spesies *Musa* (sekitar 65 spesies), berasal dari Asia Tenggara (Li, 2010).

Penyebaran tanaman pisang dari daerah asal ke wilayah lainnya diseluruh dunia terjadi pada awal tahun 1000 SM. Pengembangan pisang di wilayah Indonesia awalnya terpusat di daerah Banyuwangi, Palembang dan beberapa daerah di Jawa Barat. Inventarisasi pisang di Indonesia yang terdapat dalam buku *Herbarium Amboniese* karangan Rumphius pada tahun 1750, telah dikenal beberapa jenis pisang hutan dan pisang budidaya yang terdapat di Maluku (Rukmana, 1999).

Perkembangan taksonomi pisang saat ini, pada awalnya berasal dari 4 seksi *Musa* yang telah diakui yaitu, *Australimusa*, *Callimusa*, *Musa* (awalnya adalah *Eumusa*) dan *Rhodochlamys*. *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* keduanya saat ini terletak pada seksi *Musa* (yang dulunya adalah *Eumusa*) (Ploetz *et al.*, 2007). Berdasarkan analisis molekuler, saat ini pisang hanya

terbagi oleh 2 seksi yaitu *Australimusa-Callimusa* dan *Musa-Rhodochlamys* (Li, 2010). Subspesies *M. acuminata* dan persilangan antara *M. acuminata* dengan *M. balbisiana* juga termasuk dalam seksi *Musa*. Persilangan *M. acuminata* dengan *M. balbisiana* dilakukan dengan hibrida diploid (2 set kromosom), triploid (3 set) dan tetraploid (4 set), khusus untuk tetraploid, sebagian besar adalah hasil pemuliaan tanaman.

Tanaman pisang tergolong tanaman terna monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu (*pseudostem*). *Pseudostem* merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun rapat. Tipe percabangan tanaman bertipe simpodial, dengan bagian meristem memanjang lalu membentuk bunga buah dan buahnya secara umum tidak berbiji. Bagian bawah batang pisang yang menggembung berupa umbi yang disebut bonggol, yang nantinya akan muncul pucuk lateral (*sucker*) dari bagian bonggol. Pisang cv. kepok memiliki tinggi \pm 3m dengan batang semu berwarna hijau dengan sedikit atau tanpa warna coklat. Helaian daun berbentuk lanset memanjang dan mudah terbelah. Permukaan daun bagian bawah berkilin dengan tulang daun yang keras serta anak tulang daun yang tersusun sejajar dan menyirip serta berwarna hijau.

Pisang mempunyai bunga majemuk yang tiap kuncup bunga diselubungi oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ke tanah jika bunga telah membuka. Bunga betina akan berkembang normal, sedang bunga jantan yang berada diujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup seludang yang disebut sebagai jantung pisang. Jantung pisang berbentuk bulat telur, agak melebar, kelopak luar

berwarna ungu, dengan bagian dalam merah. Tiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Tandan buah pisang cv. Kepok berbentuk merunduk dan tidak terdapat rambut halus. Sisir buah berjumlah 5-9 sisir dalam satu tandan, dengan rata-rata jumlah buah 10-14 buah per sisir. Daging buah berwarna putih kekuningan dengan tekstur yang agak berkapur. Bentuk buah pisang kepok agak gepeng dan bersegi, karena bentuknya gepeng, ada yang menyebutnya pisang gepeng. Tanaman pisang merupakan tanaman yang berbuah hanya sekali kemudian mati, dengan akar serabut dan batang bawah (bonggol) yang pendek, dengan mata tunas yang cukup banyak yang nantinya dapat tumbuh menjadi tanaman baru. Tanaman pisang adalah buah yang kaya akan sumber vitamin, mineral dan karbohidrat. Pisang di alam dapat tumbuh pada daerah beriklim tropis, dengan curah hujan 200-220 mm per bulan dengan tanah datar dengan ketinggian 500 mdpl. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik pada pH antara 4,5-8,5, dengan suhu berkisar antara 25⁰-27⁰ dan memiliki air yang cukup.

Kulit pisang dapat digunakan sebagai cuka pisang melalui proses fermentasi alkohol dan asam cuka. Bagian batang semu pisang juga dapat digunakan untuk makan hewan ternak, secara konvensional air umbi batang pisang kepok dapat dimanfaatkan sebagai obat disentri dan pendarahan usus besar (Deputi Menegristek, 2008). Pisang terdiri dari 2 tipe, yaitu pisang yang dimakan segar atau harus dimasak terlebih dahulu. Pisang kepok termasuk pisang yang harus dimasak terlebih dahulu (*cooking banana*). Valmayor (2000) membagi pisang kepok dalam dua jenis yaitu,

pisang kepok kuning, dan pisang kepok putih. Keseluruhan jenis pisang kepok yang ada yang paling sering dikonsumsi adalah pisang kepok kuning.



Gambar 1. Pisang cv. Kepok

2. Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman (sel, jaringan dan organ) yang ditumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Kultur jaringan didasarkan pada prinsip totipotensi sel, yaitu tanaman yang terdapat informasi genetik dapat membentuk tanaman lengkap apabila ditempatkan pada lingkungan yang sesuai (Wetherell, 1982; Dewi, 2010).

Pada awalnya teknik kultur jaringan memiliki tujuan hanya untuk memperbanyak tanaman, seiring berkembangnya zaman, banyak yang dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan, diantaranya untuk koleksi plasma nutfah mendapat gen-gen pertahanan tanaman, mendapatkan bibit berkualitas dan bebas penyakit dan memperbaiki sifat genetik tanaman (Andaryani, 2010) sehingga memperbanyak tanaman yang memiliki gen-gen pertahanan yang lebih baik dari induknya (Tuhuteru, 2012).

Tujuan dilakukannya kultur jaringan tanaman menurut Henuhili, 2013 antara lain: (1) memperbanyak tanaman dengan jumlah banyak dan mempunyai sifat yang sama dengan induknya (misal: untuk tanaman obat, tanaman yang hampir punah), (2) tanaman yang tidak dapat atau sulit diperbanyak secara *in-vivo*, (3) tanaman varietas unggul, (4) tanaman induk silangan (yang bersifat homozigot, untuk menghasilkan biji untuk pemuliaan tanaman), (5) menghasilkan tanaman yang bebas penyakit, dan (6) mempermudah pengiriman tanaman.

Medium yang dapat digunakan untuk kultur jaringan tanaman dapat bermacam-macam. Beberapa medium yang umum dipakai, yaitu (1) medium Murashige dan Skoog (MS) medium umum yang dapat digunakan hampir semua tanaman, (2) medium B5 (Gamborg) digunakan untuk tanaman Fabaceae, (3) medium Nitsch & Nitsch digunakan untuk tanaman sereal, (4) medium WPM untuk tanaman berkayu, (5) medium VW (Vacin dan Went) untuk tanaman anggrek, dan (6) medium Kao dan Michayluk untuk tanaman Cruciferae, Poaceae, dan Fabaceae (Neumann *et al.*, 2004).

Teknik kultur jaringan dapat mengatasi kebutuhan bibit dalam jumlah besar. Peningkatan kuantitas dan kualitas bibit tentu akan sejalan dengan meningkatnya produktivitas tanaman, dalam waktu yang relatif cepat bibit-bibit baru sudah dapat dihasilkan dalam skala besar. Teknik kultur jaringan dapat dilakukan dalam kondisi yang tidak tergantung musim dan dapat dilakukan sepanjang waktu (Hambali *et al.*, 2006). Tahapan yang dilakukan dengan teknik kultur jaringan, yaitu: persiapan dan seleksi tanaman induk,

pemantapan kultur, perbanyak pucuk, perakaran, transplantasi dan aklimatisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Faktor lain yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman dalam kultur jaringan adalah zat pengatur tumbuh (ZPT). Terdapat berbagai macam zpt, namun dari keseluruhannya yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin. Golongan auksin yang sering digunakan adalah *Indol Asetic Acid* (IAA), 2,4-D, *Naftalent Asetic Acid* (NAA), dan *Indol Butiric Acid* (IBA). Sedangkan golongan sitokinin yang sering digunakan adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP), Kinetin dan Zeatin. Penambahan auksin dapat mendorong pertumbuhan akar, dan sitokinin dapat menginduksi pertumbuhan sel meristem yang akan merangsang pertumbuhan tunas. Konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang akan mendorong proses pembelahan sel dan menentukan arah differensiasi tanaman (Wattimena, 1988).

3. Penyimpanan secara *in vitro*

Penyimpanan secara *in vitro* adalah suatu cara untuk menghambat pertumbuhan tanaman agar dapat berlangsung secara lambat. Banyak cara yang dapat dilakukan untuk memperlambat pertumbuhan tanaman, diantaranya mengatur suhu, medium kultur jaringan yang dimodifikasi dengan pemberian regulator osmotik, serta mengurangi tingkat metabolisme sel (Goncalves dan Romano, 2007). Metode penyimpanan secara *in vitro* berdasarkan cara penyimpanan menurut Syahid dan Mariska, 1997 dapat dibagi menjadi 3, yaitu:

a. Penyimpanan *in vitro* jangka pendek

Proses penyimpanan jangka pendek dilakukan dengan cara dilakukan subkultur dalam beberapa waktu tertentu. Hal ini dilakukan agar eksplan dapat tetap tumbuh namun dengan proses yang sangat lambat. Pada teknik ini untuk mempertahankan eksplan tanaman, masih perlu dilakukan subkultur berulang setiap jangka waktu tertentu, sehingga dapat meningkatkan presentase kontaminasi serta dapat memicu timbulnya mutasi genetik akibat sub-kultur berulang. Tanaman yang disimpan dengan teknik ini hanya dapat bertahan selama 2-3 bulan (Dewi, 2014). Teknik dengan cara ini menurut Tjokrokusumo, 2014 dapat dilakukan pada tanaman yang memiliki daya pertumbuhan yang lambat, misalnya pada tanaman kopi (*Coffea* sp.).

b. Penyimpanan *in vitro* jangka menengah

Penyimpanan dalam jangka waktu menengah dilakukan untuk mengurangi proses subkultur. Peningkatan frekuensi subkultur dapat menyebabkan tanaman mengalami variasi somaklonal (Jacobsen, 1987; Peloquin, 1981), oleh karena frekuensi subkultur harus diminimalisir.

Proses penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* dilakukan dengan berbagai cara (Syahid, 2006): (1) Mengurangi takaran unsur hara makro dan mikro menjadi $\frac{1}{2}$ hingga $\frac{1}{4}$ dari komposisi media MS, terbukti dapat mengambat pertumbuhan tanaman pisang cv. Ambon Kuning (Makful dan Nofiarli, 2013; Tokoporo *et al.*, 2013). (2) Suhu diturunkan hingga beberapa derajat tertentu ($4-17^{\circ}$) (de Oliveira *et al.*, 2000; Negash *et al.*,

2001; Hassan 2004); (3) Induksi stres osmotik dengan manitol dan sorbitol yang mudah larut dalam air dan sukar larut dalam etanol, dan sukrosa yang mudah dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa, atau penggunaan zat penghambat pertumbuhan lainnya seperti asam absisat atau retardan seperti *Cycocel*, *Ancymidol*, *Paclobutrazol* (PBZ) dengan konsentrasi subletal (George *et al.*, 2008; Agrawal *et al.*, 2010; Hardaningsih dan Alfi 2010).

Penggunaan manitol dan sorbitol tanpa adanya sukrosa tidak disarankan dalam beberapa penelitian, karena tidak adanya sumber karbon utama (sukrosa). Penyimpanan ubi jalar menggunakan sorbitol 3-4% mengakibatkan tanaman mengalami kematian (Panta *et al.*, 2009). Penelitian dengan menggunakan manitol 4% mengakibatkan tanaman ubi jalar cenderung membentuk kalus (Golmirzaie dan Toledo, 1999). Penambahan manitol ($10-15 \text{ gL}^{-1}$) dan sukrosa dengan konsentrasi rendah ($15-30 \text{ gL}^{-1}$) pada tanaman vanila dapat memperlambat pertumbuhan, dan 80-90% plantlet dapat disimpan hingga 1 tahun penyimpanan (Divakaran *et al.*, 2006).

c. Penyimpanan *in vitro* jangka panjang

Penyimpanan dalam jangka panjang dilakukan dengan pembekuan (*cryopreservasi*) sehingga proses metabolisme tanaman berhenti sama sekali atau sangat lambat (Panis *et al.*, 2004). Hal ini dapat mencegah terjadinya perubahan genetik tanaman, namun proses ini membutuhkan

waktu yang lama dengan biaya yang cukup mahal. Biasanya dapat dilakukan dengan mengontrol temperatur kultur.

Lingkungan dan media kultur juga dapat mempengaruhi laju pertumbuhan planlet dan dapat dimodifikasi untuk mengurangi atau meningkatkan laju pertumbuhan. Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi diantaranya dengan mengatur temperatur yang sesuai (hingga -160°C) untuk menjaga viabilitas benih (Blakesley, 1996; Tambunan *et al.*, 2003), sehingga tanaman dapat disimpan selama bertahun-tahun.

Penelitian *cryopreservasi* pada tanaman stroberi telah membuktikan bahwa tanaman dapat disimpan selama 28 tahun (Li dan Pritchard, 2009; Roostika, 2013). Tanaman yang dapat menggunakan teknik penyimpanan jangka panjang secara *in vitro* diantaranya *Piper aduncum* dan *Piper hispidinervum* (Silva, 2011).

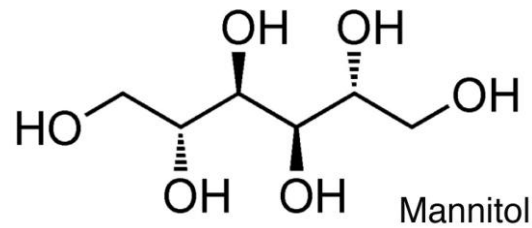
4. Penggunaan manitol dan sukrosa untuk penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*

Penyimpanan jangka menengah dapat dilakukan dengan pemberian zat osmoregulator untuk meningkatkan tekanan osmotik, diantaranya dengan pemberian sukrosa dan manitol. Manitol memiliki rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$ dan dengan berat molekul sebesar 182,17 g/mol dapat mudah larut dalam air, karena teksturnya yang berbentuk serbuk halus (Priyadi, 2012). Selain manitol memiliki struktur yang tidak higroskopis. Manitol dapat diperoleh pada tanaman manna, rumput laut dan alga merah yang harus diekstraksi terlebih dahulu (Priyadi, 2012).

Manitol merupakan salah satu golongan gula alkohol, yang mampu mengatur potensial osmotik pada media kultur dan dapat digunakan sebagai nutrisi, dalam kondisi sel kekurangan air (Zang dan Koamtu, 2007). Manitol dengan konsentrasi tinggi (2-4%) terbukti dapat menurunkan konsentrasi klorofil (Cha-um, 2010). Klorofil dengan rantai fitil ($C_{20}H_{39}O$) akan berubah menjadi fitol ($C_{20}H_{39}OH$) dengan enzim klorofilase dan dengan bantuan air. Fitol merupakan komponen yang penting untuk reduksi klorofil. Adanya manitol dapat mengakibatkan air berkurang didalam sel, sehingga proses pengubahan fitil menjadi fitol akan semakin sulit dilakukan (Ai, 2010).

Gula alkohol seperti manitol merupakan karbohidrat terhidrogenasi dan berpengaruh terhadap tekanan osmotik dalam sel yang akan mempengaruhi translokasi karbohidrat (Deguchi *et al.*, 2004; Dewi *et al.*, 2014). Manitol yang dikenal sebagai agen metabolik jangka menengah secara *in vitro* mampu mengubah potensial air dalam medium kultur.

Percobaan Thompson (1986), pada tanaman wortel dan tembakau ditemukan bahwa meskipun manitol terlihat mempengaruhi media sehingga mengalami pertumbuhan yang lambat, namun manitol tetap mudah di metabolisme oleh jaringan tanaman. Hasil penelitian Charoensub dan Phansiri (2004) pada tanaman Roseleadwort (*Plumbago indica* Linn.), bahwa penambahan manitol konsentrasi 40 dan 60 mgL^{-1} dalam media dapat mereduksi pertumbuhan tinggi plantlet hingga 83.1%.

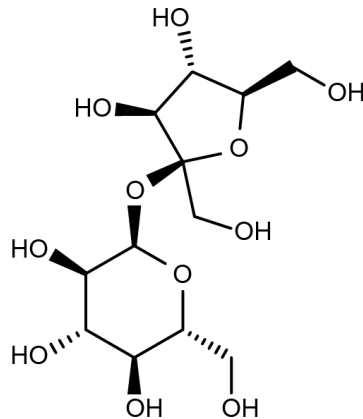


Gambar 2. Rumus Bangun Manitol (www3.hhu.de/mannitol)

Sukrosa merupakan karbon yang digunakan sebagai sumber energi utama yang digunakan dalam kultur *in vitro* yang nantinya akan digunakan untuk pertumbuhan tanaman dalam media kultur. Sukrosa memiliki rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$ dengan berat molekul 342,29 g/mol. Pertumbuhan tanaman sangat dipengaruhi oleh konsentrasi sukrosa dalam medium dasar (MS), untuk mendapatkan pertumbuhan normal, sukrosa yang digunakan adalah 30 gL^{-1} (Murashige dan Skoog, 1962). Penambahan dan pengurangan jumlah sukrosa akan berakibat pada lambatnya pertumbuhan tanaman. Pada beberapa spesies, glukosa dan fruktosa (monosakarida) ditemukan memiliki berbagai efek positif pada pertumbuhan tanaman selama di media kultur, misalnya pada tanaman *Linum usitatissimum* (Ekhlis, 2014) yang menggunakan sukrosa sebesar 4%, sedangkan hasil penelitian Makhful dan Nofiarly (2013), komposisi Medium MS $\frac{1}{2}$ dan sukrosa 6% berpotensi untuk penyimpanan pisang cv. Ambon Kuning secara *in vitro*.

Konsentrasi sukrosa yang sangat tinggi pada tanaman (90 gL^{-1}) dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan tanaman (Pookmanee *et al.*, 2001). Penurunan konsentrasi sukrosa ($<30 \text{ gL}^{-1}$) dapat mengakibatkan pertumbuhan terhambat akibat dari lambatnya proses siklus sel. (Hassan *et*

al., 2007; Malaurie *et al.*, 1993; Tyas *et al.*, 2012). Sebagai salah satu regulator osmotik, sukrosa menjadi salah satu komponen yang penting dan dibutuhkan tanaman.



Gambar 3. Rumus Bangun Sukrosa (www.chemistry.about.com/sucrose)

Tekanan osmotik merupakan tekanan maksimum yang dapat terjadi akibat proses osmosis dalam larutan. Tekanan osmotik dapat memicu terjadinya turgor. Turgor adalah tekanan didalam sel-sel tumbuhan yang timbul akibat adanya gerakan air kedalam sel dengan jalan osmosis, sedangkan dinding sel tidak memungkinkan pengembangan sel. Turgor merupakan tekanan yang diberikan pada larutan oleh dinding sel yang kenyal, disebut juga tekanan dinding. Potensial air adalah selisih tekanan antara tekanan osmotik dan turgor.

Penambahan sukrosa dan manitol mengakibatkan tekanan osmotik menjadi cukup negatif sehingga mengakibatkan air berdifusi keluar dari jaringan ke larutan sekitarnya. Akibatnya jaringan menjadi kekurangan air, dan proses metabolisme terhambat. Air menjadi kebutuhan utama dalam sel, karena air digunakan sebagai reagen dalam beberapa aktivitas enzim

dalam sel. Pemberian manitol dan sukrosa merupakan modifikasi media untuk penyimpanan jangka menengah, dan berakibat pada plantlet yang mengalami penurunan percepatan tumbuh. Penurunan percepatan tumbuh akan mengakibatkan plantlet dapat disimpan jangka waktu beberapa bulan.

Potensial osmotik larutan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\pi = - M.R.T$$

Keterangan :

π = tekanan osmotik (atm)

M = Molaritas (mol L⁻¹)

R = tetapan gas (0,082 L atm mol⁻¹ K⁻¹)

T = suhu mutlak (K)

B. Kerangka Berpikir

Permintaan dunia akan buah pisang cukup besar, sedangkan di Indonesia, pisang hanya ditanam dalam skala kecil, jauh dari standar internasional perkebunan pisang dunia yaitu 10-30 ha. Tanah dan iklim di Indonesia sangat mendukung penanaman pisang, sehingga perkembangbiakan tanaman pisang dengan teknik kultur jaringan secara *in vitro* dapat dilakukan, guna memenuhi kebutuhan baik didalam maupun luar negeri. Salah satu kultivar pisang yang diminati adalah pisang kepok (pisang cv. Kepok). Setelah didapatkan plantlet dalam jumlah besar, perlu dilakukan upaya penyimpanan plantlet-plantlet tersebut agar dapat terdistribusi dengan baik. Penyimpanan plantlet jangka menengah dapat dilakukan dengan penambahan manitol dan sukrosa dalam medium kultur. Manitol dan

sukrosa dapat mengakibatkan plantlet mengalami pertumbuhan yang lambat, dan diharapkan plantlet dapat disimpan dalam 5-6 bulan. Pentingnya dilakukan penelitian ini adalah untuk mencari konsentrasi medium dengan konsentrasi manitol dan sukrosa yang tepat untuk penyimpanan jangka menengah pisang cv. Kepok secara *in vitro*.

C. Perumusan Hipotesis

1. Kombinasi konsentrasi manitol dan sukrosa yang optimum dapat menghambat pertumbuhan tanaman
2. Kandungan klorofil yang rendah pada tanaman pisang cv. Kepok akibat pengaruh manitol dan sukrosa mengindikasikan potensial osmotik dalam sel.
3. Plantlet pisang dapat kembali beregenerasi setelah dilakukan penyimpanan secara *in vitro*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tujuan Operasional

1. Menghitung kemampuan pertumbuhan plantlet pisang cv. Kepok agar dapat disimpan dalam jangka waktu 6 bulan.
2. Menghitung jumlah akar, daun, tunas dan tinggi tunas yang terbentuk setelah multiplikasi dan regenerasi.

B. Tempat dan waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, FMIPA, Universitas Negeri Jakarta. Penelitian dilaksanakan selama 10 bulan dari bulan Januari 2016 – Oktober 2016.

C. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan bahan tanaman berupa plantlet pisang cv. Kepok aseptis koleksi dari Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, FMIPA UNJ. Plantlet merupakan hasil subkultur berulang (6-7x sub-kultur) secara *in vitro*, setiap subkultur dilakukan selama ± 4 minggu. Kultur disimpan pada temperatur $16^0 \pm 1^0\text{C}$ dengan intensitas cahaya yang efektif untuk tanaman pisang sebesar ± 2000 lux (Al-amin, 2009). Metode penelitian adalah eksperimen yang terdiri dari 3 (tiga) tahapan percobaan untuk mendapatkan tujuan yang diinginkan. Percobaan yang dilakukan adalah (1) Regenerasi tunas pisang cv. Kepok hasil proliferasi secara *in vitro*; (2) Penyimpanan

jangka menengah secara *in vitro* plantlet pisang cv. Kepok hasil regenerasi;
3) Regenerasi plantlet pisang cv. Kepok hasil penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* (Gambar 2).

Percobaan 1. Regenerasi tunas Pisang cv. Kepok hasil proliferasi secara *in vitro*

Percobaan dilakukan untuk meregenerasi dan menginduksi perakaran tunas-tunas varian pisang cv. Kepok. Tunas pisang cv. Kepok ditumbuhkan pada media *Murashige and Skoog* (MS) dengan penambahan BAP 2.25 mgL^{-1} dan IAA 1.75 mgL^{-1} . Tunas ditumbuhkan dalam ruang kultur selama 3-4 minggu sampai terbentuk plantlet dengan daun minimal berjumlah 3-6 daun dan berakar.

Parameter yang diukur adalah dengan jumlah daun dan jumlah akar. Apabila plantlet sudah memiliki 3-6 daun maka plantlet pisang cv. Kepok disubkultur dan masuk ke tahap percobaan selanjutnya. Output dari percobaan ini adalah didapatkan plantlet pisang cv. Kepok hasil regenerasi.

Percobaan 2. Penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* plantlet Pisang cv. Kepok hasil regenerasi

Percobaan ini dilakukan untuk mengetahui lama penyimpanan yang efektif untuk penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* pisang cv. Kepok hasil regenerasi. Plantlet pisang cv. Kepok ditumbuhkan pada media dasar MS yang mengandung BAP 2.25 mg L^{-1} dan 0.175 mgL^{-1} IAA, serta dengan penambahan berbagai konsentrasi perlakuan manitol dan sukrosa (Tabel 1).

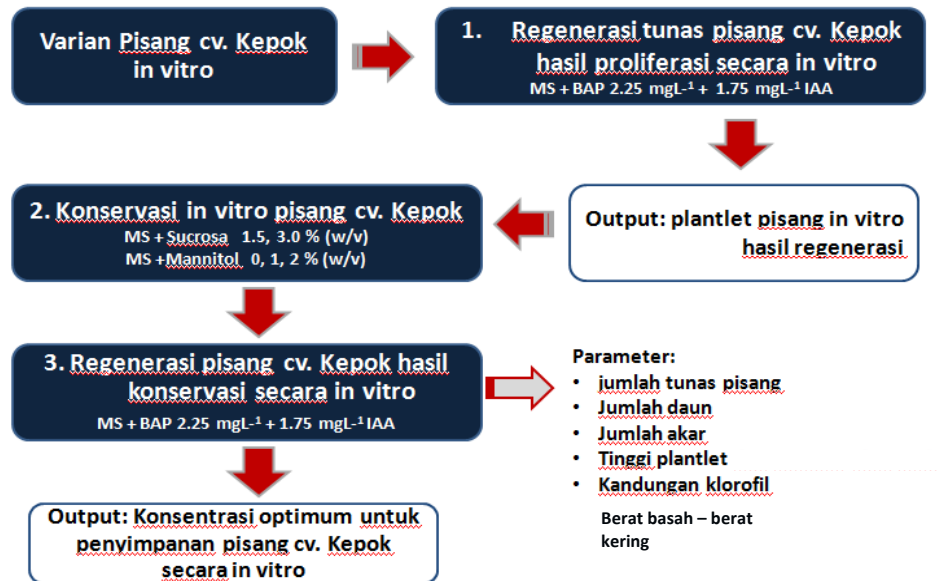
Rancangan percobaan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah manitol dengan 3 taraf konsentrasi (0, 1 dan 2 %), faktor kedua adalah sukrosa dengan 2 taraf konsentrasi (1.5 dan 3 %). Jumlah perlakuan 6 perlakuan dengan jumlah ulangan 20, sehingga diperoleh 120 unit percobaan. Setiap unit percobaan ditanam 2 plantlet, sehingga jumlah total plantlet yang diperlukan 240 plantlet pisang. Plantlet ditumbuhkan selama 5-6 bulan tanpa dilakukan subkultur, pengamatan dilakukan setiap bulan terhadap jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar dan tinggi plantlet.

Tabel 1. Rancangan percobaan penanaman plantlet Pisang cv. Kepok dengan berbagai kombinasi konsentrai manitol dan sukrosa

Mannitol (% w/v)	0	1	2
Sukrosa (% w/v)			
1.5	M ₀ S _{1.5}	M ₁ S _{1.5}	M ₂ S _{1.5}
3.0	M ₀ S _{3.0}	M ₁ S _{3.0}	M ₂ S _{3.0}

Percobaan 3. Regenerasi Pisang cv. Kepok hasil penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*

Percobaan ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh pisang cv. Kepok setelah dilakukan penyimpanan jangka menengah, yaitu plantlet disubkultur dalam media MS dengan penambahan BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 1.75 mgL⁻¹. Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya regenerasi varian pisang setelah dilakukan pasca dilakukan penyimpanan. Parameter yang diukur adalah jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, tinggi plantlet, berat basah & berat kering serta kandungan klorofil. Output dari percobaan ini adalah didapatkan konsentrasi dan waktu yang optimum untuk penyimpanan pisang cv. Kepok secara *in vitro*.



Gambar 4. Diagram alir penelitian

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan peralatan penelitian dan Bahan Kimia untuk Medium Dasar

Peralatan yang digunakan untuk sterilisasi adalah oven, dan otoklaf. Peralatan untuk membuat media adalah *hot plate*, *magnetic stirrer*, plastik, karet, timbangan digital, *beaker glass* 1000 mL, erlenmeyer 1000 mL, pipet ukur (1, 5 dan 10 mL), *bulb*, tisu, *aluminium foil*, pipet tetes, dan pH indikator universal.

Peralatan untuk penanaman eksplan adalah *scapel* dan mata pisau, pinset, bayonet, cawan petri, tisu steril, dan bunsen (lampu spiritus) dan *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFB) dan spektrofotometer untuk mengukur kandungan klorofil. Bahan kimia untuk pembuatan medium *Murashige and Skoog* terdiri dari unsur hara makro dan mikro, vitamin, *myo-inositol*, zat pengatur tumbuh (BAP dan IAA), dan bahan pematat (agar).

2. Pelaksanaan percobaan

a. Sterilisasi Alat

Peralatan tanam (pinset, *scapel*, bayonet, botol, cawan petri, dan pipet ukur) dicuci menggunakan teepol dan dikering anginkan. Peralatan tanam dibungkus dengan *yellow pages* kemudian disterilisasikan dalam oven dengan suhu 120⁰ C selama 2 jam.

b. Pembuatan Larutan Stok dan Zat Pengatur Tumbuh (BAP dan IAA)

Larutan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yaitu BAP dan IAA dibuat dalam larutan stok 1000 ppm. BAP ditimbang sebanyak 1000 mg dilarutkan dalam beberapa tetes larutan HCl 5M hingga larut, dan IAA dilarutkan dengan NaOH 1M. Larutan stok 1000 ppm didapat dengan menambahkan aquades steril sampai 1000 mL.

c. Pembuatan Media untuk Regenerasi dan Multiplikasi Pisang cv. Kepok

Media yang digunakan untuk regenerasi tahap awal yaitu media MS yang mengandung BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 1.75 mgL⁻¹, sedangkan untuk multiplikasi pisang dengan menggunakan kombinasi manitol dan sukrosa yang bervariasi sesuai perlakuan ditambah dengan BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 0.175 mgL⁻¹.

Cara membuat media tersebut dilakukan dengan mencampurkan 20 mL larutan stok 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 (BAP dan IAA) kedalam erlenmeyer 1000 mL. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan akuades steril sampai 800 mL dan ditambahkan 30 grL¹ sukrosa

untuk media regenerasi, dan untuk media multiplikasi manitol dan sukrosa ditambahkan sesuai perlakuan.

Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* diatas *hot plate* hingga homogen, kemudian pH media diukur pada kisaran 5,6-5,8 yang selanjutnya dimasukkan 7 grL⁻¹ agar ke dalam media, kemudian ditambahkan akuades steril kembali hingga volumenya mencapai 1000 mL, kemudian media dimasak diatas *hot plate* selama ± 20 menit hingga masak. Setelah media mendidih, media dimasukkan kedalam botol kultur ukuran besar ± 20 ml pada setiap botol, kemudian ditutup plastik dan diikat. Selanjutnya, media disterilisasi dengan otoklaf pada suhu 121⁰ C selama 20 menit, kemudian diletakkan dilemari penyimpanan.

d. Penanaman Plantlet Pisang cv. Kepok

Penanaman plantlet pisang untuk melihat kemampuan tumbuh plantlet setelah sebelumnya dilakukan tahapan regenerasi selama 4 minggu yang merupakan hasil 6-7x sub-kultur setiap 4 minggu. Pada tahap penyimpanan secara *in vitro*, dilakukan subkultur pada media MS dengan BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 0.175 mgL⁻¹ ditambah dengan manitol dan sukrosa sesuai perlakuan. Kemudian plantlet diletakkan dirak penyimpanan yang dilengkapi dengan pencahayaan dan suhu ruang 16⁰C \pm 1⁰C. Seluruh plantlet tanaman pisang cv. Kepok ditanam pada medium yang seragam.

E. Teknik Pengumpulan Data

Pada percobaan 1, variabel yang diukur yaitu jumlah daun dan jumlah akar. Pada percobaan 2 variabel yang diukur jumlah tunas, jumlah

daun, jumlah akar, dan tinggi plantlet. Pada percobaan 3, variabel yang diukur adalah jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, tinggi plantlet, berat basah, panjang-lebar daun dan kandungan klorofil.

F. Teknik Analisis Data

Data kuantitatif yang berupa jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, tinggi plantlet, dan kandungan klorofil, data dianalisis secara deskriptif dengan menghitung rata-rata setiap parameter yang diukur dengan standar error (\pm SE). Data tersebut dikelompokkan berdasarkan 2 faktor yang diuji (manitol dan sukrosa) sesuai dengan rancangan percobaan yang telah dibuat. Data kualitatif (tinggi plantlet, kandungan klorofil) selanjutnya diolah dianalisa dengan uji T, jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) $p < 0.05$.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi manitol dan sukrosa dalam berbagai variasi akan mempengaruhi kondisi plantlet yang berbeda, setelah disimpan selama 6 bulan tanpa dilakukan subkultur. Plantlet yang mampu disimpan selama 6 Bulan Setelah Tanam (BST) kemudian dipindahkan ke medium awal untuk mengetahui apakah kondisi plantlet dapat kembali normal pasca dilakukan penyimpanan.

1. Regenerasi tunas Pisang cv. Kepok hasil proliferasi secara *in vitro*

Tunas pisang hasil proliferasi secara *in vitro* kemudian dipindahkan ke dalam medium regenerasi yang mengandung ZPT yaitu auksin (IAA) dan sitokinin (BAP) untuk meningkatkan pertumbuhan pada tanaman pisang cv. Kepok. Plantlet pisang setelah 4 minggu yang memiliki 3-6 daun dan telah berakar dipindahkan ke percobaan 2.

Tabel 2. Pengaruh media MS, 1.75 mgL⁻¹ IAA dan 2.25 mgL⁻¹ BAP terhadap jumlah daun dan jumlah akar selama 4 minggu

N	Jumlah Daun			Jumlah Akar		
	Rerata ± SE	Min	Maks	Rerata ± SE	Min	Maks
I (31)	4,60 ^a ± 0.19	3,00	6,00	7,37 ^a ± 0.60	3,00	17,00
II (34)	4,46 ^a ± 0.13	3,00	6,00	7,35 ^a ± 0.62	2,00	14,50
III (17)	4,60 ^a ± 0.20	3,50	6,00	7,85 ^a ± 0.73	2,50	18,50
IV (59)	4,20 ^a ± 0.10	3,00	6,00	6,51 ^a ± 0.28	2,50	12,50
V (38)	4,46 ^a ± 0.10	3,00	6,00	7,52 ^a ± 0.40	3,50	12,00
Ket.	P>0,05			P>0,05		

Keterangan : N = Jumlah ulangan

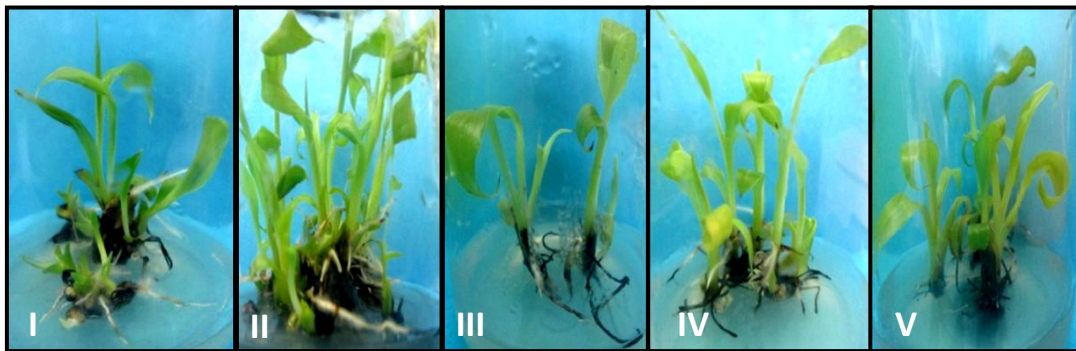
Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Hasil percobaan regenerasi tunas pisang cv. Kepok secara *in vitro* menunjukkan bahwa kombinasi media MS dengan penambahan BAP 2.25 mgL^{-1} dan IAA konsentrasi 1.75 mgL^{-1} optimum untuk regenerasi tunas pisang cv. Kepok. Rerata jumlah daun dan jumlah akar tertinggi terdapat pada jumlah daun ulangan III sebanyak $4,60 \pm 0.20$ dan jumlah akar sebanyak $7,85 \pm 0.73$.

Jumlah rerata daun dan akar terendah terdapat pada ulangan IV yaitu sebanyak $4,20 \pm 0.10$ untuk jumlah daun dan sebanyak $6,51 \pm 0.28$ untuk jumlah akar. Dari keseluruhan ulangan setelah melewati tahap proliferasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa perubahan pada rerata jumlah daun dan jumlah akar, tidak berbeda signifikan, artinya sampel plantlet yang digunakan secara keseluruhan adalah seragam dalam hal jumlah daun dan akar, sehingga kemungkinan adanya perbedaan plantlet pada percobaan selanjutnya disebabkan oleh pemberian perlakuan.

Percobaan yang dilakukan Al-amin (2009) yang melakukan percobaan pada pisang (*Musa* spp.) menggunakan rasio sitokinin dan auksin yang hampir sama besar yaitu dengan NAA 2.0 mgL^{-1} dan 2.50 mgL^{-1} BAP yang menghasilkan daun sebesar 5.50. Pada beberapa spesies *Musa* spp. sitokinin jenis *Benzylaminopurine* (BAP) yang sering digunakan (Vuylsteke, 1989). Tinggi rendahnya aktivitas sitokinin dipengaruhi oleh ada tidaknya auksin dalam medium. Komposisi IAA dan BAP yang seimbang dapat merangsang pemanjangan tunas dan pertumbuhan akar berjalan dengan bersamaan. Akumulasi auksin dan sitokinin akan berdampak pada pertumbuhan jaringan, adanya meristem apikal akan menekan pertumbuhan

tunas aksilar, ketika meristem apikal tumbuh, konsentrasi sitokinin merangsang pertumbuhan tunas aksilar. Selain itu sitokinin akan menghambat pertumbuhan akar lateral (Santoso, 2013). Oleh karena itu pertumbuhan tunas ditekan oleh adanya konsentrasi auksin dan pertumbuhan akar lateral ditekan oleh adanya sitokinin. Kombinasi konsentrasi ini akan mengakibatkan pertumbuhan tunas tetap terjadi akibat dari konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin.



Gambar 5. Plantlet hasil subkultur berulang yang telah diregenerasi kedalam media MS, 1.75 mgL^{-1} IAA dan 2.25 mgL^{-1} BAP selama 1 BST

Percobaan 2. Penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* plantlet Pisang cv. Kepok hasil regenerasi

1. Jumlah Daun

Plantlet yang telah berumur ± 4 minggu setelah melewati tahap regenerasi dan telah memiliki 3-6 daun per plantlet kemudian dipindahkan ke medium pertumbuhan baru dengan menggunakan media MS + BAP 2.25 mgL^{-1} + IAA 0.175 mgL^{-1} dan penggunaan konsentrasi manitol dan sukrosa sesuai perlakuan. Pengamatan plantlet dilakukan selama 6 bulan, untuk melihat pengaruh pertumbuhan jumlah daun terhadap variasi konsentrasi

manitol dan sukrosa. Perlakuan dengan variasi konsentrasi manitol dan sukrosa menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap jumlah daun yang terbentuk. Pada waktu 1 bulan setelah tanam (BST) menggunakan dengan manitol 20 gL^{-1} + sukrosa 30 gL^{-1} (M_2S_3) memiliki rerata jumlah daun terendah dari keseluruhan perlakuan (5.38 ± 0.28) dan hasilnya juga memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan pada perlakuan media yang disimpan tanpa manitol dan sukrosa 30gL^{-1} (M_0S_3).

Pada waktu 2 BST, perlakuan M_2S_3 tetap memiliki jumlah daun terendah (5.92 ± 0.25) dari seluruh perlakuan yang ada. Rerata jumlah daun tertinggi terdapat pada perlakuan M_0S_3 sebesar 8.46 ± 0.74 dan hasilnya memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah daun. Pada 3 BST, perlakuan M_2S_3 juga memiliki rerata jumlah daun terendah (7.36 ± 0.36). Hasil yang berbeda terlihat pada 5 BST dan 6 BST, terlihat rerata jumlah daun M_2S_3 tidak berbeda nyata terhadap 4 perlakuan lainnya ($M_0S_{1.5}$, $M_1S_{1.5}$, M_1S_3 dan $M_2S_{1.5}$), namun terlihat berbeda nyata pada M_0S_3 . Rerata jumlah daun terendah pada perlakuan M_2S_3 adalah 9.66 ± 0.98 pada 5 BST dan 10.04 ± 0.99 pada 6 BST, yang berbeda secara signifikan dengan perlakuan M_0S_3 dengan rerata jumlah daun sebesar 13.09 ± 1.07 pada 5 BST dan 13.70 ± 1.11 pada 6 BST.

Perlakuan M_0S_3 menunjukkan pertumbuhan daun yang berwarna hijau tua, dan berbentuk bulat telur memanjang. Selain itu jumlah daun yang dihasilkan cukup banyak sehingga memenuhi ruang dalam botol kultur, yang berakibat tanaman lebih cepat mengalami pencoklatan (*browning*) (Gambar

6). Hasil berbeda terlihat pada perlakuan dengan konsentrasi manitol dan sukrosa tertinggi, yaitu M_2S_3 terlihat pada gambar 6.

Morfologi daun terlihat berbeda dari variasi perlakuan lainnya. Daun berbentuk lanset tipis, dengan warna hijau muda. Peningkatan jumlah daun pada M_0S_3 terlihat secara signifikan tertinggi dibandingkan jumlah rerata daun pada perlakuan lainnya. Hal ini dapat dilihat dari tekanan osmotik dengan penambahan sukrosa sebesar 30 gL^{-1} menghasilkan tekanan sebesar $-3,353 \text{ atm}$. Sehingga kondisi air masih belum cukup negatif dibandingkan dengan pemberian manitol.

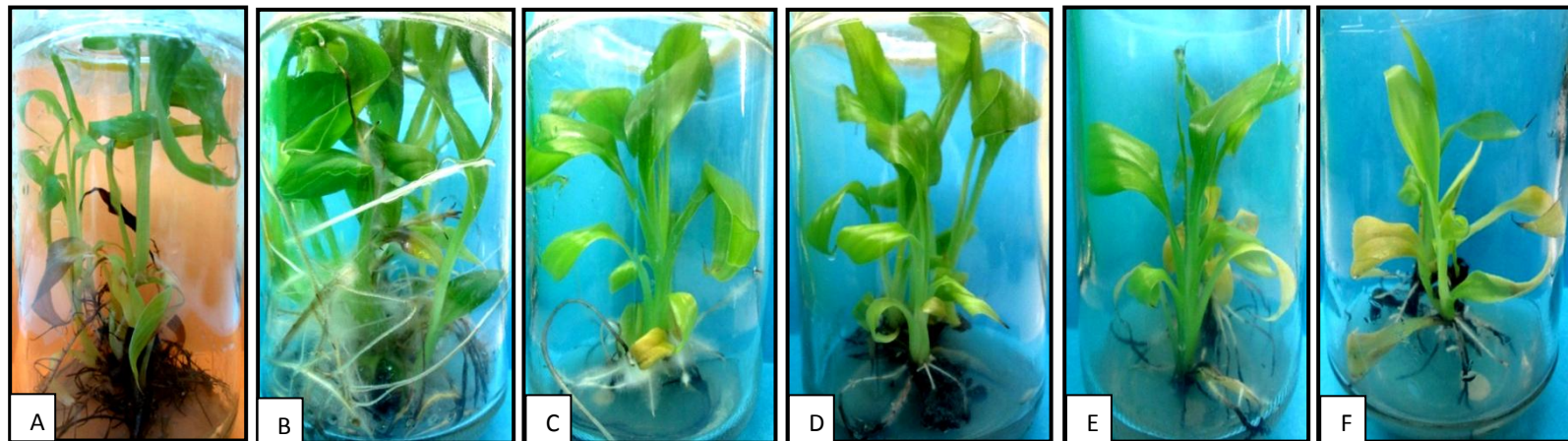
Kadar sukrosa 30 gL^{-1} pada tanaman pisang merupakan jumlah yang umum digunakan untuk tanaman pisang, diantaranya pisang cv. ambon kuning (Makful dan Nofiarli, 2013), dan *Musa* spp. (Hardaningsih *et al.*, 2012). Pemberian gula tambahan selain sukrosa (manitol) akan berdampak pada ketidakefisiensian metabolisme yang dilakukan oleh sel-sel tanaman.

Peningkatan konsentrasi zat terlarut dalam sel, akan mempengaruhi potensial air sehingga ketersediaan air dalam medium semakin sedikit. Hal ini didukung dengan tekanan osmotik pada M_2S_3 sebesar $-5,955 \text{ atm}$, yang menandakan kondisi air dalam ruang ekstraseluler semakin negatif. Keterbatasan air akan berdampak pada fisiologis dan pertumbuhan plantlet pisang cv. Kepok.

Tabel 3. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah daun pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Rerata jumlah daun pada bulan setelah tanam (BST)					
	1 BST	2 BST	3 BST	4 BST	5 BST	6 BST
	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE
M ₀ S _{1.5}	5.90 ^{ab} ± 0.15	7.25 ^b ± 0.29	8.13 ^{ab} ± 0.28	9.32 ^{ab} ± 0.44	10.10 ^a ± 0.52	11.28 ^{ab} ± 0.63
M ₀ S ₃	6.78 ^c ± 0.42	8.46 ^b ± 0.74	10.30 ^c ± 0.78	12.11 ^c ± 1.06	13.09 ^b ± 1.07	13.70 ^b ± 1.11
M ₁ S _{1.5}	6.11 ^{abc} ± 0.15	7.51 ^b ± 0.31	8.93 ^{abc} ± 0.57	10.29 ^{ab} ± 0.85	10.22 ^a ± 0.82	10.22 ^a ± 0.82
M ₁ S ₃	6.06 ^{abc} ± 0.26	7.57 ^b ± 0.42	9.64 ^{bc} ± 0.73	10.12 ^{ab} ± 0.85	10.23 ^a ± 0.55	10.90 ^a ± 0.72
M ₂ S _{1.5}	6.48 ^{bc} ± 0.24	7.90 ^b ± 0.31	9.91 ^c ± 0.73	10.00 ^{ab} ± 0.53	10.31 ^a ± 0.64	10.90 ^{ab} ± 0.61
M ₂ S ₃	5.38 ^a ± 0.28	5.92 ^a ± 0.25	7.36 ^a ± 0.36	7.79 ^a ± 0.44	9.66 ^a ± 0.98	10.04 ^a ± 0.99

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%



Gambar 6 Jumlah daun yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa selama masa simpan 5 BST: A (M₀S_{1.5}), B (M₀S₃), C (M₁S_{1.5}) D (M₁S₃), E (M₂S_{1.5}), F (M₂S₃)

Penelitian Gawad (2010) menunjukkan bahwa penggunaan sukrosa sebagai sumber karbon utama (20, 30, dan 40 gL⁻¹) pada tanaman nanas (*Ananas comosus*) menunjukkan penambahan jumlah daun yang lebih banyak dibandingkan dengan sumber karbohidrat lain (manitol 20, 30, dan 40 gL⁻¹) dan fruktosa 20, 30, dan 40 gL⁻¹. Tinggi rendahnya konsentrasi larutan dalam medium dipengaruhi oleh variasi perlakuan manitol dan sukrosa, dengan menggunakan rumus perhitungan potensial osmotik larutan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4. Potensial osmotik larutan pada variasi konsentrasi manitol + sukrosa

Perlakuan	Potensial Osmotik Larutan (atm)
M ₀ S _{1.5}	- 1.67
M ₀ S ₃	- 3.353
M ₁ S _{1.5}	- 2.956
M ₁ S ₃	- 4.654
M ₂ S _{1.5}	- 4.278
M ₂ S ₃	- 5.955

2. Jumlah Akar

Pengamatan terhadap jumlah akar pisang cv. Kepok dengan berbagai variasi konsentrasi manitol dan sukrosa dilakukan setiap 4 minggu selama 6 BST. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada pisang cv. Kepok dengan pemberian manitol dan sukrosa yang berbeda terhadap rerata jumlah akar. Pertumbuhan jumlah akar (Tabel 4) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan dengan konsentrasi manitol dan

tanpa manitol. Pada 1 bulan setelah inisiasi, perlakuan tanpa manitol $M_0S_{1.5}$ (11.21 ± 0.90) dan M_0S_3 (11.05 ± 0.82) menunjukkan pertumbuhan tertinggi. Pada 3 BST & 4 BST jumlah akar pada perlakuan tanpa manitol, menunjukkan peningkatan jumlah akar tertinggi, dibandingkan dengan perlakuan menggunakan manitol. Pemberian manitol dalam media memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan jumlah akar yang dihasilkan sedikit. Jumlah akar terendah ada pada perlakuan M_2S_3 (9.94 ± 0.56) pada 4 BST, yang signifikan berbeda dengan keseluruhan perlakuan.

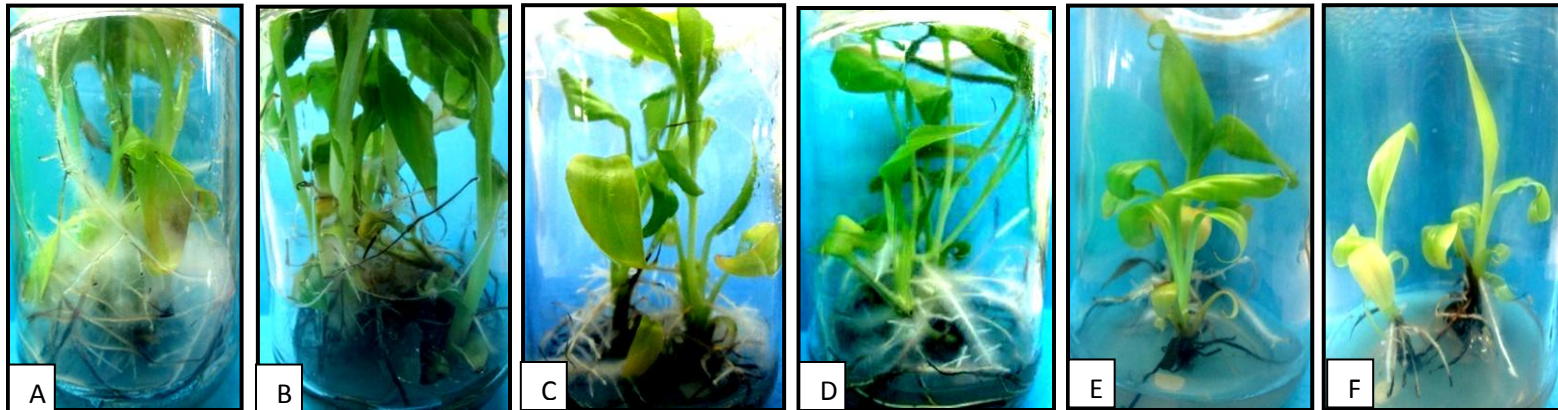
Bulan ke 5 dan 6 BST memberikan perubahan terendah yaitu M_2S_3 , namun perubahan yang terjadi tidak signifikan karena jumlah akar yang tumbuh sudah mulai menurun. Penelitian Irish (2013) dengan *Musa* spp. memperlihatkan bahwa jumlah akar untuk standar MS tanpa manitol menghasilkan jumlah akar yang lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan manitol.

Penambahan manitol sebanyak 16 gL^{-1} dan 32 gL^{-1} menyebabkan tanaman *Dianthus tenuifolius* dan *Dianthus spiculifolius* optimal disimpan selama 6 bulan (Mitoi,2009). Hal ini menandakan bahwa tanaman tidak harus sering disubkultur, akibat adanya stres osmotik. Penambahan ZPT dalam medium, meskipun dalam konsentrasi sedikit harus tetap dilakukan guna mempertahankan pertumbuhan normal. Penggunaan medium dasar (MS) dengan penambahan ZPT merupakan kombinasi untuk mendukung pertumbuhan plantlet.

Tabel 5. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah akar pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Rerata jumlah akar pada bulan setelah tanam (BST)					
	1 BST	2 BST	3 BST	4 BST	5 BST	6 BST
	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE
M ₀ S _{1.5}	11.21 ^c ± 0.90	12.69 ^c ± 0.94	14.11 ^c ± 1.10	17.52 ^c ± 1.45	17.85 ^c ± 1.39	19.28 ^d ± 1.58
M ₀ S ₃	11.05 ^c ± 0.82	12.86 ^c ± 0.94	14.36 ^c ± 0.94	15.56 ^c ± 0.86	16.34 ^c ± 0.81	16.57 ^{cd} ± 0.75
M ₁ S _{1.5}	8.41 ^{ab} ± 0.54	9.87 ^{ab} ± 0.60	11.08 ^{ab} ± 0.61	11.72 ^{ab} ± 0.66	12.25 ^{ab} ± 0.88	12.50 ^{ab} ± 0.95
M ₁ S ₃	9.92 ^{bc} ± 0.64	11.62 ^{bc} ± 0.66	12.53 ^{bc} ± 0.70	12.94 ^b ± 0.77	14.90 ^{bc} ± 0.89	15.41 ^{bc} ± 1.03
M ₂ S _{1.5}	7.62 ^a ± 0.66	8.64 ^{ab} ± 0.72	9.71 ^a ± 0.74	10.47 ^{ab} ± 0.85	11.45 ^a ± 1.42	12.72 ^{ab} ± 1.65
M ₂ S ₃	7.74^a ± 0.46	8.59^a ± 0.50	9.34^a ± 0.56	9.94^a ± 0.56	10.66^a ± 0.84	11.87^a ± 0.69

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%



Gambar 7. Jumlah akar yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa selama masa simpan 4 BST: A (M₀S_{1.5}), B (M₀S₃), C (M₁S_{1.5}) D (M₁S₃), E (M₂S_{1.5}), F (M₂S₃)

Tekanan osmotik pada M_2S_3 sebesar -5.95 atm, hal ini menandakan potensial osmotik cukup negatif sehingga mengakibatkan air berdifusi keluar dari jaringan ke larutan sekitarnya. Akibatnya jaringan menjadi kekurangan air, dan proses metabolisme terhambat. Air menjadi kebutuhan utama dalam sel, karena salah satu kegunaan air pada tanaman yaitu sebagai reagen dalam beberapa aktivitas enzim dalam sel. Akumulasi manitol dalam konsentrasi yang tinggi dapat berakibat pertumbuhan tanaman terhambat, partenokarpi, dan pengguguran daun (Abebe *et al.*, 2003).

3. Jumlah Tunas

Plantlet pada awal tahap inisiasi hanya menggunakan 1 tunas pada semua perlakuan. Kemudian pertumbuhan tunas mulai terbentuk dari 1 BST hingga plantlet berumur 6 bulan. Pengamatan dilakukan setiap 1 bulan untuk melihat adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan jumlah tunas (Tabel 5).

Plantlet yang telah diinisiasi kedalam 6 taraf konsentrasi yang berbeda, menunjukkan terdapat perubahan yang terlihat dalam 1 BST, hal ini terlihat dari perlakuan M_0S_3 yang berbeda signifikan dengan perlakuan menggunakan konsentrasi sukrosa yang sedikit ($M_0S_{1.5}$), meskipun perlakuan $M_0S_{1.5}$ dibandingkan dengan perlakuan dengan manitol menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Pertumbuhan jumlah tunas pada 1 BST menunjukkan pertumbuhan tunas tertinggi M_0S_3 (1.53 ± 0.19). Tunas menjadi terhambat

pertumbuhannya akibat sel kekurangan energi, yang umumnya diperoleh dari sukrosa sebagai sumber karbon utama dalam sel. Hal ini sesuai dengan penelitian Ekhlis (2014) yang melakukan penelitian pada *Musa cv. Grand Naine* yang menunjukkan pertambahan jumlah tunas tertinggi dari seluruh variasi sukrosa (0-75 gL⁻¹) terdapat pada konsentrasi sukrosa 30 gL⁻¹ setelah 6 minggu inisiasi. Menurut Ekhlis, maksimum sukrosa yang diberikan dalam 1 L medium adalah 30 gL⁻¹, yang didukung oleh penelitian Swamy (2010) dan Rihan (2015) yang menampilkan hasil yang sama.

Pertumbuhan jumlah tunas pada 2 BST, terlihat bahwa pertumbuhan tunas tertinggi M₀S₃ (1.69 ± 0.23), berbeda signifikan terhadap seluruh perlakuan. Pertumbuhan tunas terendah terdapat pada perlakuan M₀S_{1.5} yaitu sebesar 1.15 ± 0.09. Efek penghambatan akibat manitol tetap ada dalam sel, namun ketika penggunaan sukrosa dalam medium sudah semakin berkurang, manitol dapat digunakan sebagai energi. Meskipun, jumlah tunas yang dihasilkan tidak lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa manitol. Jumlah tunas dalam 4 dan 5 BST, menunjukkan bahwa perlakuan M₀S₃, M₁S₃, M₂S₃ terdapat perbedaan signifikan dengan perlakuan M₀S_{1.5}. Namun pada 6 BST, kembali terlihat perbedaan yang signifikan antar keseluruhan perlakuan.

Jumlah tunas tertinggi terdapat pada perlakuan M₀S₃ sebesar 4.46 ± 1.2. Perlakuan lainnya yang terdapat sukrosa 30 gL⁻¹ yaitu perlakuan M₂S₃ juga menunjukkan pertumbuhan jumlah tunas yang tinggi dibandingkan dengan perlakuan M₀S_{1.5}, M₁S_{1.5} dan M₂S_{1.5}, meskipun pada perlakuan M₁S₃ terdapat

penurunan jumlah tunas, namun efek dari penghambatan jumlah tunas oleh regulator osmotik masih tetap ada.

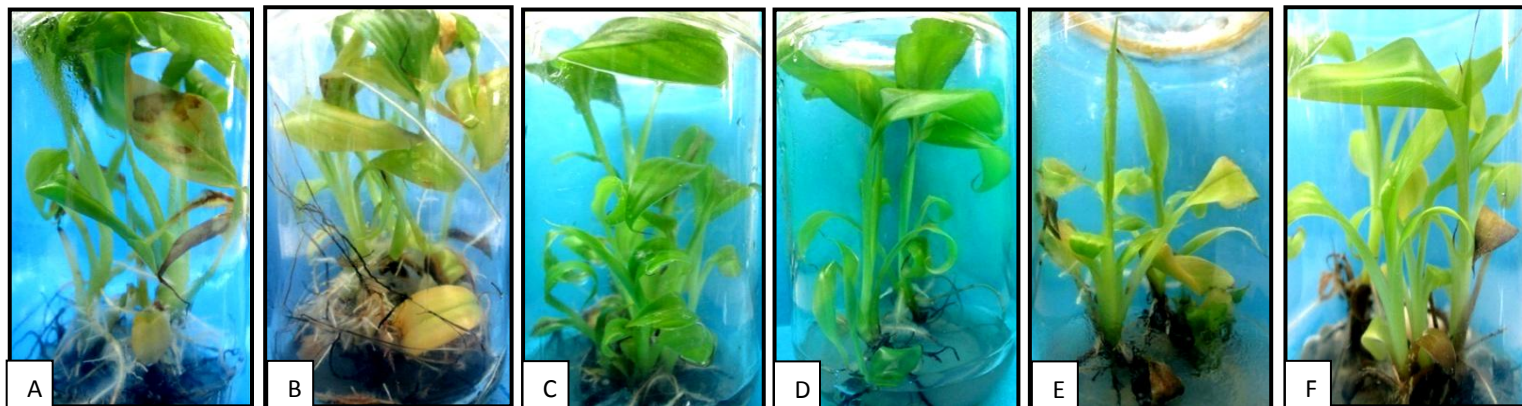
Penambahan manitol mampu memberi sumber energi alternatif, karena manitol dapat diubah menjadi fruktosa (Priyadi,2012) sehingga energi yang dapat dihasilkan untuk sel hanya sedikit,. Manitol tetap membantu dalam proses pertumbuhan jumlah tunas. Konsentrasi manitol dapat meningkatkan jumlah tunas per plantlet, meskipun tidak melakukan perpanjangan tunas (Roca *et al.*, 1992). Meskipun manitol dapat mendukung penambahan jumlah tunas, penggunaan manitol tanpa sukrosa tidak disarankan, karena manitol atau osmotik metabolik lain tidak bisa lebih efektif daripada penggunaan sukrosa untuk kelangsungan hidup tanaman.

Manitol tidak memberikan pengaruh yang efektif untuk menekan pertumbuhan tunas pisang cv. Kepok. Selain dari pentingnya pengaruh sukrosa yang diberikan dalam medium, penambahan ZPT untuk mendorong pertumbuhan tunas, dalam hal ini BAP 2.25 mgL^{-1} cukup memberikan efek yang penting untuk peningkatan jumlah tunas. Hal ini didukung oleh pernyataan Lestari, 2001 yang menyatakan bahwa manitol tidak memberikan efek dalam menekan pertunasan temu putri (*Curcuma petiolata* Roxb.)

Tabel 6. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah tunas pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Rerata jumlah tunas pada bulan setelah tanam (BST)					
	1 BST	2 BST	3 BST	4 BST	5 BST	6 BST
	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE
M ₀ S _{1.5}	1.09 ^a ± 0.06	1.15 ^a ± 0.09	1.15 ^a ± 0.09	1.20 ^a ± 1.45	1.25 ^a ± 0.17	1.25 ^a ± 0.17
M ₀ S ₃	1.53 ^b ± 0.19	1.69 ^b ± 0.23	1.92 ^b ± 0.30	2.25 ^b ± 0.86	2.25 ^a ± 0.39	4.46 ^b ± 1.2
M ₁ S _{1.5}	1.24 ^{ab} ± 0.09	1.35 ^{ab} ± 0.10	1.37 ^{ab} ± 0.10	1.40 ^{ab} ± 0.66	1.45 ^a ± 0.14	1.47 ^a ± 0.15
M ₁ S ₃	1.24 ^{ab} ± 0.08	1.56 ^{ab} ± 0.18	1.82 ^{ab} ± 0.26	2.12 ^{ab} ± 0.77	2.40 ^a ± 0.88	1.75 ^a ± 0.44
M ₂ S _{1.5}	1.10 ^a ± 0.06	1.26 ^{ab} ± 0.14	1.54 ^{ab} ± 0.32	1.65 ^{ab} ± 0.85	1.72 ^a ± 0.12	1.83 ^a ± 0.09
M ₂ S ₃	1.16 ^a ± 0.06	1.25 ^{ab} ± 0.08	1.50 ^{ab} ± 0.18	1.50 ^{ab} ± 0.56	2.25 ^a ± 0.36	2.08 ^{ab} ± 0.36

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%



Gambar 8. Jumlah tunas yang terbentuk dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa selama masa simpan 5 BST:
A (M₀S_{1.5}), B (M₀S₃), C (M₁S_{1.5}) D (M₁S₃), E (M₂S_{1.5}), F (M₂S₃)

4. Tinggi Plantlet

Pengamatan terhadap tinggi plantlet dilakukan pada bulan ke-6 setelah inisiasi, untuk melihat pertambahan tinggi plantlet terjadi sesudah dan sebelum penggunaan konsentrasi sukrosa dan manitol. Pertambahan tinggi plantlet untuk perlakuan M_0S_3 dan perlakuan M_2S_3 , dipengaruhi oleh tersedianya manitol yang akan menahan pertumbuhan tunas tersebut. Pertumbuhan tinggi plantlet dalam 6 BST menunjukkan bahwa pertumbuhan tertinggi terdapat pada perlakuan M_0S_3 (13.61 ± 0.39) dengan pertambahan tinggi yang terlihat berbeda secara signifikan dari keseluruhan perlakuan. Hal ini terlihat berbeda jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi manitol dan sukrosa yang tertinggi (M_2S_3). Perlakuan M_2S_3 menghasilkan pertumbuhan plantlet terendah dari semua perlakuan (8.25 ± 0.65). Manitol 20 gL^{-1} memberikan efek penghambatan tinggi plantlet, hal ini disebabkan dari daya regenerasi sel yang sangat rendah. Fenotipe plantlet yang ditunjukkan pada media dengan penambahan manitol dan sukrosa yang tinggi terlihat pendek dan kurus (Gambar 7). Pemberian manitol 20 gL^{-1} sudah dapat memberikan pengaruh untuk penghambatan tinggi plantlet, yang memberikan pertumbuhan lebih rendah dibandingkan dengan tanaman tanpa konsentrasi manitol (Dewi, 2014).

Penelitian Charoensub dan Phansiri (2004) memperlihatkan bahwa penggunaan manitol $20-6 \text{ gL}^{-1}$ berpengaruh terhadap pengurangan tinggi tanaman *Plumbago indica* sebanyak 93.3%. Penggunaan konsentrasi manitol 60 gL^{-1} dapat mengakibatkan tanaman tercekam akibat ketersediaan air yang

sangat sedikit, sehingga tanaman akan cepat mengalami kematian. Konservasi tanaman secara *in vitro* menggunakan manitol sekitar 15-40 gL⁻¹ untuk konservasi jangka menengah. Hal ini didukung dalam penelitian sebelumnya yaitu pada tanaman tebu (Sarwar dan Siddiqui, 2004) dan ubi jalar (Purwoko *et al.*, 2000).

Penelitian Lestari (2001) juga menunjukkan bahwa penambahan manitol 30 gL⁻¹ berakibat pada pertumbuhan tinggi yang cukup terhambat, meskipun hasil analisis statistik tidak berbeda nyata. Penggunaan *Absisic acid* (ABA) juga dapat memberikan efek yang optimal dalam menghambat pertumbuhan tinggi plantlet. Penggunaan medium tanpa manitol berakibat pada penambahan tinggi plantlet yang cukup besar, sehingga memiliki daya hidup yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman dengan penambahan manitol.

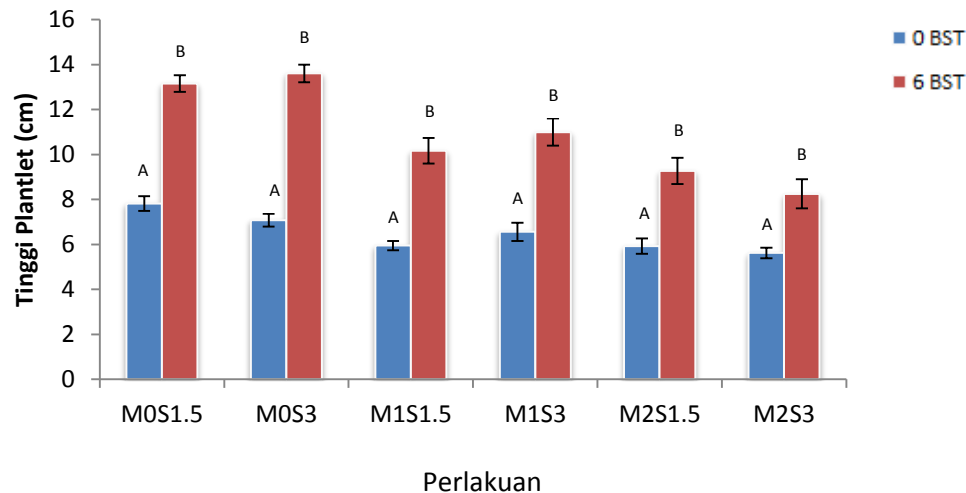
Tabel 7. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Rerata tinggi plantlet pada bulan setelah tanam (BST)					
	0 BST			6 BST		
	Rerata ± SE	Min	Maks	Rerata ± SE	Min	Maks
M ₀ S _{1.5}	7.82 ^c ± 0.33	5.25	9.75	13.16 ^d ± 0.37	10.75	16.00
M ₀ S ₃	7.08 ^{bc} ± 0.28	5.00	9.75	13.61 ^d ± 0.39	9.50	17.00
M ₁ S _{1.5}	5.95 ^a ± 0.21	4.50	8.00	10.17 ^{bc} ± 0.57	4.50	14.50
M ₁ S ₃	6.56 ^b ± 0.41	4.00	9.00	11.00 ^c ± 0.60	8.50	15.25
M ₂ S _{1.5}	5.93 ^a ± 0.34	4.50	6.75	9.27 ^a ± 0.58	6.00	12.50
M ₂ S ₃	5.62^a ± 0.23	4.00	9.75	8.25^a ± 0.65	5.75	12.25

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%



Gambar 9. Tinggi plantlet pisang cv. Kepok dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa selama masa simpan 6 BST: A (M₀S_{1.5}), B (M₀S₃), C (M₁S_{1.5}) D (M₁S₃), E (M₂S_{1.5}), F (M₂S₃)



Gambar 10. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Kontaminasi terlihat di bulan ke-3 setelah inisiasi, pada konsentrasi M_1S_3 , $M_2S_{1.5}$ dan M_2S_3 . Kontaminasi tertinggi pada bulan ke-3 pada perlakuan M_2S_3 yaitu sebanyak 17%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tingginya sumber karbon didalam sel akan merangsang mikroorganisme untuk tumbuh disekitar medium dan akan mengambil unsur hara baik didalam medium maupun pada tanaman. Media *in vitro* yang kaya akan nutrisi, dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Wetherell, 1982).

Kondisi lainnya terlihat ada bulan ke-4 setelah tanam, perlakuan M_0S_3 sudah terdapat 13% plantlet yang terkontaminasi. Pada perlakuan M_2S_3 angka kontaminasi tetap ada namun cenderung menurun, hal ini kemungkinan tanaman telah memiliki mekanisme pertahanan sehingga jumlahnya menurun. Pada 5 BST, kontaminasi terlihat di hampir seluruh perlakuan, hal ini disebabkan

tumbuhan yang sedang aktif melakukan metabolisme, sehingga hal ini dapat dideteksi oleh mikroorganisme. mikroorganisme dapat masuk kedalam sel yang mengakibatkan kontaminasi.

Tabel 8. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap kontaminasi pisang cv. Kepok setelah disimpan selama 6 bulan

Perlakuan	Presentase Kontaminasi (%)			
	3 BST	4 BST	5 BST	6 BST
M ₀ S _{1.5}	0	0	21	0
M ₀ S ₃	0	13	0	9
M ₁ S _{1.5}	0	0	10	0
M ₁ S ₃	6	10	7	16
M ₂ S _{1.5}	9	5	26	0
M ₂ S ₃	17	5	11	17

Efek kontaminasi akibat tingginya medium kultur dapat muncul \pm 3 bulan setelah inisiasi. Jika terjadi pada bulan awal setelah inisiasi menandakan bahwa kontaminasi kemungkinan besar terjadi akibat sterilisasi media yang kurang baik, lingkungan kultur, atau kondisi eksplan yang sudah membawa bibit-bibit mikroorganisme (Gunawan, 1989).



Gambar 11. Kontaminasi plantlet pisang cv. Kepok dalam masa penyimpanan selama 6 bulan

Percobaan 3. Regenerasi Pisang cv. Kepok hasil penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*

Tahap percobaan terakhir dari penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* adalah dengan memindahkan kembali hasil kultur setelah disimpan selama 6 bulan ke dalam medium yang mengandung MS + BAP 2.25 mg L⁻¹ + 1.75 mg L⁻¹ IAA. Hal ini dilakukan bertujuan untuk melihat daya regenerasi tanaman setelah disimpan dalam waktu 6 bulan dapat tumbuh baik seperti pada tanaman semula atau tidak (Tabel 8).

1. Kandungan klorofil dan berat basah plantlet pisang cv. Kepok

Pengujian kandungan klorofil menunjukkan hasil yang berbeda signifikan antara kandungan klorofil dalam keadaan tanpa manitol dan dengan penambahan manitol. Kandungan klorofil pada M₀S₃ memperlihatkan kandungan klorofil yang tertinggi (7.01 ± 0.10 mg Chlcm⁻²) dari keseluruhan perlakuan. Sedangkan perlakuan dengan penggunaan manitol menunjukkan hasil yang lebih rendah pada beberapa varian konsentrasi, kandungan klorofil terendah terdapat pada perlakuan M₁S_{1.5} (1.57 ± 0.05). Hasil yang didapat menunjukkan pada beberapa konsentrasi menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan perlakuan lain (kecuali M₀S₃).

Penelitian Li (2010) menunjukkan konsentrasi klorofil yang sedikit daun merupakan salah satu respon yang ditunjukkan tanaman sebagai kondisi kekurangan air, karena proses perubahan rantai fitil (C₂₀H₃₉O) akan berubah

menjadi fitol ($C_{20}H_{39}OH$) dapat berjalan dengan bantuan air dan enzim klorofilase. Fitol merupakan komponen yang penting untuk reduksi klorofil. Adanya manitol dapat mengakibatkan air berkurang didalam sel, sehingga proses pengubahan fitil menjadi fitol akan semakin sulit dilakukan (Ai, 2010). Ketersediaan klorofil sangat berkaitan dalam laju fotosintesis, yaitu dengan memanfaatkan energi matahari, klorofil melakukan fiksasi CO_2 . Kekurangan air akan berdampak pada menurunnya laju fotosintesis dalam sel.

Tabel 9 Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap berat basah dan kandungan klorofil plantlet pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Berat basah	Berat kering	Selisih berat basah-berat kering	Kandungan klorofil
	Rerata \pm SE	Rerata \pm SE		Rerata \pm SE
$M_0S_{1.5}$	^a 3.30 \pm 0.24	^a 0.15 \pm 0.10	3.15	3.06 ^b \pm 0.16
M_0S_3	^a 3.87 \pm 0.29	^e 0.20 \pm 0.03	3.67	7.01 ^e \pm 0.10
$M_1S_{1.5}$	^a 2.65 \pm 0.01	^a 0.13 \pm 0.01	2.50	1.57 ^a \pm 0.05
M_1S_3	^a 2.91 \pm 0.29	^a 0.15 \pm 0.01	2.76	3.87 ^c \pm 0.00
$M_2S_{1.5}$	^a 1.64 \pm 0.23	^a 0.10 \pm 0.02	1.54	4.55 ^d \pm 0.00
M_2S_3	^a 2.07 \pm 1.40	^a 0.18 \pm 0.13	1.89	3.66 ^c \pm 0.00

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Pengukuran berat basah dan berat kering plantlet pisang cv. Kepok menunjukkan hasil yang berbeda antara perlakuan dengan manitol maupun media tanpa manitol. Selisih berat kering tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa manitol, hal ini disebabkan akibat tingginya kandungan air didalam sel tanaman. Ketersediaan air merupakan indikasi adanya cekaman abiotik dalam sel, yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Kurangnya ketersediaan

air dalam sel akan menghambat sintesis klorofil pada daun akibat penurunan laju fotosintesis (Hendriyani dan Setiari, 2009). Penurunan kandungan air pada medium tanam jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) sebanyak 8% mengakibatkan turunnya kandungan klorofil hingga 0,004 mg/daun (Syafi, 2008). Penurunan kandungan klorofil pada tanaman merupakan salah satu respon fisiologi tanaman yang mengalami kekurangan air.



Gambar 12. Plantlet pisang cv. Kepok dari perlakuan MS + Manitol + Sukrosa sebelum dilakukan uji kandungan klorofil: A ($M_0S_{1.5}$), B (M_0S_3), C ($M_1S_{1.5}$) D (M_1S_3), E ($M_2S_{1.5}$), F (M_2S_3)

Pengamatan terhadap berat basah dilakukan setelah 4 minggu plantlet dipindahkan ke medium regenerasi. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi manitol yang lebih tinggi dari sukrosa menyebabkan rendahnya berat basah yang dihasilkan. Perlakuan $M_2S_{1.5}$ menunjukkan berat basah terendah (1.64 ± 0.23), dan berat basah tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa manitol ($M_0S_{1.5}$ dan M_0S_3). Semakin terdapat penambahan manitol dalam medium akan menyebabkan minimnya

ketersediaan air dalam medium kultur, mengakibatkan berat basah menjadi kecil.

Tabel 10. Pengaruh pemberian manitol dan sukrosa terhadap panjang dan lebar daun plantlet pisang cv. Kepok setelah disimpan selama 6 bulan

Perlakuan	Panjang Daun	Lebar Daun	Rasio panjang : lebar daun
	Rerata \pm SE	Rerata \pm SE	
M ₀ S _{1.5}	4.96 ^{bc} \pm 0.32	1.32 ^{ab} \pm 0.08	3.73 ^d \pm 0.09
M ₀ S ₃	5.54 ^c \pm 0.29	1.48 ^{bc} \pm 0.06	3.48 ^{cd} \pm 0.06
M ₁ S _{1.5}	5.37 ^{bc} \pm 0.33	1.63 ^c \pm 0.05	3.35 ^{cd} \pm 0.10
M ₁ S ₃	5.47 ^{bc} \pm 0.40	3.21 ^d \pm 0.08	1.67 ^a \pm 0.15
M ₂ S _{1.5}	4.43 ^b \pm 0.43	1.35 ^{abc} \pm 0.15	3.31 ^{bc} \pm 0.15
M ₂ S ₃	3.23 ^a \pm 0.19	1.08 ^a \pm 0.07	2.95 ^{ab} \pm 0.16

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada bulan yang sama pada setiap percobaan yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Peningkatan rasio panjang : lebar daun setelah 1 bulan disubkultur ke media baru dengan kandungan BAP 2.25 mg L⁻¹ dan 1.75 mg L⁻¹ menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan M₀S₃ dengan penambahan konsentrasi manitol. Berdasarkan pengamatan (disajikan dalam Tabel 9) menunjukkan bahwa penambahan manitol merupakan respon tanaman yang sedang kekurangan air yang berdampak pada menurunnya laju pertumbuhan tanaman (Ai, 2011). Tanaman yang mengalami kekurangan air secara umum mempunyai ukuran yang lebih kecil dibandingkan tanaman normal. Kekurangan air berdampak signifikan terhadap tingginya angka kematian pada tanaman (Kurniasari, *et al.*, 2010).

2. Pengaruh Jumlah Tunas, Jumlah Akar, Jumlah Daun, dan Tinggi plantlet Pasca Penyimpanan Secara In vitro

Pengamatan dilakukan setelah 1 bulan pasca penyimpanan dengan menggunakan manitol dan sukrosa. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah plantlet mampu tumbuh normal setelah diregenerasikan kedalam media MS + IAA 1.75 mgL^{-1} + BAP 2.25 mgL^{-1} . Pengamatan mengenai jumlah daun dari keseluruhan perlakuan yang ada, perlakuan penyimpanan dengan setengah kadar sukrosa (15 gL^{-1}) + manitol (10 dan 20 gL^{-1}) memperlihatkan jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan yang sebelumnya mengandung kadar sukrosa yang cukup 30 gL^{-1} . Hal ini disebabkan karena tanaman yang sebelumnya dengan kondisi kekurangan kadar sukrosa, pasca pemindahan ke medium baru, tanaman sudah mampu menyesuaikan diri dengan medium yang baru, karena mengandung sukrosa yang cukup dan tidak ada lagi penghambatan oleh manitol.

Kondisi plantlet yang berbeda ditunjukkan pada tanaman dengan perlakuan yang sebelumnya terdapat sukrosa yang cukup dalam medium + manitol (10 dan 20 gL^{-1}) memperlihatkan penambahan jumlah daun yang tidak berbeda signifikan dengan jumlah daun sebelum dipindahkan ke medium baru. Hal ini disebabkan karena tanaman sudah memiliki mekanisme untuk mengakumulasi 30 gL^{-1} sukrosa tersebut, jadi penambahan jumlah tunas yang signifikan hanya terdapat pada perlakuan yang sebelumnya mengandung sukrosa yang sedikit. Hal ini didukung oleh penelitian Syahid dan Nova (2006) yang melakukan konservasi *in vitro* dengan pertumbuhan minimal, pasca

dilakukan penyimpanan tanaman pada bulan pertama di media regenerasi pertumbuhannya agak terlihat lambat. Hal ini merupakan respon tanaman yang memiliki pertahanan terhadap stress osmotik belum mampu beradaptasi pada kondisi media yang normal.

Pertumbuhan jumlah akar setelah dipindahkan ke medium regenerasi baru menunjukkan adanya peningkatan, terutama pada yang disimpan dengan 30 gL^{-1} sukrosa (M_0S_3 , M_1S_3 , M_2S_3). Hal ini menandakan bahwa akar mampu menyesuaikan diri terhadap medium baru, meskipun terlihat terdapat peningkatan, namun berdasarkan hasil analisa statistik hasilnya tidak berbeda signifikan. Pertumbuhan tunas pasca dilakukan penyimpan tidak menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan 6 BST di media perlakuan.

Berdasarkan hasil analisis statistik, terdapat penambahan tunas hanya pada perlakuan dengan manitol 20 gL^{-1} . Hal ini disebabkan karena kondisi stress osmotik pada tanaman, yang sulit untuk melakukan daya regenerasi pertumbuhan tunas. Pada perlakuan tanpa manitol (M_0S_3 dan $M_0S_{1.5}$) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan 6 bulan penyimpanan (Tabel 10).

Pengamatan terhadap tinggi plantlet juga menunjukkan hasil yang sama. Terlihat bahwa keseluruhan perlakuan dengan penambahan manitol setelah melewati proses regenerasi setelah disimpan dalam waktu lama, menjadi hambatan untuk pertumbuhan selanjutnya, yang ditandai dengan lambatnya proses penambahan tinggi plantlet setelah kembali ke media regenerasi.

Namun pengamatan ini hanya diawal bulan pertama saja, pada bulan berikutnya tanaman mulai melakukan pembentukan tunas, akar dan daun baru (Syahid dan Nova, 2006).

Tabel 11. Pengaruh daya regenerasi pasca pemberian manitol dan sukrosa terhadap jumlah tunas, jumlah akar, jumlah daun dan tinggi plantlet plantlet pisang cv. Kepok selama 6 bulan

Perlakuan	Jumlah Daun		Jumlah Akar		Jumlah Tunas		Tinggi	
	6 BST	RS	6 BST	RS	6 BST	RS	6 BST	RS
	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE	Rerata ± SE
M ₀ S _{1.5}	5.30 ± 0.88	6.70 ± 0.64	17.10 ± 0.84	18.50 ± 1.00	1.30 ± 0.24	1.20 ± 0.15	13.65 ± 0.40	14.15 ± 0.61
M ₀ S ₃	9.20 ± 1.29	10.55 ± 1.09	17.40 ± 0.85	19.30 ± 0.90	2.65 ± 0.66	2.65 ± 0.66	14.17 ± 0.34	14.97 ± 0.32
M ₁ S _{1.5}	4.85 ± 0.74	6.75 ± 0.78	13.25 ± 0.82	13.35 ± 1.14	1.20 ± 0.21	1.20 ± 0.21	9.12 ± 0.93	11.12 ± 1.39
M ₁ S ₃	5.35 ± 0.42	6.00 ± 0.39	13.65 ± 1.00	14.30 ± 0.77	1.20 ± 0.11	1.15 ± 0.10	9.77 ± 0.52	10.95 ± 0.70
M ₂ S _{1.5}	4.80 ± 0.13	5.80 ± 0.52	12.65 ± 1.26	12.95 ± 1.22	1.10 ± 0.10	1.35 ± 0.23	9.22 ± 0.64	9.17 ± 0.64
M ₂ S ₃	5.15 ± 0.86	5.40 ± 0.92	12.25 ± 0.77	12.45 ± 0.81	2.30 ± 0.46	2.40 ± 0.48	7.82 ± 0.67	7.32 ± 0.46

Keterangan: 6 BST = 6 Bulan setelah tanam, akhir waktu penyimpanan jangka menengah secara *in vitro*
 RS = Regenerasi (pasca penyimpanan secara *in vitro*)

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kombinasi media dasar *Murashige and Skoog* (MS) + Sukrosa 30 gL^{-1} + Manitol 20 gL^{-1} (M_2S_3) efektif menghambat pertumbuhan jumlah daun, jumlah akar, dan tinggi plantlet. Dosis yang menghambat perbanyakan tunas adalah perlakuan dengan penambahan sukrosa sebanyak 15 gL^{-1} selama 6 bulan.
2. Konservasi *in vitro* jangka menengah plantlet pisang cv. Kepok dengan penambahan ZPT berupa BAP sebanyak 2.25 mg L^{-1} dan IAA sebanyak 0.175 mg L^{-1} dari berbagai perlakuan dapat disimpan dalam jangka waktu 6 bulan penyimpanan.
3. Daya regenerasi plantlet pisang cv. Kepok setelah disimpan selama 6 bulan belum menunjukkan pertumbuhan yang normal pada 1 bulan setelah dipindahkan ke medium baru dengan penambahan ZPT berupa BAP sebanyak 2.25 mg L^{-1} dan IAA sebanyak 1.175 mg L^{-1}

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui daya regenerasi lebih lanjut setelah plantlet disimpan, dengan menggunakan medium regenerasi awal.
2. Perlu dilakukan penelitian identifikasi mikroorganisme pengkontaminan yang dipengaruhi oleh manitol dan sukrosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abebe, T., Guenzi, A. C., Martin, B., & Cushman, J. C. (2003). Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. *Plant Physiol.* , 131, 1748-1755.
- Agrawal, A., & Sanayaima, R. (2010). Cost-effective In vitro Conservation of Banana Using Alternative of Gelling Agent (isabgol) And Carbon Source (market sugar). *Acta Physiol of Plant* , 32, 703-711.
- Ai, N. S., & Banyo, Y. (2011). Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *J. Ilmiah Sains.* , 11 (2), 166-173.
- Al-amin, M., Karim, M. R., Amin, M. R., & Rahman, S. (2009). In Vitro Micropropagation of Banana (*Musa* spp.). *Bangladesh J. Agril. Res.* 34(4) , 645-659.
- Andaryani, S. (2010). Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi Bap Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Secara In Vitro. [*Skripsi*] (pp. 7-10). Surakarta: Faperta UNS.
- Balitbangtan. (2005). *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis: Pisang.* (Departemen Pertanian) Retrieved Mei 13, 2016, from <http://www.litbang.pertanian.go.id/hasil/>
- Blakesley, D., N. Pask, G.G. Henshaw, and M.F. Fay. (1996). Biotechnology and the conservation of forest genetic resources: cryopreservation. *P. Growth Reg.* 20:11-16.
- Charoensub, R., & Phansiri, S. (2004). In Vitro Conservation of Rose Coloured Leadwort: Effect of Mannitol on Growth of Plantlets. *Kasetsart J. (Nat Sci).* , 38, 97-102.
- Cha-um, S., Nhung, N. T., & Kirdmanee, C. (2010). Effect of Mannitol and Salt Induced Iso-osmotic Stress on Proline Accumulation, Photosynthetic Abilities and Growth Characters of Rice Cultivars (*Oryza sativa* L. spp. Indica). *Pak. J. Bot.* , 42 (2), 927-941.
- Deguchi, M., Y. Koshita, M. Gao, R. Tao, T. Tetsumura, S. Yamaki, and Y. Kanayama. (2004). Engineered sorbitol accumulation induces dwarfism in Japanese persimmon. *J. Plant Physiol.* 161:1177-1184.

- de Oliveira, P. R., e Silva, S. d., da Silva, K. M., & Silviera, D. G. (2000). In Vitro Conservation of Diploid Banana Accessions. *Solentia Agricola.* , 57, 245-249.
- Deputi Menegristek. (2008). *Pisang*. Retrieved Mei 13, 2016, from Menegristek: <http://warintek.ristekdikti.go.id/pertanian/pisang.pdf>
- Dewi, IS, Jawak, G, Roostika, I, Sabda, M, Purwoko, BS & Adil WH. (2010). Konservasi in vitro tanaman jeruk besar (*Citrus maxima* (Burn.) Merr.) kultivar Srinjanya menggunakan osmotikum dan retardan, *J. Agrobiogen*, 6: 84-90.
- Dewi, I. S., Jawak, G. S., Purwoko, B. S., & Sabda, M. (2014). Respon Pertumbuhan Kultur In Vitro Jeruk Besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr) cv. Nambangan terhadap Osmotikus dan Retardan. *J. Hort. Indo.* , 5 (1), 21-28.
- Dirjen Hort. Kementan. (2016). *Sub Sektor Hortikultura - Produksi Buah-buahan di Indonesia 2011-2015*. Retrieved Mei 13, 2016, from http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti
- Divakaran M, Nirmal Babu K, Peter KV (2006). Conservation of Vanilla species, in vitro. *Scie. Hort.* 110:175-180.
- Ekhlas, A. M. (2014). Effect of Sucrose and Glucose Consentrationon Micro-propagation of *Musa* sp. cv. Grand Naine. *J. of Appl. and Ind. Sci.* , 2 (2), 58-62.
- Engelmann, F. (1991). In vitro Conservation of Tropical Germplasm - a review. *Euphytica* , 57, 227-243.
- Gawad, A. E., Saleh, M. A., & Zaied, N. S. (2010). A comparative Study On Different Carbon Source Concentrations. *Nat. Sci.* , 8 (5), 127-130.
- Gardner, F.P., Perace, R.B., dan Mitchell, R.L. (1991). Fisiologi Tanaman Budidaya. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta: UI Press.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. (2008). The Components of Plant Tissue Culture Media, II. *Springer.* , 115-119.
- Golmirzaie, A. and J. Toledo. (1999). In vitro conservation of potato and sweet potato germplasm. CIP Program Report 1997-98. *Int.l Potato Center*. Lima, Peru. 351- 356.

- Goncalves, S., & Romano, A. (2007). In vitro Minimum Growth for Conservation of *Drosophyllum lusitanicum*. *Biol. Plant.* , 51, 795-798.
- Gunawan, L. W. (1987). Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. PAU Biotek IPB. Bogor. 304-315.
- Hambali, E. A., Suryani, Dadang, Hariyadi, H., Hanafie, I. K., Reksowardojo, M., et al. (2006). *Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodiesel*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hardaningsih, W., & Alfi, H. (2010). Penyimpanan Jangka Menengah Secara In Vitro Beberapa Geneotipe Pisang (*Musa Spp L.*). *Jerami* , 3 (1).
- Hassan, N. S. (2004). Storage of In Vitro Banana Shoot Culture at Low Temperature or under Mineral Oil Layer. *Int. J. of Agri. Biol* , 06 (2), 303-306.
- Hassan, N.A., A.A. El-Halwagi, A. Gaber, M. El-Awady, and A. Khalaf. (2007). Slow growth in vitro conservation of garlic cultivars grown in Egypt: Chemical characterization and molecular evaluation. *GJMS* 2(2):67-75.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. (1994). Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Media). Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hendriyani, I. S., & Setiari, N. (2009). Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *J. Sains & Mat.* , 17 (3), 145-150.
- Henuhili, V. (2013). *Kultur Jaringan Tanaman*. Yogyakarta.
- Heslop, H., J. S., & Schwarzacher, T. (2007). Domestication, genomic and future for banana. *Ann. Bot.* , 100, 1073-1084.
- Hu, C. Y., & Wang, P. J. (1983). Meristem, shoot tip, and bud culture. In D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Amiroto, & Y. Yamada, *Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding* (Vol. I, pp. 177-227). New York: McMilan Publishing.
- Irish, B. M., Goenaga, R., & Reed, B. M. (2013). Amending storage vessel and media increase transfer interval of *Musa spp.* tissue culture plantlets. *J. Agric. Univ. P.R.* , 97 (1-2), 1-13.

- Jacobsen H-J, Kysely W. (1984). Induction of somatic embryos in pea, *Pisum sativum* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 3, 319-324
- Kurniasari, A. M., Adisyahputra, & Rosman, R. (2010). *Pengaruh Kekeringan pada Tanah Bergaram NaCl terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam* .
- Lestari, E. G., & Supriyati, Y. (2001). Penyimpanan Temu Putri (*Curcuma petiolata* Roxb.) melalui Pertumbuhan Minimal. *BioSMART* , 2 (1), 24-28.
- Li, L.-F., Hakkinen, M., Yuand, Y.-M., Haeo, G., & Gea, X.-J. (2010). Molecular phylogeny and systematics of the Banana Family (Musaceae) inferred from multiple nuclear and chloroplast DNA fragments, with a special reference to the genus *Musa*. *J. Mol. Phylo & Evol.* , 57, 1-10.
- Li, D-Z. and H.W. Pritchard. (2009). The science and economics of ex situ plant conservation. *Trends in Plant Sci.* 14(11):614-621.
- Makful, S., & Nofiarli. (2013). Conservation of Banana cv. Ambon Kuning on Various Media In vitro Formula. *ARNP J. of Agri and Bio Sci.* , 3 (4).
- Malaurie, B., M.F. Truslot, J. Berthaud, M. Bousalem, A. Pinel, and J. Dubern. (1998). Medium-term and long-term in vitro conservation and safe international exchange of yam (*Dioscorea* spp.) germplasm. *Electron. J. Biotech.* 1(3):103-117.
- Mitoi, E. M., Halobiuc, I., & Blindu, R. (2009). The Effect Of Mannitol On Antioxidative Enzymes In Vitro Long Term Cultures Of *Dianthus Tenuifolius* and *Dianthus Spiculifolius*. *Rom. J. Biol. - PLANT BIOL.* , 54, 25-33.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *J. of Plant Physiol* , 15, 473-497.
- Negash, A., Krens, F., Schaart, J., & Visser, B. (2001). In vitro Conservation of Enset Under Slow-growth Condition. *Plant. Cell. Tiss. & Organ Cult.* , 66, 107-111.
- Neumann, U., Baha, M., Puhl, G., Langreh, J. M., & Neuhaus, P. (2004). Long-term outcome of liver transplant for hepatitis C: A 10 year follow-up. *Transplantation* , 77 (2), 226-231.
- Panis, B. (2009). Cryopreservation of *Musa* Germplasm. In F. Engelmann, & E. Benson, *Technical Guidelines No. 9* (2nd ed., Vol. 9). France: Bioversity International.

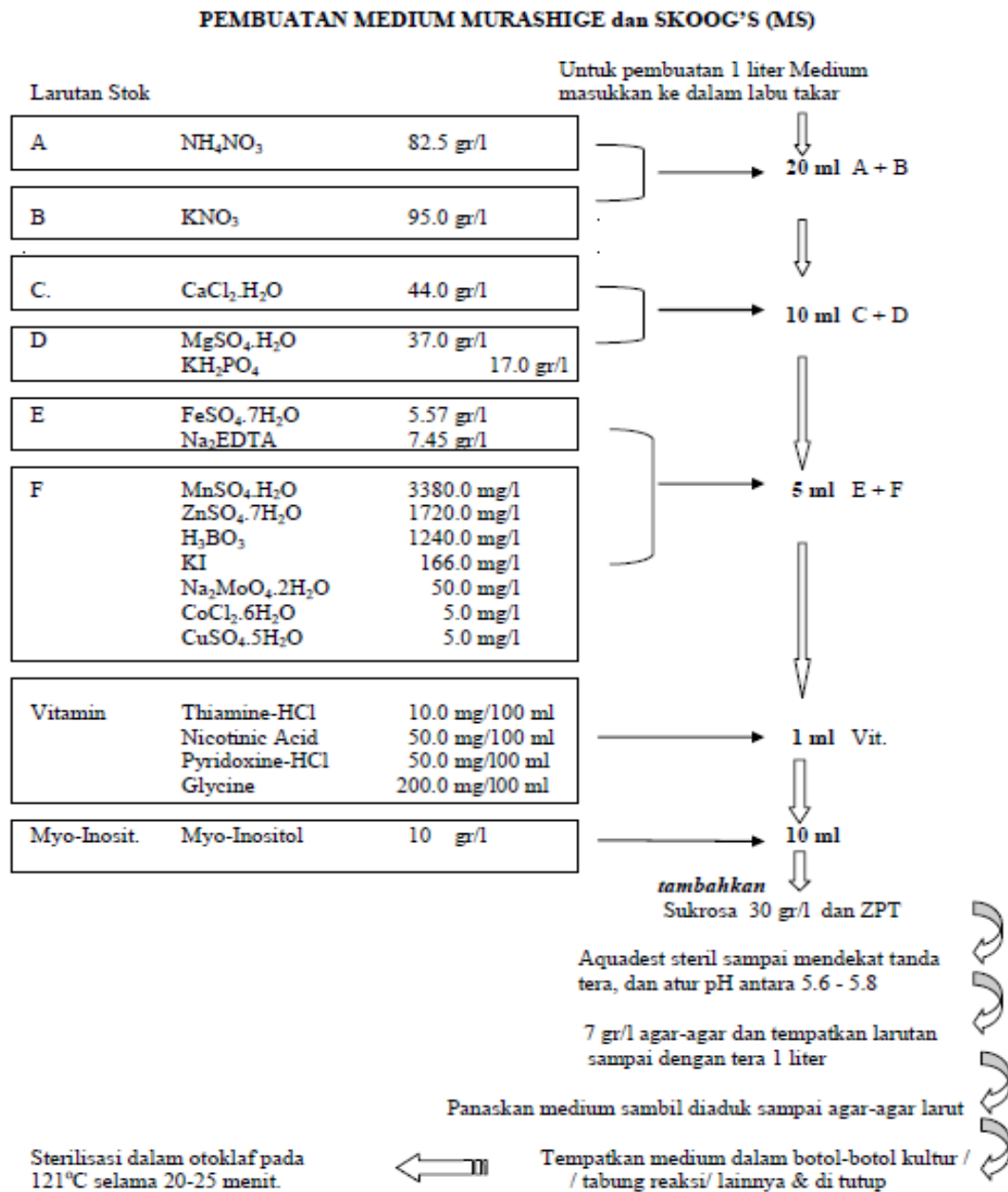
- Panis, B., Strosse, H., Remy, S., Sagi, L., & Swennen, R. (2004). Cryopreservation of Banana Tissues: Support for Germplasm Conservation and Banana Improvement.
- Panta, A., Tay, D., Gomez, R., Zea, B., Rojas, E., Simon, R., et al. (2009). Status and impact of the in vitro conservation of root and tubers at the International Potato Center (CIP). 15th. 24.
- Peloquin, S. J., Yerk, G. L., & Werner, J. F. (1991). Techniques introgressing unadapted germplasm. In: H. T. Stalker, J. P. Murphy (Eds.). CAB Intl, Wallingford, UK. 485-507
- Ploetz, R. C., Kepler, A. K., Daniells, J., & Nelson, S. C. (2007, February). Banana and Plantain- An Overview with Emphasis on Pacific Island Cultivar Musaceae (banana family). *Species Profiles for Pacific Island Agroforest*.
- Pookmanee, T., R. Amphawan, N. Topoonyamont, and N. Wichit. (2001). In vitro germplasm preservation of *Amorphophallus oncophyllus* Prain ex Hook. F. p. 145- 155. Proceeding of the 3rd Maejo University Annual Conference. Maejo University, Chiang Mai, Thailand.
- Priyadi, S. Y. (2012). Sintesis Manitol Dari Fruktosa Dengan Katalis Raney-Nikel. [Skripsi] (Pp. 5-8).
- Purwoko, B. S., Dewi, I. S., & Susilawati, N. (2000). Konservasi in vitro plasmanutfah ubijalar (*Ipomoea batatas* L.) dengan osmotikum dan retardan. *J. Tan. Trop.* , 3 (2), 68-79.
- Pusdintan. (2014). *Outlook Komoditi Pisang*. Retrieved April 03, 2016, from <http://pusdatin.setjen.pertanian.go.id/publikasi-445-outlook-komoditas-pisang-2014.html>
- Rihan, H. Z., Al-Shamari, M., Al-swedi, F., Burchett, S., & Fuller, M. P. (n.d.). (2012). The effect of sugar type, source and concentration on *Brassica oleraceae* var botrytis microproshoot production. 1-8.
- Roca, W. M., Henry, G., Angel, F., & Sarria, R. (1992). Biotechnology Research Applied to Cassava Improvement at The International Center of Tropical Agriculture (CIAT).

- Roostika, I. (2013). Perkembangan Aplikasi Teknik Kriopreservasi untuk Konservasi dan Mendukung Program Pemuliaan Tanaman. *J. AgroBiogen* , 9 (1), 39-48.
- Rukmana, R. (1999). *Usaha Tani Pisang*. Yogyakarta: Kanisius.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. (2004). Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Sarwar, M., & Siddqui, S. U. (2004). In vitro conservation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) germplasm. *Pak. J. Bot* , 36 (3), 549-556.
- Silva, T. L., & J. E. S.-P. (2011). In vitro conservation of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* under slow-growth conditions. *Pesquisia Agropecuaria* . , 46 (4), 384-389.
- Suhartanto, M. R., & Haryadi, S. S. (2008). *Program Pengembangan Pisang*. Retrieved April 03, 2016, from <http://pkht.or.id/>
- Swamy, M. K., Balasubramanya, S., & Anuradha, M. (2010). In vitro multiplication of *Pogostemon cablin* Benth. through direct regeneration. *Afri. J. of Biotech.* , 9 (14), 2069-2075.
- Syafi, S. (2008). Respons Morfologis dan Fisiologis Bibit Berbagai Genotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap Cekaman Kekeringan.
- Syahid, S. F., & Kristina, N. N. (2006). Konservasi In vitro Tanaman Temu-temuan Melalui Pertumbuhan Minimal.
- Syahid, S. F., & Mariska, I. (1997). *Monograf Jahe*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Tambunan, I. R., Sunarlim, N., Mariska, I., & Kosmiatin, M. (2013). Pengaruh Beberapa Krioprotektan terhadap Keberhasilan Penyimpanan Ubi-ubian secara Kriopreservasi. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, (pp. 294-301).
- Thompson, M. R., Douglas, T. J., Obata-Sasamoto, H., & Thorpe, T. A. (1986). Mannitol Metabolism in Cultured Plant Cells. *Physiol.* , 67, 365-369.
- Tjokrokusumo, D. S. (2014). Konservasi Plasma Nutfah Secara In vitro. *J. Tek. Ling.* , 5 (2), 140-143.

- Tokoporo, G. L., Elhassan, A. A., & Ali, M. A. (2013). Effect of Nutrient Medium Concentration and Temperature on Short-term In vitro Conservation of Short-tip Explants of Banana. *JOANARES* , 1, 37-40.
- Tuhuteru, S., Hehanussa, M. L., & Rahardjo, S. H. (2012). Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* Pada Media Kultur In vitro dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia* , 1 (1), 1-12.
- Tyas, K.N., S. Susanto, I.S. Dewi, dan N. Khumaida. (2012). Konservasi pamelon (*Citrus maxima* [Burm.] Merr.) dengan penurunan konsentrasi medium dan sukrosa. *Bul. Kebun Raya* 15(2):103-113.
- Valmayor, R. V., Jamaluddin, S. H., Silayoi, B., Kusumo, S., Danh, L. D., Pascua, O. C., et al. (2000). Banana Cultivar Names And Synonyms in Southeast Asia. *INIBAP* , 1-22.
- Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot-tip cultures for propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm in vitro 2 IBPGR, Rome, Italy. Hal: 56.
- Wattimena, G. A. (1988). Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bogor: Pusat Antara Universitas IPB. hal: 18.
- Wetherel, D. F. (1982). Pengantar Propagasi Tanaman Secara In vitro. *Avery Publishing Group* , 110 hal.
- Zang, X., & S, K. (2007). A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. *Phytochem.* , 68, 426-437.

LAMPIRAN

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



Lampiran 2. Hasil Perhitungan Statistik

Tabel 1. Uji F pengaruh pemberian Media (MS) dengan BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 0.175 mgL⁻¹ terhadap jumlah daun pisang cv. Kepok

Jumlah_daun

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ulangan 1	30	4.6000	1.06188	.19387	4.2035	4.9965	3.00	6.50
Ulangan 2	30	4.4667	.75354	.13758	4.1853	4.7480	3.00	6.00
Ulangan 3	15	4.6000	.78376	.20237	4.1660	5.0340	3.50	6.00
Ulangan 4	55	4.2091	.74964	.10108	4.0064	4.4117	3.00	6.00
Ulangan 5	38	4.4605	.63012	.10222	4.2534	4.6676	3.50	6.50
Total	168	4.4167	.79983	.06171	4.2948	4.5385	3.00	6.50

Tabel 2. Uji F pengaruh pemberian Media (MS) dengan BAP 2.25 mgL⁻¹ dan IAA 0.175 mgL⁻¹ terhadap jumlah akar pisang cv. Kepok

Jumlah_akar

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ulangan 1	30	7.4000	3.33322	.60856	6.1554	8.6446	3.00	17.00
Ulangan 2	30	7.2000	3.44313	.62863	5.9143	8.4857	2.00	14.50
Ulangan 3	15	7.2333	2.85899	.73819	5.6501	8.8166	2.50	12.50
Ulangan 4	55	6.6000	2.09806	.28290	6.0328	7.1672	2.50	12.50
Ulangan 5	38	7.5263	2.47405	.40134	6.7131	8.3395	3.50	12.00
Total	168	7.1161	2.75603	.21263	6.6963	7.5359	2.00	17.00

Tabel 3. Uji anava dua arah pengaruh pemberian Media (MS) dengan manitol dan sukrosa terhadap penghambatan total klorofil pisang cv. Kepok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total_klorofil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.570 ^a	5	6.514	460.121	.000
Intercept	187.960	1	187.960	1.328E4	.000
Manitol	10.863	2	5.432	383.671	.000
Sukrosa	9.575	1	9.575	676.316	.000
Manitol * Sukrosa	12.132	2	6.066	428.473	.000
Error	.085	6	.014		
Total	220.615	12			
Corrected Total	32.655	11			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

Tabel 4. Uji anava dua arah pengaruh pemberian Media (MS) dengan manitol dan sukrosa terhadap penghambatan berat basah plantlet pisang cv. Kepok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Berat_basah

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	74.060 ^a	5	14.812	2.922	.112
Intercept	116.252	1	116.252	22.932	.003
Manitol	72.593	2	36.296	7.160	.026
Sukrosa	.075	1	.075	.015	.907
Manitol * Sukrosa	1.392	2	.696	.137	.874
Error	30.416	6	5.069		
Total	220.728	12			
Corrected Total	104.476	11			

a. R Squared = .709 (Adjusted R Squared = .466)

Tabel 5. Uji anava dua arah pengaruh pemberian Media (MS) dengan manitol dan sukrosa terhadap penghambatan panjang-lebar daun pisang cv. Kepok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Panjang_lebar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	27.122 ^a	5	5.424	32.330	.000
Intercept	571.508	1	571.508	3.406E3	.000
Manitol	11.960	2	5.980	35.640	.000
Sukrosa	8.752	1	8.752	52.162	.000
Manitol * Sukrosa	6.410	2	3.205	19.104	.000
Error	9.060	54	.168		
Total	607.690	60			
Corrected Total	36.182	59			

a. R Squared = .750 (Adjusted R Squared = .726)

Tabel 6. Tabel uji DMRT jumlah daun 1 BST

Jumlah_daun

Duncan

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	27	5.3889		
M0S1.5	26	5.9038	5.9038	
M1S3	33	6.0606	6.0606	6.0606
M1S1.5	31	6.1129	6.1129	6.1129
M2S1.5	25		6.4800	6.4800
M0S3	26			6.7885
Sig.		.085	.173	.083

Tabel 7. Tabel uji DMRT jumlah daun 2 BST**Jumlah_daun**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S3	27	5.9259	
M0S1.5	26		7.2500
M1S1.5	31		7.5161
M1S3	33		7.5758
M2S1.5	25		7.9000
M0S3	26		8.4615
Sig.		1.000	.072

Tabel 8. Tabel uji DMRT jumlah daun 3 BST**Jumlah_daun**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	22	7.3636		
M0S1.5	26	8.1346	8.1346	
M1S1.5	31	8.9355	8.9355	8.9355
M1S3	32		9.6406	9.6406
M2S1.5	23		9.9130	9.9130
M0S3	26			10.3077
Sig.		.101	.072	.169

Tabel 9. Tabel uji DMRT jumlah daun 4 BST**Jumlah_daun**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S3	24	7.7917	
M0S1.5	17	9.3235	
M2S1.5	19	10.0000	10.0000
M1S3	29	10.1207	10.1207
M1S1.5	31	10.2903	10.2903
M0S3	22		12.1136
Sig.		.055	.098

Tabel 10. Tabel uji DMRT jumlah daun 5 BST**Jumlah_daun**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S3	12	9.6667	
M0S1.5	14	10.1071	
M1S1.5	20	10.2250	
M1S3	15	10.2333	
M2S1.5	11	10.3182	
M0S3	22		13.0909
Sig.		.661	1.000

Tabel 11. Tabel uji DMRT jumlah daun 6 BST

Jumlah_daun

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S3	12	10.0417	
M1S1.5	20	10.2250	
M1S3	12	10.7917	
M2S1.5	11	10.9091	10.9091
M0S1.5	14	11.2857	11.2857
M0S3	20		13.7000
Sig.		.419	.052

Tabel 12 Tabel uji DMRT jumlah akar 1 BST

Jumlah_akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S1.5	25	7.6200		
M2S3	27	7.7407		
M1S1.5	31	8.4194	8.4194	
M1S3	33		9.9242	9.9242
M0S3	26			11.0577
M0S1.5	26			11.2115
Sig.		.442	.123	.214

Tabel 13. Tabel uji DMRT jumlah akar 2 BST

Jumlah_akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	27	8.5926		
M2S1.5	25	8.6400		
M1S.15	31	9.8710	9.8710	
M1S3	33		11.6212	11.6212
M0S1.5	26			12.6923
M0S3	26			12.8654
Sig.		.253	.096	.266

Tabel 14. Tabel uji DMRT jumlah akar 3 BST

Jumlah_akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	22	9.3409		
M2S1.5	23	9.7174		
M1S1.5	31	11.0806	11.0806	
M1S3	32		12.5312	12.5312
M0S1.5	26			14.1154
M0S3	26			14.3654
Sig.		.155	.208	.133

Tabel 15. Tabel uji DMRT jumlah akar 4 BST

Jumlah_akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	24	9.4792		
M2S1.5	19	10.4737	10.4737	
M1S1.5	31	11.7258	11.7258	
M1S3	29		12.9483	
M0S3	22			15.5682
M0S1.5	17			17.5294
Sig.		.080	.054	.106

Tabel 16. Tabel uji DMRT jumlah akar 5 BST

Jumlah_akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M2S3	12	10.6667		
M2S1.5	11	11.4545		
M1S1.5	20	12.2500	12.2500	
M1S3	15		14.9000	14.9000
M0S3	22			16.3409
M0S1.5	14			17.8571
Sig.		.323	.080	.064

Tabel 17. Tabel uji DMRT jumlah akar 6 BST**Jumlah_akar**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
M2S3	12	11.8750			
M1S1.5	20	12.5500	12.5500		
M2S1.5	11	12.7273	12.7273		
M1S3	12		15.4167	15.4167	
M0S3	20			16.5750	16.5750
M0S1.5	14				19.2857
Sig.		.625	.099	.478	.099

Tabel 18. Tabel uji DMRT jumlah tunas 1 BST**Jumlah_tunas**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M0S1.5	26	1.0962	
M2S1.5	25	1.1000	
M2S3	27	1.1667	
M1S1.5	31	1.2419	1.2419
M1S3	33	1.2424	1.2424
M0S3	26		1.5385
Sig.		.383	.056

Tabel 19. Tabel uji DMRT jumlah tunas 2 BST

Jumlah_tunas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M0S1.5	26	1.1538	
M2S3	27	1.2593	1.2593
M2S1.5	25	1.2600	1.2600
M1S1.5	31	1.3548	1.3548
M1S3	33	1.5606	1.5606
M0S3	26		1.6923
Sig.		.101	.080

Tabel 20. Tabel uji DMRT jumlah tunas 3 BST

Jumlah_tunas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M0S1.5	26	1.1538	
M1S1.5	31	1.3710	1.3710
M2S3	22	1.5000	1.5000
M2S1.5	23	1.5435	1.5435
M1S3	32	1.8281	1.8281
M0S3	26		1.9231
Sig.		.067	.137

Tabel 21. Tabel uji DMRT jumlah tunas 4 BST

Jumlah_daun

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M0S1.5	17	1.2059	
M1S1.5	31	1.4032	1.4032
M2S3	24	1.5000	1.5000
M2S1.5	19	1.6579	1.6579
M1S3	29	2.1207	2.1207
M0S3	22		2.2500
Sig.		.076	.101

Tabel 22. Tabel uji DMRT jumlah tunas 5 BST

Jumlah_tunas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha =
		0.05
		1
M2S1.5	11	1.2273
M0S1.5	14	1.2500
M1S.15	20	1.2500
M2S3	12	1.9167
M0S3	22	2.2500
M1S3	15	2.4000
Sig.		.117

Tabel 23. Tabel uji DMRT jumlah tunas 6 BST**Jumlah_tunas**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S1.5	11	1.1364	
M0S1.5	14	1.2500	
M1S1.5	20	1.2750	
M1S3	12	1.7500	
M2S3	12	2.0833	
M0S3	20		4.6250
Sig.		.452	1.000

Tabel 24. Uji T pengaruh perlakuan $M_0S_{1.5}$ terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M0S 1.5 - Tinggi_tanaman_sesudah_M0S 1.5	-5.33929	1.63674	.43744	-6.28431	-4.39426	-12.206	13	.000

Tabel 25. Uji T pengaruh perlakuan M_0S_3 terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M0S 3 - Tinggi_tanaman_sesudah_M0S 3	-6.52500	2.33241	.52154	-7.61660	-5.43340	-12.511	19	.000

Tabel 26. Uji T pengaruh perlakuan M₁S_{1.5} terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M1S 1.5 - Tinggi_tanaman_sesudah_M1S 1.5	-4.22500	2.34366	.52406	-5.32187	-3.12813	-8.062	19	.000

Tabel 27. Uji T pengaruh perlakuan M₁S₃ terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M1S 3 - Tinggi_tanaman_sesudah_M1S 3	-4.43750	2.59397	.74882	-6.08563	-2.78937	-5.926	11	.000

Tabel 28. Uji T pengaruh perlakuan $M_2S_{1.5}$ terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M2S 1.5 - Tinggi_tanaman_sesudah_M2S 1.5	-3.34091	1.80372	.54384	-4.55267	-2.12915	-6.143	10	.000

Tabel 29. Uji T pengaruh perlakuan M_2S_3 terhadap tinggi plantlet pisang cv. Kepok

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Tinggi_tanaman_sebelum_M2S 3 - Tinggi_tanaman_sesudah_M2S 3	-2.60000	2.04192	.64571	-4.06070	-1.13930	-4.02	9	.003

Tabel 30. Tabel uji DMRT Berat Basah

Berat_basah

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
M2S1.5	2	.7250	
M2S3	2	1.1950	1.1950
M1S3	2	1.2700	1.2700
M1S1.5	2	2.3750	2.3750
M0S1.5	2	6.4750	6.4750
M0S3	2		6.6350
Sig.		.053	.063

Tabel 31. Tabel uji DMRT Kandungan Klorofil

Total_klorofil

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
M1S.5	2	1.5792				
M0S1.5	2		3.0615			
M2S3	2			3.6630		
M1S3	2			3.8700		
M2S1.5	2				4.5526	
M0S3	2					7.0198
Sig.		1.000	1.000	.133	1.000	1.000

Tabel 32. Tabel uji DMRT Panjang-lebar daun**Panjang_lebar**

Duncan

Konsentras i	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
M1S3	10	1.6731			
M2S3	10		2.9590		
M2S1.5	10		3.3131	3.3131	
M1S1.5	10			3.3595	3.3595
M0S3	10			3.4810	3.4810
M0S1.5	10				3.7320
Sig.		1.000	.058	.394	.059



LABORATORIUM BIOLOGI

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

Gedung C Kampus B UNJ Pawamangun, Jl. Pemuda No. 10 Jakarta 13220
Telp. 021-4934339

SURAT KETERANGAN

Nomor : 02/Lab_Bio.B/KP/II/2017

Yang bertandatangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta, dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Stefani Lianata

NIM : 3425122235

Program Studi : Biologi

Telah melakukan kegiatan penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan, Laboratorium Biologi, FMIPA Universitas Negeri Jakarta dengan judul penelitian "Pengaruh Manitol dan Sukrosa Pada Media Pertumbuhan Untuk Penyimpanan Jangka Menengah Tunas Pisang cv. Kepok Secara *In vitro*" pada bulan Januari-Oktober 2016, dibimbing oleh Dr. Reni Indrayanti, M.Si dan Agung Sedayu, MSc.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Jakarta, 8 Februari 2017

Kepala Laboratorium Biologi

FMIPA Universitas Negeri Jakarta

Agung Sedayu, M.Sc

NIP. 19750911 200112 1 004

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan di bawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta :

Nama : Stefani Lianata

No. Registrasi : 3425122235

Prodi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul "Pengaruh Manitol dan Sukrosa pada Media Pertumbuhan Untuk Penyimpanan Jangka Menengah Tunas Pisang cv. Kepok Secara *In vitro*" adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian pada bulan Januari-Oktober 2016.
2. Bukan merupakan duplikat skripsi yang telah dibuat oleh orang lain atau jiplakan karya tulis orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Pernyataan yang saya buat dengan sesungguhnya dan saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul jika pernyataan saya ini tidak benar.

Jakarta, 11 Januari 2017

Yang membuat pernyataan



Stefani Lianata

RIWAYAT HIDUP



STEFANI LIANATA. Dilahirkan di Jakarta pada tanggal 14 September 1994. Anak keempat dari empat bersaudara pasangan Bapak Kadir Hutapea dengan Ibu Nella Harahap. Pernah menempuh pendidikan di TK Santa Maria, Jakarta (1999-2000), SD Strada Fx. Xaverius, Jakarta (2000-2001), SD Santa Lusia, Bekasi (2001-2006), SMP Santa Lusia, Bekasi (2006-2009), SMA Yadika 8, Bekasi (2009-2012). Pada tahun 2012 diterima di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Negeri Jakarta melalui jalur SNMPTN tertulis.

Selama masa perkuliahan, penulis mengikuti organisasi Kelompok Studi Primata *Macaca* UNJ, Lembaga Legislatif Mahasiswa Jurusan Biologi dan Kelompok Peneliti Muda UNJ. Penulis mengikuti kegiatan Cakrawala Biologi di Gunung Bunder pada tahun 2012, Studi Ilmiah Biologi pada tahun 2013, Pelatihan Penelitian dan Organisasi pada tahun 2013.

Aktivitas yang pernah diikuti antara lain mengikuti kegiatan seminar seperti Talkshow Lingkungan Hidup, UNJ (2012), Seminar Hasil 10 Tahun Penelitian Orangutan, UNAS (2013), Seminar Ekspedisi Global di TNUK, IPB (2015), Seminar Eksplorasi, UI (2015), partisipasi kegiatan Cakrawala Biologi sebagai mentor (2016), dan menjadi anggota Kelompok Studi Primata *Macaca* UNJ (KSP) angkatan XI. Penulis pernah menjadi mentor kuliah lapangan Botani

Kriptogame (2014) dan mentor Botani Fanerogame (2014). Penulis pernah menjadi asisiten laboratorium praktikum Botani Fanerogame (2015) dan Kultur Jaringan (2016).

Pada tahun 2014, penulis mengikuti kegiatan KKL (Kuliah Kerja Lapangan) dengan judul penelitian “Karakteristik dan Identifikasi Jamur Patogen Pada Tanaman Pisang di Kawasan Karst” yang dilakukan di kawasan hutan Wanagama, Yogyakarta, dan PKL (Praktek Kerja Lapangan) “Uji Pengaruh Konsentrasi BAP Dan Kinetin Pada Induksi Dan Multiplikasi Talas Jepang (*Colocasia Esculenta*) dengan Teknik *Ex vitro* di Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT pada tahun 2015.