



# Kultur Jaringan Pisang Abaka



Rina Srilestari  
Ari Wijayani  
Bambang Supriyanta

## Kultur Jaringan Pisang Abaka

Rina Srilestari  
Ari Wijayani  
Bambang Supriyanta

Copyright@2019 LPPM UPN “Veteran” Yogyakarta

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun, termasuk foto copi, tanpa ijin tertulis dari Penerbit

Kultur Jaringan Pisang Abaka

Oleh : Rina Srilestari

Ari Wijayani

Bambang Supriyanta

Editor : Indah

Cetakan 1 : Agustus 2019

ISBN 978-602-5534-51-5

PENERBIT LPPM UPN “VETERAN” YOGYAKARTA  
Jl. SWK 104 (Lingkar Utara), Condong catur , Sleman,  
Daerah Istimewa Yogyakarta 55283, INDONESIA

Telpon: (0274) 486733

Fax : (0274) 486400

Email : info @upnyk.ac.id

Website: www. upnyk.ac.id

## KATA PENGANTAR

Pisang merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan yang disukai oleh masyarakat, karena dapat dikonsumsi, baik dalam bentuk segar maupun dalam berbagai macam bentuk olahan. Usaha pengembangan dan cara budidayanya selama ini umumnya masih merupakan usaha sampingan.

Penyediaan bibit berkualitas merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam pengembangan pertanian dimasa datang. Perbanyak bibit melalui kultur jaringan merupakan salah satu teknologi harapan yang banyak dibicarakan dan terbukti memberikan keberhasilan.

Kultur jaringan merupakan suatu istilah dalam ilmu biologi yang mengacu pada perbanyak bibit tanaman dan sudah dimanfaatkan oleh usaha-usaha skala besar dan laboratorium canggih dalam memperbanyak bibit tanaman dalam rangka pelestarian.

Tanaman abaka merupakan jenis pisang yang memiliki kegunaan cukup dengan nilai produk yang cukup tinggi, seperti tali untuk kapal dan bahan kertas untuk surat berharga. Sebagai komoditas yang baru dikembangkan, sumber bahan tanam unggul yang memenuhi syarat permintaan pasar jumlahnya relatif terbatas. Padahal untuk memenuhi permintaan pasar atas produk abakasangat besar, sehingga membutuhkan area penanaman yang cukup luas.

Buku “Kultur Jaringan Pisang Abaka” ini, bertujuan untuk memperkenalkan kultur jaringan ke masyarakat sehingga kultur jaringan dapat membuka peluang usaha di masyarakat. Dalam penulisannya, buku ini masih terdapat kekurangan dan penulis menerima kritik, saran, dan perbaikan yang membangun untuk kesempurnaannya. Semoga buku ini dapat memberikan manfaat.

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
Kata pengantar	3
Daftar isi	6
Pendahuluan	7
Aplikasi bioteknologi kultur jaringan	12
Laboratorium kultur jaringan	15
Media kultur jaringan	37
Perbanyak bibit melalui kultur jaringan	55
Daftar pustaka	72

## BAB I. PENDAHULUAN

Tanaman abaca (*Musa Textilis* Nee.) termasuk dalam pisang (Musaceae) yang dikategorikan sebagai pisang jantan, karena pisang ini, tidak menghasilkan buah. Produksi utama dari budidaya tanaman pisang ini adalah berupa serat (fibre) yang terkenal dalam perdagangan internasional sebagai serat berkualitas tinggi, sebab serat pisang abaca ini tahan terhadap air garam sehingga banyak digunakan sebagai pembungkus kabel bawah laut atau tali temali pada kapal. Namun belakangan ini serat pisang abaca (untuk selanjutnya disebut sebagai serat abaca) juga banyak di gunakan untuk bahan baku pulp kertas bermutu tinggi seperti kertas uang, cek, kertas filter dan kertas pembungkus.

Pisang abaca telah lama terdapat di Indonesia, antara lain diketahui di pulau Sangir (Sulawesi Utara) yang tumbuh secara liar. Sebagaimana di Filipina (tempat asal pisang abaca), penduduk Sangir memanfaatkan serat abaca (atau kafe, menurut bahasa setempat ) untuk bahan kain tenun tradisional. Peluang pengembangan perkebunan pisang abaca pada saat ini semakin terbuka dengan semakin potensialnya pasaran internasional, terutama untuk memenuhi permintaan negara-negara maju seperti Jepang, Amerika Serikat dan negara-negara Eropa. Potensi pasar internasional tercatat sebesar 600.000 ton serat abaca per tahun. Untuk memenuhi potensial demand tersebut, Filipina adalah produsen utama dengan share sebesar 80.000 ton dan diikuti Equador sebesar 10.000 ton . Dengan demikian, permintaan pasar masih belum terpenuhi, sehingga

pengembangan pisang abaca di Indonesia masih sangat terbuka, apalagi sumber daya alamnya sangat mendukung.

Tanaman abaka (*Musa textilis* Nee.) merupakan tanaman sebangsa pisang yang termasuk dalam keluarga Musaceae. Jenis pisang ini ada yang mengatakan dari Filipina tetapi ada juga yang mengatakan dari kepulauan Sangir dan Talaud. Namanya berbeda-beda tergantung pada daerah di mana abaca ditanam. Orang Talaud menamakan sebagai Walzi, orang Sangir mengatakan Balri atau Hotel di Minahasa disebut Kofo Sangi atau Pisang Benang, Pisang Manila, dan di Jawa Barat disebut Cau Manila (Sudjindro, 1999 dalam Mariska dan Sukmadjaja, 2013).

Tanaman abaka (*Musa textilis* Nee.) merupakan tanaman sebangsa pisang yang termasuk dalam keluarga Musaceae. Jenis pisang ini ada yang mengatakan dari Filipina tetapi ada juga yang mengatakan dari kepulauan Sangir dan Talaud. Namanya berbeda-beda tergantung pada daerah di mana abaca ditanam. Orang Talaud menamakan sebagai Walzi, orang Sangir mengatakan Balri atau Hotel di Minahasa disebut Kofo Sangi atau Pisang Benang, Pisang Manila, dan di Jawa Barat disebut Cau Manila (Sudjindro, 1999 dalam Mariska dan Sukmadjaja, 2013).

Nilai ekonomi tanaman abaca terdapat pada batangnya yang mengandung serat untuk bahan baku industri tekstil dan kertas berharga. Seratnya mempunyai sifat fisik yang kuat, tahan pada kondisi lembab dan air asin sehingga baik untuk digunakan sebagai bahan baku kertas berkualitas tinggi yang tahan simpan (seperti uang,



kertas dokumen, kertas cek), kertas filter, pembungkus teh celup, bahan pakaian, pembungkus kabel dalam laut serta tali temali lainnya (Triyanto *et al.*, 1982).

Batang pisang tersebut tersusun dari lapisan pelepah yang mengandung pelepah yang mengandung serat. Tinggi batang pisang serat bisa mencapai 7 meter dengan daun berwarna hijau cenderung berbentuk lanset dan tumbuh pada iklim yang lembab dengan intensitas sinar matahari yang tinggi. Pisang abaka dipanen pada waktu kuncup bunga telah terlihat. Seratnya yang multiguna dan prospeknya yang cukup baik maka tanaman abaka banyak mendapat perhatian dari berbagai kalangan masyarakat baik swasta, BUMN, koperasi maupun petani. Namun saat ini dengan semakin disadarinya potensi tanaman abaka, maka petani dan pengusaha swasta mulai menanam dan akan mengembangkan secara luas.

Dengan akan dikembangkannya tanaman abaka dalam skala luas maka penggunaan bahan tanaman bermutu merupakan faktor awal yang sangat menentukan keberhasilan dalam proses selanjutnya. Dari berbagai varietas yang ada, terdapat tiga varietas yang baik dan telah memenuhi persyaratan di pasaran dunia, yaitu Bulanganon, Manguindanao, dan Tangongon. Dari ketiga varietas tersebut, varietas Tangongon paling banyak dikenal dan akan dikernbangkan dalam skala luas.

Menurut Demsey *dalam* Sudjindro (1999), varietas Bulanganon, Manguindanao, dan Tangongon memiliki sifat sebagai berikut:

- a. Bulanganon: batang berukuran sedang, tidak licin/tidak mengkilap, warna hitam, tumbuh cepat, serat mudah distrip, mempunyai anakan banyak, dapat tumbuh pada kondisi tanah yang bervariasi, dan agak tahan terhadap kekeringan. Kelemahan pokok varietas ini adalah hasil serat akan turun setelah 5-6 tahun karena anakan banyak serta batangnya rata-rata pendek dan kecil.
- b. Manguindanao: ada dua tipe berdasarkan warna batangnya, yaitu ungu kehitaman dan hijau gelap. Ciri khas varietas ini adalah bentuk kanopi daun seperti payung membuka, tumbuh cepat, dan dapat dipanen 15-18 bulan setelah tanam; lebih adaptif pada berbagai tipe tanah dan lebih tahan terhadap kekeringan dibandingkan dengan Bulanganon; menghasilkan serat yang superior, yaitu putih dan halus; kelemahan utama varietas ini adalah mudah roboh bila terserang angin kencang karena perakarannya dangkal dan produktivitas seratnya rendah.
- c. Tangongon: batang besar dan tinggi, kadang-kadang dapat mencapai 4,5-5,5 m dengan berat segar 40-45 kg, Warna batang ungu tua mengkilap sampai hitam, daun besar dan ada kecenderungan tumbuh lurus ke atas. Pelepah daun keras, tahan terhadap kekeringan dan serangan penyakit, serat kasar dan kuat, tumbuh baik pada tanah berat, dan produktivitas seratnya tinggi. Kelemahan varietas ini adalah anakan sedikit, perakaran dangkal, dan mudah rebah, serta sulit dilakukan penyeratan.

Varietas lain yang ditanam di pulau Visayas adalah Lakon, Alman, dan Sinomoro. Varietas yang baik, yaitu mempunyai sifat tahan penyakit, pertumbuhan anakan cepat, banyak menghasilkan anakan, dan kandungan seratnya tinggi. Beberapa persyaratan tersebut umumnya telah dimiliki oleh varietas Tangongon yang sudah dikembangkan di Indonesia. Namun demikian, karena hanya sedikit yang telah menanam abaka maka perlu dikaji secara tepat cara perbanyakan bibit untuk memenuhi kebutuhan yang sangat banyak.

## **BAB II. APLIKASI BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN**

Kultur jaringan adalah suatu metode penanaman protoplas, sel jaringan, dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Salah satu aplikasi kultur jaringan yang telah dikenal secara meluas dan telah banyak diusahakan untuk tujuan komersial adalah memperbanyak tanaman.

Perbanyak melalui kultur jaringan yang banyak diusahakan secara komersial pada saat ini terutama di negara-negara maju seperti Amerika, Jepang, dan Eropa. Beberapa kelebihan yang dapat diambil dari aplikasi kultur jaringan sebagai sarana memperbanyak bibit unggul, diantaranya:

1. Faktor memperbanyak yang sangat tinggi (terutama pada tanaman herba).
2. Dapat dihasilkan setiap waktu tergantung kebutuhan/permintaan.
3. Dapat dihasilkan bibit yang bebas penyakit, sehingga memudahkan apabila dilakukan pertukaran antar negara.
4. Bahan tanaman yang diperlukan dari pohon induk jauh lebih sedikit dibandingkan dengan memperbanyak secara konvensional.
5. Tempat yang digunakan relatif lebih kecil untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak.
6. Bibit dapat diproduksi secara besar-besaran.

Beberapa kendala teknik yang ditemukan, antara lain:

1. Adanya mutasi pada bibit yang dihasilkan sehingga tidak sama dengan pohon induknya. Mutasi dapat disebabkan metode perbanyakan, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan, penggunaan kumpulan sel somatik yang memang berbeda secara genetis pada tanaman induknya, frekuensi pemindahan biakan pada media baru, dan tipe jaringan yang digunakan.
2. Keberhasilan induksi perakaran dari tunas yang telah dibentuk secara *in vitro* sedikit.
3. Aklimatisasi sering gagal.
4. Kapasitas regenerasi turun terutama apabila sering dilakukan subkultur.
5. Sterilisasi bahan tanaman dan kontaminasi pada biakan karena lingkungan yang kurang memadai.
6. Diperlukan tenaga kerja yang intensif, terdidik serta mempunyai keterampilan khusus.

Beberapa hasil penelitian dapat memecahkan masalah tersebut satu per satu, diantaranya pada sebagian tanaman kehutanan. Indrianto (2002) menyatakan bahwa perbanyakan melalui kultur jaringan dikatakan berhasil apabila memenuhi beberapa kriteria, yaitu

1. Tidak merubah sifat genetik tanaman induk apabila dilakukan perbanyakan secara klonal.
2. Seleksi yang kuat pada bahan tanaman yang bebas penyakit.

3. Pemandahan tanaman/bibit hasil kultur jaringan ke dalam tanah tidak sukar.
4. Teknik perbanyakannya tidak terlalu rumit.
5. Kemampuan regenerasi tidak menurun.
6. Ekonomis.

Ditinjau dari segi ekonomi, perlu perencanaan yang matang mengingat modal awal yang dibutuhkan cukup besar, sehingga hal-hal yang perlu dilakukan adalah:

1. Inventarisasi secara cermat akan permintaan dalam negeri maupun ekspor atas komoditas yang ingin diperbanyak.
2. Kerja sama dengan perguruan tinggi dan lembaga penelitian yang dapat membantu meningkatkan kemampuan produksi bahan tanaman dan menemukan metode perbanyakannya yang efisien.
3. Pemilihan lokasi laboratorium yang tepat dapat pula menurunkan biaya produksi.

Pierik (1987) menyatakan bahwa dalam upaya perbanyakannya melalui kultur jaringan untuk tujuan komersial maka jumlah bibit yang dihasilkan harus dalam jumlah banyak. Produksi bibit dalam jumlah terbatas menyebabkan biaya produksi tinggi karena teknik kultur jaringan memerlukan suatu laboratorium dengan segala perlengkapannya yang membutuhkan biaya tinggi. Dengan demikian, metode perbanyakannya yang digunakan merupakan salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan baik ditinjau dari segi biaya, kestabilan genetik, dan faktor multiplikasi yang tinggi.

Metode perbanyak cepat kultur jaringan dapat dilakukan melalui:

1. Perangsangan tunas lateral untuk membentuk tunas ganda dalam jumlah yang melebihi pertumbuhan normal. Bahan tanaman yang digunakan umumnya berupa batang yang mempunyai 1 buku. Cara ini lebih mudah dan aman dalam mempertahankan sifat pohon induknya.
2. Inisiasi tunas adventif langsung dari eksplan atau melalui kalus.
3. Embrio somatik.

Cara kedua dan ketiga banyak dilaporkan menyebabkan ketidakstabilan pada turunannya karena pembentukan melalui fase kalus. Tetapi di masa mendatang, cara embrio somatik banyak mendapat perhatian para pakar karena mempunyai segi analitis dan komersialisasi yang sangat potensial (Mariska,2000)

### **BAB III. LABORATORIUM KULTUR JARINGAN**

Sebelum melakukan teknik kultur jaringan, kita memerlukan sebuah laboratorium untuk mengakomodasi semua kegiatan kultur jaringan. Laboratorium kultur jaringan dapat diadakan dengan biaya yang relatif lebih murah dengan melakukan efisiensi-efisiensi yang diperlukan.

#### **Ruangan Laboratorium**

Ruangan ini terbagi atas ruang dapur, ruang persiapan, ruang inkubasi dan ruang inokulasi (penanaman). Berikut penjabarannya.

##### **1. Ruang Dapur**

Ruang dapur ini tidak perlu steril tetapi akan lebih baik apabila debu dari luar rumah tidak terlalu bebas masuk ke dalam ruangan. Fungsi ruang dapur terutama untuk melakukan kegiatan sterilisasi alat dan bahan media dengan menggunakan *autoclave*. Dalam dapur juga diadakan tempat untuk mencuci peralatan laboratorium yang kotor setelah dipakai seperti botol-botol, peralatan gelas, dan lain-lain.

Apabila kita membangun laboratorium di rumah, fungsi ruang dapur ini dapat disatukan dengan fungsi dapur di rumah seperti biasanya. Hal terpenting adalah sabun pencuci sebaiknya dibedakan, yang mana untuk keperluan laboratorium dan untuk keperluan rumah tangga.



## **2. Ruang Persiapan**

Fungsi ruang persiapan adalah sebagai tempat penyimpanan peralatan gelas dan alat-alat laboratorium lainnya, tempat penyimpanan bahan-bahan kimia dan bahan lainnya seperti alkohol, air aquades, spirtus, dan lain-lain. Kulkas khusus untuk menyimpan larutan stok dan hormon diletakkan di ruang persiapan ini.

Pada ruang inilah kegiatan penimbangan, pengukuran, persiapan pembuatan ramuan komposisi unsur hara dan hormon, pembuatan larutan stok, pembuatan media dan pembuatan media organik, serta pengukuran pH dilakukan. Untuk itu, perlu disediakan meja yang cukup lebar agar kegiatan tersebut dapat dilakukan dengan baik.

## **3. Ruang Inkubasi**

Ruang inkubasi sebaiknya steril atau minimal bersih dari debu-debu dan diusahakan tidak ada debu yang keluar masuk. Persyaratan ruang Inkubasi yang terpenting adalah kemampuan menyediakan kondisi lingkungan yang sesuai untuk inkubasi (penyimpanan) kultur yaitu suhu kamar 28°C, akan lebih baik bila suhu berada pada angka 22°C. Sinar yang dipakai kira-kira sama dengan sinar yang diperlukan untuk persemaian yaitu 40%. Sebaiknya digunakan rak-rak dengan lampu neon 40 watt sebanyak 2 buah dengan ketinggian 40 cm dari kultur.

Sepanjang botol tertutup rapat, botol kultur tidak akan terkontaminasi, dan pada waktu akan melakukan subkultur (pemindahan kultur dari botol ke botol), permukaan luar botol perlu disterilisasi dengan baik dengan menyemprotkan alkohol.



#### 4. Ruang Inokulasi

Dalam ruangan inokulasi (penanaman), terdapat *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) atau enkast tempat melakukan sterilisasi eksplan dan penanaman eksplan ke dalam botol. Ruang ini harus steril atau diusahakan steril terutama pada waktu

menanam dengan menggunakan LAF. Hal yang terpenting adalah ruang di dalam *laminar* atau enkas harus benar-benar steril

## **B. Peralatan**

### **1. Autoklaf**

Peralatan yang paling penting di dalam kegiatan kultur jaringan adalah autoklaf. Alat ini sulit digantikan dengan peralatan yang lain. Ada kemungkinan digantikan dengan *presscooker* atau *macrowave*, tetapi memerlukan penelitian terlebih dahulu tentang teknik pemakaiannya untuk kegiatan kultur jaringan. Autoklaf merupakan sterilisasi basah karena menggunakan ruang air panas bertekanan tinggi sehingga mengurangi dampak kerusakan media dibandingkan dengan sterilisasi kering (menggunakan oven).

Lamanya sterilisasi dengan menggunakan autoklaf untuk peralatan adalah selama 45 menit, sedangkan untuk media kultur adalah 25 menit. Lamanya waktu sterilisasi dihitung setelah jarum indikator menunjukkan tekanan yang diharuskan (17,5 psi, 121<sup>0</sup>C).

Semua peralatan dan bahan yang akan digunakan dalam kegiatan kultur jaringan harus disterilisasi terlebih dahulu seperti alat-alat diseksi (pisau, pinset, gunting, dan sendok besi), botol, petridish, air steril, media kultur, dan serbet/lap.

Jenis autoklaf yang dapat digunakan bermacam-macam, mulai dari yang sederhana sampai yang *programmable*. Autoklaf yang sederhana menggunakan sumber uap dari pemanasan air yang ditambahkan ke dalam autoklaf. Pemanasan air dapat menggunakan kompor gas atau minyak tanah. Dengan autoklaf sederhana ini, tekanan dan temperatur diatur dengan jumlah panas dari api. Kelemahan autoklaf ini adalah sangat memerlukan pemantauan dan pengaturan panas selama masa sterilisasi dilakukan secara manual. Namun, autoklaf ini mempunyai keuntungan, yaitu sederhana, harga relatif murah, tidak tergantung dari aliran listrik yang sering menjadi problema untuk negara-negara yang sedang berkembang, serta proses sterilisasi lebih cepat dari autoklaf listrik yang seukuran dan setaraf.



Autoclaf Manual



Autoclaf Digital

## 2. Oven

Oven digunakan sebagai tempat penyimpanan sementara untuk diseccting set atau tempat menyimpan petridish, alat-alat diseksi, alumunium foil, kertas saring yang telah disterilisasi.



Oven

## 3. *Laminar Air Flow Cabinet*

*Laminar Air Flow Cabinet* adalah alat ternpat menanam eksplan. Eksplan adalah bagian tanaman yang akan dikultur atau ditanam dalam botol yang berisi media tumbuh. Dalam alat ini terdapat *blower* yang berhembus dari arah dalam ke luar dan telah melalui saringan steril sehingga angin yang berhembus

sudah steril. *Laminar* ini juga dilengkapi dengan lampu UV sebagai alat untuk mensterilkan permukaan bagian dalam *laminar*.

*Laminar Air Flow Cabinet* ada bermacam-macam jenis. Ada yang besar (untuk dua orang) dan ada yang kecil (untuk satu orang). Harganya juga cukup mahal, saat ini buatan lokal untuk satu orang harganya sekitar 8-12 juta tergantung kualitas. Oleh sebab itu, kita dapat menggantikan fungsi *laminar* ini dengan menggunakan enkast.



Laminar Air Flow Cabinet

#### 4. Enkast

Enkast adalah kotak tertutup yang dapat dibuat dengan menggunakan kaca atau fiber. Kotak tersebut tertutup rapat dengan lubang sebanyak dua buah untuk tempat memasukkan tangan. Bagian atas atau bagian samping dibuat pintu yang dapat dibuka-tutup untuk memasukkan peralatan, botol, dan eksplan. Enkas juga dapat dipasang lampu UV, atau bila tidak ada cukup mensterilkan permukaan bagian dalam dengan cara menyemprotkan alkohol 70% kemudian meletakkan satu butir tablet Formalin di atas petridish. Hal terpenting bahwa enkas diusahakan tertutup dan sedapat mungkin sehingga tidak ada debu yang dapat masuk ke dalam enkas tersebut (kedap udara).



Enkast

5. ***Hot Plate dan Magnetic Stirer***

*Hot plate dan magnetic stirer* adalah alat untuk memasak dan mengaduk media kultur, berupa lempengan besi yang dapat dipanaskan dan terdapat motor magnetik yang berputar. Motor magnetik ini dapat memutar lempengan besi pendek yang dimasukkan ke dalam larutan media yang sedang dibuat sehingga larutan media dapat teraduk rata dengan menggunakan lempengan besi penek yang berputar tersebut. Alat ini berperan dalam pembuatan dan pencampuran bahan media kultur. Hal terpenting dari alat ini adalah alat untuk memasak dan mengaduk sehingga alat ini dapat kita gantikan dengan kompor biasa dan larutan media diaduk secara manual.



*Hot Plate Magnetic Stirer*



## 6. pH Meter atau Indikator Kertas pH/Lakmus

pH meter adalah alat untuk mengukur tingkat keasaman pada media kultur. pH media dibuat agar berada pada kisaran 5,7-5,8. Bila media terlalu asam, untuk dapat menetralkannya kembali, kita dapat meneteskan NaOH 1 N dan bila terlalu basa, kita dapat menetralkannya dengan HCl 1N

Bila kita tidak memiliki cukup dana untuk membeli pH meter, kita dapat menggunakan kertas lakmus (kertas yang dapat menunjukkan kondisi pH media melalui warna kertas yang dicelupkan ke dalam media dan dicocokkan dengan kontrol warna yang tertera pada kemasan kertas lakmus tersebut) atau dengan kertas indikator yang menunjukkan pH dari kisaran pH 1 sampai pH 14.



Kertas Lakmus



pH digital

## 7. Gelas Piala dan Batang Pengaduk Kaca

Gelas piala digunakan untuk mencampur media kultur sebelum dimasak. Ukuran gelas piala disesuaikan dengan jumlah kebutuhan media. Bila kita ingin membuat media 1 liter gunakan gelas piala 1 liter, untuk 2 liter kita gunakan gelas piala dengan kapasitas 2 liter, sedangkan batang pengaduk (sendok) kaca digunakan untuk mengaduk media agar tercampur rata.



Dissecting set

#### **8. Timbangan Analitik**

Timbangan diperlukan untuk mengukur bahan kimia yang diperlukan dalam pembuatan media kultur. Timbangan yang baik adalah timbangan dengan/ yang memuat 3 digit di belakang koma, tetapi bila tidak, kita dapat menggunakan timbangan emas. Agar ketelitian lebih terjaga dan efisien, ada baiknya kita membuat larutan stok dengan kepekatan tertentu.



Timbangan analitik

**9. Pipet Mohr serta Labu Erlenmeyer**

Pipet Mohr dengan berbagai ukuran ada yang kapasitasnya 1 ml, 10 ml, 20 ml, sampai 50 ml, digunakan untuk memipet/mengisap larutan stok agar lebih akurat. Labu erlenmeyer digunakan untuk menyimpan larutan stok.

**10. Rak Kultur dan Lampu Neon**

Rak kultur yang telah dilengkapi dengan lampu neon adalah tempat untuk meletakkan botol kultur yang telah berisi eksplan. Rak kultur dapat terbuat dari aluminium, besi, bahkan dari

kayu. Lampu yang digunakan adalah lampu 40 watt sebanyak dua buah dengan ketinggian 40 cm atau lampu hemat energi 14-23 watt.

Hal terpenting dalam penyimpanan botol kultur ini adalah kita mampu menyediakan kondisi dengan suhu 25-28<sup>0</sup>C dengan penyinaran 30% sinar matahari. Peran AC sangat penting untuk menunjang pertumbuhan planlet.



Rak kultur

## 11. *Shaker*

*Shaker* adalah alat pengocok botol kultur berupa meja yang dapat bergoyang. Fungsi dari alat ini adalah untuk menggojok eksplan yang ditanam pada media kultur cair. Dengan komposisi media yang cocok dan pengocokan

yang tepat, akan dihasilkan butiran kalus (sekumpulan sel-sel yang tidak terorganisir) yang dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan dalam kegiatan kultur jaringan.



Shaker

## 12. *Timer*

*Timer* yang digunakan terdiri atas dua jenis berdasarkan tujuannya. Ada yang digunakan untuk mengatur waktu sampai satu jam, biasa dipakai pada saat sterilisasi dan ada juga *timer* yang digunakan di ruang inkubasi. Untuk mengatur lamanya lampu menyala dan lampu mati secara otomatis, yang biasa dikenal dengan *timer* listrik.

### 13. *Petridish*

*Petridish* adalah cawan lebar berpenutup yang terbuat dari kaca dan digunakan sebagai tempat untuk mengiris/memotong eksplan yang akan ditanam ke dalam botol kultur. *Petridish* harus disterilisasi terlebih dahulu dengan cara membungkusnya dengan kertas polos dan dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilisasi selama 45 menit. Pada saat melakukan penanaman di dalam *laminar* pun, penutup *petridish* jangan dibuka bila tidak diperlukan dan diusahakan dibuka secepat mungkin/jangan dibuka dalam waktu yang lama walaupun telah berada di dalam *laminar* atau enkast sekalipun.

### 14. Alat Diseksi dan *Bunsen*

Alat diseksi adalah peralatan yang digunakan untuk menanam eksplan ke dalam botol kultur. Untuk kegiatan menanam tersebut, diperlukan pinset (panjang, kecil, dan ujung bengkok), pisau skalpel (besar, mata pisau kecil), gunting kecil tajam (lurus, ujung bengkok), dan sendok alumunium (cekung, datar).

Semua peralatan diseksi disterilkan terlebih dahulu dengan cara membungkusnya dengan koran atau alumunium foil dan dimasukkan ke dalam autoklaf selama 45 menit. Setiap kali akan dipakai di dalam *laminar air*

*flow* alat-alat tersebut harus disterilkan kembali dengan cara membakarnya di atas api *bunsen*.

## 15. Botol Kultur

Botol kultur adalah botol yang tahan terhadap tekanan dan suhu tinggi pada saat disterilkan di dalam autoklaf. Botol kultur yang khusus untuk kultur jaringan harganya cukup mahal yaitu sekitar Rp.1.000- Rp.1.500 per botol. Bila kita memerlukan 1.000 berarti kita harus mengeluarkan 1 -1,5 juta. Akan tetapi, bila kita dapat menggunakan botol bekas seperti botol bekas selai, sambal, atau bekas saus tomat, harga akan dapat lebih ditekan.

Syarat yang perlu diperhatikan dalam memilih botol bekas untuk kultur jaringan adalah diusahakan mulut botol kecil, tahan terhadap tekanan dan suhu tinggi, serta bening. Ukuran botol dapat disesuaikan dengan kebutuhan kultur jaringan. Bila memerlukan penyimpanan dalam waktu yang cukup lama, dapat digunakan botol yang besar, tetapi untuk percobaan sterilisasi dapat digunakan botol kecil atau bila diperlukan kita dapat menggunakan tabung reaksi.





Botol Kultur

### C. Bahan-bahan Kultur

#### 1. Bahan-bahan yang Diperlukan untuk Pembuatan Media Kultur

Contohnya seperti unsur hara, baik makro maupun mikro, hormon, vitamin, senyawa organik kompleks seperti air kelapa hijau, pisang raja, tomat, kecambah, gula, dan agar.



Bahan-bahan Kimia

## 2. Bahan-bahan untuk Sterilisasi

Contohnya alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub>, Clorox, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan formalin.

## 3. Air Akuades

Air akuades diperlukan sebagai cairan untuk melarutkan media kultur. Kita dapat membeli akuades di apotik atau toko bahan kimia .

### **Air Steril**

Air steril adalah air mineral atau air akudes yang dimasukkan ke dalam botol kultur dan disterilkan dalam autoklaf selama 1 jam. Air steril ini digunakan untuk membas eksplan pada saat proses sterilisasi eksplan di dalam laminar/enkas. Hal ini dimaksudkan agar tidak terdapat sisa-sisa bahan steril yang masih menempel pada eksplan karena dapat menghambat pertumbuhan eksplan.

## 4. Alumunium Foil

Alumunium *foil* digunakan untuk menutup botol kultur, alternatif lain yang lebih murah adalah dengan menggunakan plastik yang tahan panas dan diikat dengan karet kualitas satu/terbaik. Penggantian aluminium dengan plastik tidak memberikan pengaruh pada pertumbuhan kultur bahkan memberikan pengaruh yang positif karena botol kultur bagian atas menjadi lebih tembus pandang sehingga sinar dapat masuk ke dalam botol kultur dengan lebih baik

sehingga pertumbuhan akan lebih optimal. Namun, ada pula kelemahannya, yaitu karet yang dipakai untuk mengikat leher botol tidak dapat bertahan lebih dari 2 bulan sehingga ada baiknya jumlah karet ditambah dengan karet baru setelah berumur 1 bulan. Bila tidak, karet akan menjadi kendur dan plastik tidak tertutup dengan baik. Akibatnya mikroorganismenya seperti cendawan dan bakteri dapat masuk ke dalam botol sehingga kultur akan terkontaminasi.



Alumunium Foil dan wrapping

## 5. Karet

Karet yang digunakan adalah karet dengan kualitas nomor satu. Apabila disterilkan dalam autoklaf, karet ini tidak mudah putus dan tetap elastis walaupun sudah diautoklaf. Fungsi utama dari karet adalah untuk mengikat tutup botol yang menggunakan plastik. Karet ini setelah 1-2 bulan harus dikontrol karena akan menjadi kendur, sehingga perlu ditambahkan lagi untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

## **6. Plastik Gulung**

Plastik gulung ini digunakan sebagai pengganti tutup botol, terutama untuk botol yang permukaannya kecil. Plastik gulung yang digunakan juga harus tahan saat disterilkan di dalam autoklaf.

## BAB IV. MEDIA KULTUR JARINGAN

Ilmu tentang media kultur jaringan amat penting karena merupakan jalan pembuka untuk suksesnya pelaksanaan kultur jaringan. Tidak sedikit tanaman yang sudah terbebas dari kontaminasi, pertumbuhannya menjadi lambat, stagnan, tidak ada perubahan, serta tanaman berada pada posisi hidup dan mati. Ada yang tetap berupa kalus tanpa bisa menjadi embrio, tidak terjadi proses multiplikasi. Semua hal tadi merupakan permasalahan yang timbul dan berawal dari komposisi media kulturanya.

Berbagai jenis media kultur jaringan telah dikembangkan sejak dimulainya kultur jaringan. Komponen utama penyusun media kultur adalah unsur hara makro dan mikro ditambah dengan gula sebagai pengganti unsur karbon yang didapat dari hasil proses fotosintesis. Perkembangan selanjutnya adalah penambahan vitamin, asam amino, dan bahan-bahan organik yang ternyata memberikan hasil lebih baik dibandingkan komposisi yang hanya terdiri dari unsur hara makro dan mikro. Penambahan ZPT (zat pengatur tumbuh) semakin melengkapi berbagai proses kultur jaringan seperti organogenesis atau embryogenesis. Bahkan teknik-teknik untuk pemuliaan tanaman seperti poliploid dan fusi protoplas mutlak memerlukan ZPT.

Salah satu jenis media kultur jaringan adalah MS (Murashige & Skoog). MS ini adalah media kultur jaringan yang banyak digunakan untuk mengkulturkan berbagai jenis tanaman. Media MS ini merupakan media yang mempunyai unsur hara makro dan mikro yang lebih

lengkap dibandingkan dengan penemu-penemu sebelumnya. Setelah penemuan media MS ini ada beberapa media yang digunakan untuk tujuan tertentu. Contohnya adalah Lin & Stala untuk kultur jaringan wortel dengan menggunakan setengah komposisi unsur makro MS. Media Nitsch & Nitsch (1969) ditujukan untuk kultur anther, media Gamborg (1968) untuk kultur suspensi kedelai, serta media SH (Schenk & Hildebrandt) untuk kultur kalus monokotil dan dikotil (banyak digunakan untuk tanaman legume). Media WPM banyak digunakan untuk tanaman berkayu atau tanaman hias perdu atau pohon yang berkayu serta media DCR untuk tanaman Tusam (Pinus).

Berikut ini tabel komposisi unsur hara makro dan mikro pada berbagai jenis media dasar kultur jaringan.

**Tabel 1. Komposisi unsur hara makro**

Bahan Kimia	Heller (1953)	Nitsch & Nitsch (1956)	White (1963)	Hildebrandt, Riker & Diggar (1946)	Murashige & Skoog (1962)	Gauthier et (1942)
KCl	750	1500	65	65	-	-
NaNO <sub>3</sub>	600	-	-	-	-	-
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	250	250	720	180	370	125
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	125	250	16.5	33	-	-
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	75	-	-	-	440	-
KNO <sub>3</sub>	-	2000	80	80	1900	125
CaCl <sub>2</sub>	-	25	-	-	-	-
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	200	800	-	-
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-	-	-	-	1650	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	-	-	170	125
MgSO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-
Ca(NO <sub>3</sub> ).4H <sub>2</sub> O	-	-	300	400	-	400

**Tabel 2. Komposisi unsur hara mikro**

Bahan Kimia	Heller (1953)	Nitsch & Nitsch (1956)	White (1963)	Hildebrandt, Riker & Diggar (1946)	Murashige & Skoog (1962)	Gautheret (1942)
NiSO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	0.05
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	27.8	0.05
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.01	3	7	4.5	22.3	3
KI	0.01	-	-	-	-	-
NaCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.03	-	-	-	-	-
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	0.025	-
Ti(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	0.2
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.0	0.5	3	0.6	8.6	0.18
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.03	0.025	-	-	0.025	0.05
BeSO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	0.1
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.0	0.5	1.5	0.38	6.2	0.05
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1.0	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	1.0
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	-	0.025	-	-	0.025	-
AlCl <sub>3</sub>	0.3	-	-	-	-	-
Fe(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	-	-	2.5	-	-	-
Ferri tartrat	-	-	-	40.0	-	-



## **A. Komponen Penyusun Media Kultur Jaringan**

Berikut komponen-komponen penyusun media kultur jaringan.

### **1. Unsur Hara Makro**

Setiap tanaman sedikitnya membutuhkan 16 unsur untuk dapat tumbuh secara normal. Unsur yang dibutuhkan dalam jumlah besar disebut unsur makro, sedangkan unsur yang sedikit dibutuhkan disebut unsur mikro. Unsur yang termasuk unsur makro yaitu nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), Calcium (Ca), dan magnesium (Mg). Unsur NPK mutlak diperlukan, sedangkan unsur S, Ca, dan Mg boleh ada atau tidak. Namun, karena fungsinya sangat mendukung pertumbuhan jaringan, akan lebih baik apabila unsur-unsur tersebut tersedia dalam media kultur.

Perbedaan sumber bahan anorganik yang digunakan akan menyebabkan perbedaan jumlah unsur yang dibutuhkan. Sebagai contoh, untuk sumber N bila diambil dalam bentuk nitrat kisarannya 25-40 mM, tetapi bila dalam bentuk amonium sekitar 2-20 mM. Berikut ini peranan unsur-unsur makro pada tanaman.

**Tabel 3. Peranan unsur hara makro**

No	Unsur	Peranan
1	N	Penyusun/komponen protein, basa organik, dan vitamin
2	P	Aktifator senyawa organik
3	K	Berperan dalam aktivitas enzim, sebagai pembawa energi. K bukan unsur penyusun tanaman
4	S	Penyusun senyawa penting seperti ester asam amino, enzim, vitamin B1, penisilin, senyawa organik $\text{CaSO}_4$ , dan sebagai ion
5	Ca	Sebagai penyusun senyawa kitin, pektin, dan Ca-oksalat
6	Mg	Aktifator beberapa enzim, terutama dalam proses fosforilasi dan sintesis protein, penyusunan senyawa klorofil, dan Mg-Oksalat

## 2. Unsur Hara Mikro

Unsur hara mikro merupakan unsur hara yang diperlukan dalam jumlah sedikit (ukuran mikromolar), yang termasuk unsur hara mikro yaitu Fe, Mn, Zn, B, Cu, dan Mo. Unsur Co dan I ada yang digunakan di beberapa media dasar kultur jaringan.

**Tabel 4. Peranan unsur hara mikro**

No	Unsur	Peranan
1	Fe	Merupakan bagian dari gugus protetik beberapa enzim seperti peroksidase, Katalase, penyusunan klorofil, dan protein
2	Mn	Aktifator enzim, pembentuk klorofil, aktif dalam metabolisme protein, fotosintesis, dan pembentuk vitamin C
3	Zn	Aktifator enzim dan penyusun klorofil pemacu pembentukan ZPT
4	Cu	Bagian dari enzim, berperan dalam proses fotosintesis dan reduksi nitrit
5	Cl	Sebagai ion dan berpengaruh terhadap aktivitas enzim
6	B	Berperan dalam proses diferensiasi dan penyusunan dinding sel, mengatur transportasi karbohidrat dan penyerapan ion ke dalam sel, serta sebagai aktifator an inaktifator zat tumbuh
7	Mo	Bagian dari enzim reduktase, ikut serta dalam metabolisme P, dan sintesa asam askorbat

### **3. Gula**

Sumber karbon yang standar adalah sukrosa dan glukosa. Sumber yang paling banyak digunakan untuk kultur jaringan adalah sukrosa. Akan tetapi bila sulit dicari kita bisa menggunakan gula putih yang biasa kita pakai sehari-hari. Gula putih ini juga memenuhi syarat untuk pertumbuhan kultur.

Konsentrasi sukrosa yang digunakan untuk kultur juga bervariasi tergantung keperluannya. Menurut Gunawan (1987), untuk kultur kalus dan pucuk konsentrasinya 2%-4%, sedangkan untuk kultur embrio bisa sampai 12%. Penggunaan sukrosa di atas 3% menyebabkan terjadinya penebalan dinding sel. Pertumbuhan ditentukan juga berdasarkan cara sterilisasinya. Penggunaan autoklaf untuk sterilisasi dapat memberikan pengaruh baik atau buruk terhadap pertumbuhan tergantung gula yang digunakan dalam medium tersebut.

### **4. Vitamin**

Vitamin-vitamin yang sering digunakan dalam media kultur jaringan antara lain thiamin (vitamin B<sub>1</sub>), piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>), dan asam nikotinat (vitamin B<sub>12</sub>). Vitamin-vitamin ini umumnya terdapat di dalam tanaman. Vitamin lain yang sering ditambahkan dalam medium kultur jaringan yaitu niasin, glisin, myo-inositol, asam folat, sianokobalamin, riboflavin, biotin, kolin klorida, kalsium pantetonat, dan piridoksin pospat. Myo-inositol sering ditambahkan karena membantu

proses pembelahan sel. Berikut ini peranan vitamin-vitamin yang digunakan dalam kultur jaringan.

**Tabel 5. Peranan vitamin**

No	Vitamin	Peranan
1	Thiamin (B1)	Mempercepat pembelahan sel, berperan sebagai koenzim dalam reaksi yang menghasilkan energi dan karbohidrat, serta memindahkan energi
2	Piridoksin (86)	Berperan dalam pemindahan asam-asam amino dalam sel
3	Asam Nikotinat (B12)	Asam nikotinat penting dalam reaksi-reaksi enzimatik, di samping berperan sebagai prekursor dari beberapa alkaloid
4	C	Pemberian vit C bertujuan untuk mencegah terjadinya pencokelatan pada permukaan irisan jaringan
5	E (tokoferol)	Pemberian pada media kultur jaringan konsentrasi 0,95 mM merangsang pembentukan kalus dan juga antioksidan

## **5. Asam Amino**

Asam-asam amino merupakan sumber N organik yang lebih cepat diambil daripada N anorganik dalam media yang sama. Asam amino berperan penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi kalus. Kebutuhan asam amino untuk setiap tanaman berbeda-beda.

## **6. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)**

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat merubah proses

fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auksin, gibberelin, sitokinin, etilen, dan inhibitor dengan ciri khas serta pengaruh yang berlainan terhadap fisiologis.

Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan akan terhambat. Bahkan mungkin tidak tumbuh. Pertumbuhan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut.

## **7. Persenyawaan Organik Kompleks**

Persenyawaan organik kompleks adalah bahan organik yang komposisinya berbeda dari sumber satu dengan sumber lainnya. Contohnya komposisi kandungan bahan organik pada air kelapa dari tiap kelapa berbeda dan hasilnya juga berbeda.

Beberapa contoh bahan organik kompleks alamiah, diantaranya kelapa, ekstrak ragi, jus tomat, ekstrak kentang, dan sebagainya. Bahan yang terkandung dalam air kelapa antara lain asam amino, asam-asam organik, asam nukleat, purin, gula, gula alkohol, vitamin, mineral, dan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh dalam air kelapa adalah 9-b ribofuranosyl zeatin, zeatin, dan n-n'-diphenyl urea.

*Casein hidrolisat* merupakan sumber asam amino yang ditambahkan untuk memperbaiki pertumbuhan dan morfogenesis, terutama media yang tidak mengandung ion amonium. Campuran *casein hidrolisat* dan ekstrak ragi dapat memperbaiki pertumbuhan kalus pada kultur jagung .

## 8. Bahan Pekat

Bahan pekat yang sering digunakan adalah agar. Keuntungan pemakaian agar yaitu agar membeku pada temperatur 45°C dan mencair pada temperatur 100°C, sehingga dalam kisaran temperatur agar akan berada dalam keadaan beku yang stabil, tidak dicerna enzim tanaman, dan tidak bereaksi dengan persenyawaan-persenyawaan penyusun media. Agar adalah campuran polisakarida yang dibuat dari beberapa spesies algae. Kandungan agar sedikit mengandung unsur Ca, Mg, K, dan Na. Untuk penelitian-penelitian biasanya digunakan agar yang lebih murni.

Kekerasan media meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi agar serta dipengaruhi oleh jenis agar yang dipakai, pH media, dan penambahan arang aktif. Kandungan arang aktif 0,8% sampai 1% menghambat pembekuan agar. Konsentrasi agar yang tinggi menyebabkan proses pengambilan unsur hara berkurang.

*Gelrite* adalah polisakarida yang bisa digunakan sebagai bahan pekat. *Gelrite* ini dihasilkan dari golongan bakteri *Pseudomonas* sp. Gelnya lebih bening dari agar dan jumlah yang dibutuhkan lebih sedikit dibanding dengan jumlah agar untuk membentuk kekerasan agar yang sama.

## 9. Arang Aktif

Arang aktif adalah arang yang sudah dipanaskan selama beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara panas. Bahan ini mempunyai daya absorpsi yang sangat kuat. Pengaruh penambahan arang aktif pada



media dapat mengabsorpsi persenyawaan-persenyawaan toksik yang dapat menghambat pertumbuhan kultur, terutama persenyawaan fenolik dari jaringan yang terluka pada saat inisiasi. Selain itu dapat mengabsorpsi zat pengatur tumbuh sehingga mencegah pertumbuhan kalus yang tidak diinginkan dan merangsang perakaran dengan mengurangi tingkat cahaya sampai ke bagian eksplan yang terdapat dalam media. Arang aktif yang ditambahkan diusahakan merata dalam media, dengan cara dikocok terlebih dahulu setelah disterilisasi dalam autoklaf sebelum memadat.

#### **10. Buffer atau pH Media**

pH harus diatur sedemikian rupa sehingga tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH dari sitoplasma. Sel-sel tanaman membutuhkan pH yang sedikit asam, berkisar 5,6-5,8.

Pengaturan pH biasanya dilakukan dengan menggunakan NaOH/ KOH atau HCl pada waktu semua komponen telah dicampur, beberapa saat sebelum disterilkan dalam autoklaf. Penambahan asam amino sering kali sebagai *buffer* organik.

#### **B. Pembuatan Media Kultur**

Untuk kebutuhan tanaman tertentu, kita bisa meramu media yang pas dengan cara mengubah konsentrasi dari masing-masing unsur penyusunnya. Untuk penggunaan media dalam jumlah banyak, lebih murah membeli masing-masing komponen unsur medianya. Dengan

menggunakan larutan stok bahan untuk keperluan 50 atau 100 liter akan lebih mudah dibanding setiap kali membuat media harus menimbang lagi masing-masing bahan, selain menghabiskan waktu juga tidak praktis.

Hal hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan larutan stok adalah sebagai berikut.

- Pembuatan larutan stok pengelompokkannya berdasarkan unsur hara stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin, dan stok hormon. Daya simpan untuk stok hormon 2-4 minggu, stok hara 4-8 minggu, tetapi bila disimpan di kulkas dapat lebih tahan lama. Rencanakan jumlah media yang dibuat supaya tidak tersimpan cukup lama.
- Bila larutan dalam larutan stok terjadi pengendapan sebaiknya tidak digunakan kembali. Gunakan larutan stok dengan tingkat konsentrasi yang lebih rendah.
- Bila larutan sudah ditumbuhi mikroorganisme jangan digunakan kembali, terutama untuk vitamin yang sering terkontaminasi. Penggunaan pipet atau alat untuk mengambil larutan harus benar-benar bersih dan tutup larutan stok harus rapat.
- Unsur hara makro dibuat stok tunggal karena jumlahnya cukup besar dan sumber bahan anorganiknya ada yang berada dalam bentuk kation serta ada juga dalam bentuk anion. Sering kali apabila dicampur akan terjadi pengendapan.

- Perhatikan juga senyawa/unsur-unsur tertentu ada yang tidak tahan terhadap suhu tinggi atau cahaya. Contohnya, stok Fe harus terlindung dari cahaya bisa dalam wadah yang gelap atau tempatnya dibungkus koran atau aluminium *foil* yang tidak tembus cahaya. Larutan stok hormon dan vitamin disimpan di kulkas.

## Prosedur Pembuatan Media MS

Prosedur kali ini kita harus memiliki semua bahan kimia yang dibutuhkan lalu dibuat stok dalam beberapa larutan.

**Tabel 6. Pembuatan dan komposisi larutan stok MS**

Larutan	Nama Bahan Kimia	Konsentrasi (g/l)	Konsentrasi penggunaan (ml/l)
Larutan A	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	82,5	20
Larutan B	$\text{KNO}_3$	95,0	20
Larutan C	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	34,0	5
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	1,24	
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4$	0,05	
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,005	
	KI	0,66	
Larutan D	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	88,0	5
Larutan E	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	74,0	5
	$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4,4	
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,72	
	$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,005	
Larutan F	Na EDTA	7,45	5
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5,57	
Vitamin	Thiamin HCl	0,02	5
	Asam Nicotinat	0,1	
	Piridoksin HCl	0,1	
Myo-Inositol		10	10

Setelah kita membuat semua larutan stok, berikut prosedur lengkap pembuatan media racikan.

- Siapkan gelas piala atau wadah cangkir plastik kapasitas 1 liter, lalu isi air sebanyak 500 ml.
- Ambil cairan dengan menggunakan pipet dari larutan stok A dan B, masing-masing sebanyak 20 ml, masukkan ke dalam wadah.
- Ambil cairan dengan menggunakan pipet dari larutan stok C, D, E, F, dan Vitamin, masing-masing sebanyak 5 ml, masukkan ke dalam wadah.
- Ambil cairan dengan menggunakan pipet dari larutan stok Myo Inositol sebanyak 10 ml, masukkan ke dalam wadah.
- Timbang gula pasir 30 g/l.
- Timbang agar 8 g/l.
- Masukkan gula dan agar ke dalam wadah satu per satu, diaduk hingga rata. Kemudian tambahkan air hingga mencapai 1 liter.
- Ukur pH media, bila asam tambahkan NaOH, bila pH media basa tambahkan HCl, sehingga pH media berada pada kisaran 5,7-5,8.
- Masak hingga mendidih.
- Tuangkan media secara merata ke dalam botol-botol kultur.
- Botol-botol yang sudah terisi media ditutup dengan menggunakan alumunium foil / plastik lalu diikat dengan karet.

## **BAB V. PERBANYAKAN BIBIT PISANG MELALUI KULTUR JARINGAN**

Perbanyak tanaman pisang dengan sistem kultur jaringan (*tissue culture*) merupakan langkah maju dalam rekayasa bioteknologi pembibitan tanaman pisang dewasa ini. Dengan teknik kultur jaringan akan diperoleh bibit-bibit pisang yang lebih unggul daripada bibit yang diperoleh dari bonggol pisang (*bit*) ataupun anakan (*sucker*).

Keuntungan-keuntungan yang dapat diperoleh dari hasil pembibitan dengan sistem kultur jaringan adalah:

- Bibit tanaman bebas dan infeksi penyakit yang berasal dari anakan atau bonggol, seperti virus dan nematoda sehingga secara ekonomi lebih menguntungkan.
- Tanaman dapat tumbuh lebih tegar dan persentase hidup tinggi, yakni 95%.
- Dapat diperoleh bibit dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang bersamaan dan relatif singkat.
- Pertumbuhan bibit lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan bibit anakan atau bonggol.
- Umur tanaman berbunga dan berbuah lebih cepat, yaitu 9 bulan sehingga waktu panen dapat dipersingkat 3-4 bulan dibandingkan dengan menggunakan cara lain.
- Dapat diperoleh bibit tanaman yang sesuai dengan sifat-sifat induknya, sehingga dapat diperoleh tanaman yang seragam.

- Waktu panen dapat bersamaan, sehingga memudahkan pemasaran.
- Kualitas dan kuantitas buah pisang yang dihasilkan lebih tinggi bila dibandingkan dengan cara konvensional.

Perbanyakan *in vitro* atau sering disebut dengan pembiakan mikro (*micropropagation*) adalah penerapan teknik kultur jaringan untuk memperbanyak tanaman. Oleh karena itu, semua karakteristik kultur jaringan tanaman, yaitu aseptik, pengulturan dalam tabung transparan (*in vitro*), dengan suplai unsur hara dan energi dan dalam kondisi terkontrol harus terpenuhi (Yusnita, 2003). Tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* dapat diregenerasikan menjadi tunas atau embrio melalui beberapa pola regenerasi, perbanyakan atau percabangan tunas aksilar (*axillary branching*) organogenesis atau embriogenesis, jika kondisinya sesuai. Untuk lebih menjamin kesamaan sifat bibit dengan tanaman induk, pola regenerasi yang sering digunakan untuk produksi bibit pisang adalah percabangan tunas aksilar menggunakan eksplan dari mata tunas dari bonggol.

Tanaman abaka dapat diperbanyak melalui anakan, bonggol atau biji (benih). Perbanyakan melalui anakan, dari setiap rumpun hanya menghasilkan 15-25 propagul dalam 20-24 bulan sedangkan perbanyakan bibit melalui biji umumnya menghasilkan seras yang mutunya di bawah mutu seras tanaman induknya.

Perbanyakkan melalui bonggol (vegetatif), selain tingkat multiplikasinya rendah, biasanya menghadapi beberapa masalah. Untuk program pengembangan tanaman secara luas atau di daerah pengembangan baru, bahan vegetatif tersebut mudah rusak dalam pengangkutan, tidak tahan lama dan memerlukan ruang yang besar sehingga biaya pengangkutan tinggi. Di samping itu, bibit asal bonggol berpotensi sebagai sumber penyakit yang sulit dikendalikan, terutama bakteri dan virus.

Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah penyediaan bibit sehat, banyak, dan cepat adalah menggunakan bibit asal kultur jaringan. Bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak, seragam, bebas penyakit, dan biaya pengangkutan relatif murah. Bibit merupakan salah satu input yang menentukan dalam usaha produksi tanaman. Di negara maju, produksi bibit merupakan suatu usaha agribisnis yang potensial. Dengan kemajuan teknologi, produksi bibit melalui kultur jaringan menjanjikan peluang baru dalam agribisnis di Indonesia. Perbanyakkan kultur jaringan abaka dapat menghasilkan multiplikasi yang cukup tinggi, yaitu 1 : 10 dalam setiap 3 bulan atau sekitar 1.000.000 planlet dalam waktu 20 bulan (Mariska *et al.*, 1992). Dengan demikian, faktor perbanyakkan melalui kultur jaringan jauh lebih tinggi daripada cara konvensional.

Perbanyakkan melalui kultur jaringan khususnya pada tanaman abaka telah dilakukan oleh berbagai laboratorium kultur jaringan tetapi tingkat produktivitasnya di lapang belum diketahui. Hobir *et al.*, (1990) telah meneliti pertumbuhan dan produksi serat



tanaman abaka varietas Tangongon asal kultur jaringan dibandingkan dengan bibit asal konvensional (bonggol) (Mariska, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah anakan asal bibit kultur jaringan nyata lebih banyak daripada asal bibit konvensional, namun tinggi tanaman dan jumlah daun tidak berbeda antara kedua bahan tanaman tersebut. Tanaman asal kultur jaringan lebih lambat berbunga daripada tanaman asal bibit konvensional. Komponen produksi serat yang diukur, yaitu jumlah pelepah, panjang serat, dan rendemen serat tiap batang, ternyata tidak berbeda antara asal bibit kultur jaringan dengan bibit konvensional, sedangkan produksi serat tiap rumpun tanaman asal bibit kultur jaringan lebih tinggi daripada tanaman asal bibit konvensional. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa bibit asal kultur jaringan dapat digunakan untuk pertanaman produksi.

Dalam kondisi yang sesuai (kondisi aseptik dengan suplai hara dan energi yang cukup), keberadaan sitokinin dan auksin dalam rasio tertentu akan merangsang pembelahan sel dan mengarahkan differensiasinya. Dalam sistem kultur jaringan tanaman, berbagai bukti empiris dari pengulturan berbagai tanaman menunjukkan bahwa pembentukan tunas dan akar dari eksplan dikontrol oleh nisbah relatif kandungan sitokinin dan auksin di dalam sistem tersebut, sebagaimana dikemukakan oleh Skoog & Miller (1957) pada kultur empulur tembakau. Secara umum, nisbah antara sitokinin dengan auksin yang tinggi dalam media kultur akan mengarah pada terbentuknya tunas dan terhambatnya

pembentukan akar, sedangkan kondisi sebaliknya (yaitu nisbah antara sitokinin dan auksin yang rendah) akan mendorong terbentuknya akar, tetapi menghambat pembentukan tunas.

Salah satu pola regenerasi yang menjamin sifat tanaman regenerasi yang sama dengan tanaman asalnya adalah melalui perbanyakan tunas aksilar oleh karena itu, cara ini banyak digunakan untuk perbanyakan *in vitro* berbagai tanaman (Hartmann *et al.*, 2011). Proses produksi bibit pisang yang *true-to-type* melalui perbanyakan tunas aksilar lazimnya dilakukan dengan menanam eksplan di media kultur aseptik, memperbanyak tunas-tunas aksilar *in vitro*, lalu jika jumlah tunas sudah mencukupi tunas-tunas tersebut dapat diakarkan dan diaklimatisasi ke lingkungan eksternal. Para pakar kultur jaringan membagi proses pembiakan tanaman pisang *in vitro* menjadi beberapa tahap yang berurutan, yaitu Tahap 0: pemilihan dan pemeliharaan tanaman induk sumber eksplan; Tahap 1: kultur awal yang hidup dan aseptik; Tahap 2: perbanyakan propagul (tunas atau embrio somatik); Tahap 3: Pemanjangan tunas atau pengecambahan embrio somatik dan Tahap 4: aklimatisasi planlet.

### **Tahap 0: Pemilihan tanaman induk**

Tahapan penting yang harus dilakukan sebelum dimulainya kegiatan di laboratorium adalah pemilihan dan pemeliharaan tanaman induk yang akan diperbanyak. Tahap ini disebut dengan Tahap 0, karena memang kegiatan yang berkenaan dengan proses perbanyakan tanaman belum dimulai. Tahap 0 ini

penting karena semua sifat bibit yang akan dihasilkan dari kultur jaringan nanti diharapkan akan sama persis dengan tanaman induknya. Beberapa kriteria seleksi untuk tanaman induk sumber eksplan yang perlu diperhatikan adalah ketepatan genotipe (klon, varietas atau jenis tertentu), kesehatan (vigor) dan umur tanaman induk. Jadi jika misalnya kita hendak memproduksi dalam jumlah besar suatu jenis pisang, 'Abaka' maka eksplan harus betul-betul diambil dari bahan tanaman pisang 'Abaka'.

Tanaman induk sumber eksplan harus dalam kondisi sehat dan tidak menunjukkan gejala serangan patogen. Agar terpelihara dengan baik dan sehat, idealnya tanaman induk harus dipelihara di dalam rumah kaca. Tanaman induk yang terinfeksi patogen dalam bentuk bakteri atau cendawan, jika dikulturkan akan menyebabkan kontaminasi.

Di samping genotipe dan kesehatan tanaman induk, faktor umur tanaman perlu diperhatikan. Jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan hendaknya yang dalam fase pertumbuhan vegetatif aktif atau secara fisiologis masih muda.



Anakan pisang untuk bahan tanam

Jaringan dalam masa pertumbuhan aktif umumnya lebih responsif terhadap zat pengatur tumbuh dibandingkan dengan jaringan tanaman yang sudah tua. Di samping umur fisiologis, umur ontogenetik atau fase perkembangan tanaman induk sumber eksplan juga penting untuk diperhatikan. Eksplan sebaiknya diambil dari bonggol atau anakan yang belum berbunga tetapi tidak terlalu muda, misalnya sudah berumur 4-6 bulan sejak muncul anakan.

### **Tahap I: Inisiasi Kultur**

Langkah-langkah pelaksanaan pembibitan dengan metode kultur jaringan adalah sebagai berikut:

1. Ambil dan pilih anakan pisang yang masih muda yang pertumbuhannya subur dan sehat dari induk pisang yang subur dan sehat.
2. Buang pelepah-pelepah daunnya dengan pisau yang

- terlebih dahulu disterilkan dengan alkohol 95%.
3. Buang bagian-bagian lain yang tidak berguna seperti pelepah daun bagian luar dan bagian dalam sehingga didapatkan jaringan meristem berukuran sekitar 1 - 2 cm.
  4. Kemudian masukkan jaringan meristem ke dalam botol pembiakan yang telah berisi medium MS.
  5. Botol pembiakan disimpan dalam ruangan atau tempat khusus yang bertemperatur 20° - 22°C selama 30 - 37 hari. Dari hasil pembiakan ini akan diperoleh 20 - 30 tunas baru yang merupakan generasi pertama.
  6. Pisahkan rumpun tunas-tunas tersebut menjadi satu individu (satu tunas).
  7. Selanjutnya tunas-tunas individu yang telah dipisahkan ditanam lagi ke dalam botol yang telah berisi medium MS yang baru. Hasil dari penanaman ini setiap tunas akan menghasilkan tunas baru sekitar 5-6 tunas yang merupakan generasi kedua.
  8. Pisahkan lagi rumpun tunas tersebut menjadi tunas-tunas individu, selanjutnya ditanam lagi ke dalam botol pembiakan berisi medium MS yang baru. Setiap botolnya dapat ditanami 5 - 6 tunas.
  9. Langkah berikutnya memindahkan tunas-tunas tersebut ke media perakaran kemudian botol disimpan ke dalam ruangan bertemperatur 22°C selama 21 - 30 hari.

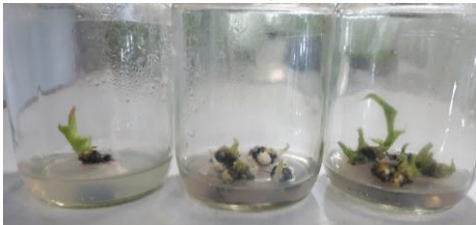


Inisiasi mata tunas pisang

## **Tahap II: Multiplikasi tunas**

Tahap berikutnya adalah tahap multiplikasi tunas. Pada tahap ini eksplan dirangsang untuk melakukan multiplikasi atau memperbanyak tunas. Caranya adalah dengan pencacahan pada bagian titik tumbuh eksplan dan pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dalam media kultur. Pencacahan pada bagian titik tumbuh eksplan bertujuan untuk menghindari terjadinya pertumbuhan pucuk apikal yang mendominasi (dominansi apikal). Penambahan sitokinin dalam media, yang bertujuan untuk mengurangi dominansi apikal sekaligus merangsang tumbuhnya tunas-tunas aksilar pada eksplan. Jadi pada tahap multiplikasi ini setiap eksplan dirangsang untuk dapat memperbanyak diri menjadi beberapa tunas, lalu pada periode pengulturan berikutnya, setiap tunas dapat digunakan sebagai eksplan baru. Begitu seterusnya sehingga terjadi pelipatgandaan tunas secara deret ukur. Sebagai contoh, misalkan pada periode pertama pengulturan selama 1 bulan, dari satu mata tunas tumbuh menjadi dua tunas,

dari dua tunas menjadi 4 tunas pada bulan berikutnya, dari 4 tunas menjadi 8 tunas pada bulan berikutnya, dan dari 8 tunas menjadi 16 tunas pada bulan berikutnya. Itu jika setiap periode pengulturan dari satu eksplan hanya menjadi 2 tunas. Jika dari satu eksplan menjadi tiga tunas, maka kelipatan perbanyakannya setiap satu bulan berlipat 3 (yaitu: 1, 3, 9, 27, 81 tunas dst). Jadi, kecepatan perbanyak tunas pada tahap multiplikasi inilah yang menentukan banyaknya tunas yang merupakan calon bibit pisang yang diproduksi (Ismariati,2009 dalam Yusnita, 2015)



Multiplikasi tunas pisang

Pola regenerasi yang sering digunakan untuk perbanyak tunas pisang adalah percabangan tunas lateral atau *axillary branching*. Dalam *axillary branching*, suatu eksplan yang terdiri dari mata tunas dan rizhoma (bagian bonggol) di bawahnya dirangsang untuk menumbuhkan tunas-tunas lateralnya. Pada periode pengulturan awal, biasanya tunas yang tumbuh dari eksplan adalah tunas apikal dan hanya terdapat satu tunas saja yang mendominasi pertumbuhan. Pada saat subkultur, tunas ini dipotong bagian batang semuanya

hingga ke dekat bagian bonggol, lalu bagian pucuk tempat titik tumbuh berada dibelah-belah atau dicacah dicacah tetapi bonggolnya tetap menyatu. Hal ini dimaksudkan agar titik tumbuh terkena cacahan, sehingga mata tunas lateral aktif dan dengan bantuan sitokinin yang berfungsi memecahkan dormansi mata tunas lateral, mata tunas lateral akan tumbuh membesar . Kultur pada tahap multiplikasi akan menghasilkan tunas-tunas pisang dalam jumlah lebih banyak yang sebagian sudah berakar dan sebagian lainnya belum berakar.

### **Tahap III: Pemanjangan dan Pengakaran Tunas.**

Setelah jumlah tunas dalam botol-botol sudah dianggap mencukupi kebutuhan akan jumlah bibit, tahap selanjutnya adalah memindahkan tunas secara individu ke botol kultur baru yang berisi media untuk pemanjangan dan pengakaran. Tanaman pisang termasuk tanaman yang mudah berakar tunas mikro pisang yang ditumbuhkan di media tanpa zat pengatur tumbuh umumnya berakar jika sudah mencapai ketinggian 2-3 cm. Bahkan tunas-tunas yang tumbuh pada media proliferasi tunas yang mengandung sitokinin pun dapat berakar jika sudah mencapai tinggi lebih dari 4 cm. Namun pemberian ZPT perangsang akar (NAA, IAA, IBA) di dalam media pengakaran *in vitro* umumnya dapat memacu terbentuknya lebih banyak akar, sehingga planlet lebih mudah diaklimatisasi.





Inisiasi perakaran

#### **Tahap IV: Aklimatisasi Planlet.**

Tahap terakhir dari rangkaian proses perbanyak *in vitro* pisang adalah aklimatisasi planlet. Persentase yang tinggi dari planlet yang diaklimatisasi tidak kalah pentingnya dibandingkan keberhasilan tahapan perbanyak *in vitro* pada tahap-tahap sebelumnya. Planlet adalah tanaman kecil atau dalam hal ini adalah tunas-tunas yang sudah berakar.

Aklmatisasi adalah upaya untuk melatih atau mengadaptasikan tanaman kecil yang sebelumnya terbiasa tumbuh dengan kondisi kelembaban nisbi tinggi dengan suplai nutrisi dan energi berkecukupan di dalam botol-botol (*in vitro*) ke keadaan yang autotrofik yaitu dapat berfotosintesis secara mandiri di luar botol (*ex vitro*). Tanaman yang terbiasa hidup dalam botol-botol dengan kelembaban nisbi tinggi (90- 100%) umumnya mempunyai daun yang tidak normal, yaitu tanpa atau sedikit kutikula dan pembukaan-penutupan stomatanya tidak normal sehingga planlet mudah sekali layu dipindahkan ke media tanah dan dalam kondisi rumah kaca yang kelembaban nisbinya relatif rendah. Oleh

karena itu, aklimatisasi merupakan tahapan yang kritis dalam rangkaian pembiakan tanaman dengan kultur jaringan.

Aklimatisasi planlet dilakukan dengan menanam planlet di media pengakaran, lalu mengatur kondisi lingkungan mikro agar kelembaban awalnya tinggi (>90%) dan diturunkan secara bertahap, sedangkan intensitas cahaya mula-mula rendah, lalu ditingkatkan secara bertahap. Media pengakaran untuk aklimatisasi adalah sebagaimana yang disyaratkan untuk pengakaran pada setek (Hartmann *et al.*, 2011), yaitu sebaiknya mempunyai karakteristik :1) dapat memegang planlet; 2) mempunyai daya pegang air yang tinggi, sehingga dapat mempertahankan kelembaban; 3) mempunyai tata udara yang baik di dasar planlet, serta 4) menciptakan kondisi gelap yang baik untuk pertumbuhan akar. Di samping itu, bahan campuran media hendaknya yang ketersediaannya di daerah tersebut terjamin, misalnya campuran tanah-kompos-arang sekam atau pasir-komposarang sekam dengan perbandingan tertentu.



Media campuran pasir dan kompos enceng gondok.

Cara aklimatisasi planlet yang sering dilakukan pada skala besar adalah menanam planlet di bak-bak atau polibag berisi media tumbuh yang diletakkan dalam bedengan bersungkup plastik atau naungan paranet. Pada skala penelitian, jika planlet yang diaklimatisasi jumlahnya tidak terlalu banyak, maka penyungkupan planlet pada awal aklimatisasi dapat dilakukan secara individu, dengan menyungkup setiap planlet pada setiap pot dengan plastik transparan



Penyungkupan planlet dengan plastik transparan

Setelah beberapa hari sungkup plastik dibuka secara bertahap, lalu dipindahkan ke bedengan tanpa sungkup plastik tetapi masih bernaungan hingga pada akhirnya bibit-bibit pisang tersebut dapat bertahan dan tumbuh dengan baik pada kondisi dengan sinar matahari penuh dan dapat ditanam di lapangan.



Bibit pisang setelah dikeluarkan dari sungkup plastik tetapi masih diletakkan di tempat bernaungan.

Bibit pisang yang sudah berukuran cukup besar (40-50 cm) dan setidaknya sudah diletakkan di tempat dengan cahaya matahari penuh selama 2 minggu atau 3-3,5 bulan sejak dikeluarkan dari kondisi *in vitro* dapat ditanam di lapangan. Bibit pisang yang diaklimatisasi dengan baik berbatang kokoh dengan daun hijau sehat



Bibit pisang siap tanam

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., A. Sharma, A.K. Singh, V.K. Wali dan P. Kumari. 2014. *In vitro* multiplication of Banana (*Musa* sp.) cv. Grand Naine. *African J. Biotech.* 13 (27): 2696-2703.
- Anonim. 2010. Perbanyak Bibit Pisang Abaka (*Musa textillis* Nee.) BBPP Lembang
- Anonim. 2003. Perbanyak Pisang Abaka melalui Kultur Jaringan. Balitbio dan Sumber Genetik Pertanian.
- BB-Biogen Bogor. 2008. Wisata di Kebun Plasma Nutfah Kodya Yogyakarta: Tempat Mengenal aneka Ragam Pisang. ([www.biogen.litbang.pertanian.go.id/index.php/2008/03/wisata-di-kebun-plasma-nutfah-kodya-vogvakarta-tempat-mengenalaneke-ragam-pisang.html](http://www.biogen.litbang.pertanian.go.id/index.php/2008/03/wisata-di-kebun-plasma-nutfah-kodya-vogvakarta-tempat-mengenalaneke-ragam-pisang.html)). (diakses 18 Januari 2015)
- Beyl, CA. 2000. Getting started with tissue culture- media preparation, sterile technique, and laboratory equipment. In: *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises* (Chapter3). 2nd Edition. Trigiano, RN and DJ Gray (Eds). CRC Press LLC. Boca Raton, Florida. p: 21-38 of 454p.

- Cronauer, S.S. dan A.D. Krikorian. 1984. Aseptic culture techniques for banana and plantain Improvement. *Econ.Bot.*38(3): 322331
- De Langhe, L. Vrydaghs. P. de Maret, X. Perrier, T Denham. 2009. Why Banana Matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobot. Res. App.* 7: 165-177.
- Dempsey, E.M. 1963. Long vegetable fibre development *in vitro* South Vietnam and other Asian countries 1957-1962. Usom-Saigon. p. 179.
- Drew, R.A., M.K. Smith. 1990. Field evaluation of tissue culture bananas in south-eastern Queensland. *Australian J Exp. Agric.*30:569-574.
- Gamborg OL, R.A. Miller and K. Ojima.1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell. Res.* 50: 151-158.
- George, E.F. and Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Eastern Press, Reading Berks. 709 p.
- George EF. 2008. Plant tissue culture procedure- Background. In: *Plant Propagation By Tissue Culture*. 3rd edition. Volume 1, The Background. George EF, MA Hall and G-J de Klerk (Eds). Springer. Dordrecht, The Netherland. 501p.

- Hapsoro, D. , M. I. Alisan & Yusnita. 2010. Effect of benzyladenine on *in vitro* shoot multiplication of banana (*Musa paradisiaca* Linn) cv. Ambon Kuning and Tanduk. Proceeding of International Seminar on Horticulture to Support Food Security 2010. Bandar Lampung, Indonesia. 22- 23 June 2010 (A-88).
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, Jr. dan R.L. Geneve. 2011, *Plant Propagation, Principes and Practices*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Hwang S.C., C.L. Chen, J.C. Lin, H.L. Lin. 1984. Cultivation of bananas using plantlets from meristem cultures, *HortSci*.19:281-233.
- Israeli, Y., Reuveni, N.Nameri. 1988. Genetic variability and performance of in vitro propagated banana plants.In: Guzman, J.A. (eds). *Proceedings of the 40<sup>th</sup> Meeting of the International Group on Horticultureal Physiology of Banana. Asociati on Bananera Nascional de Costa Rica (ASBANA)*. Costa Rica. August 1986. ASBANA. San Jose. Costa Rica: pp.97- 104.
- Lee, S.W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. *Acta Hort*. 692:67-74.

- Lloyd, G. dan B. M Cow .1980. Commercially feasible micropropagation of mountain Kalmia latifolia, by use of shoot tip culture. *Intl.Plant Prop.Soc.Proc.*30:421-427.
- Maps of Worlds. 2014. Top Ten Banana Producing Countries.\_([www.mapsofworld.com/world-top-ten/banana-producing-countries.html](http://www.mapsofworld.com/world-top-ten/banana-producing-countries.html))\_ (diakses 18 Januari 2015).
- Mariska, I., dan D. Sukmadjaja. 2003. Perbanyakkan Bibit Abaka melalui kultur jaringan. Balai Penelitian Bioteknologi Sumberdaya Genetis Pertanian.
- Mariska, I. 2000. Perbanyakkan dan Budi daya tanaman abaka. Diktat Budi Daya dan Tataniaga Pisang Jantan Abaka. Kantor KBN Koordinator Jabar. Bandung, 27-28 Mei 2000.
- Mariska, I., Hobir, dan D. Sukmadjaja. 1992. Pengadaan bahan tanaman melalui bioteknologi kultur jaringan. Prosiding Temu Usaha Pengembangan Hasil Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Jakarta, 2-3 Desember 1992. him. 121-135.
- Mok,M.C., D.W.S. Mok, J.E. Turner, dan C.J. Mujer.1987. Biological and biochemical effects of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture systems. *HortSci.* 22:1194-97.



- Murashige T. dan F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Nugroho, A. dan H. Sugito. 2001. Pedoman Pelaksanaan Kultur Jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta. 69 Hal
- Ortiz, R. dan D.R. Vuylsteke. 1994. Genetics of apical dominance in plantain (*Musa* spp., AAB group) and improvement of suckering behaviour. *Jamer.Soc.Hort. Sci.* 119:1050-1053.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plant. Martinus Nijhoff Publishers. Pordrecht. 344 p.
- Robinson, JC, V Galan-Sauco. 2010. *Bananas and Plantains*. 2<sup>nd</sup> Edition. CAB International. Wallingford, Oxfordshire OX10 8DE, U.K. 311p.
- Robinson, J.C, C. Fraser, K. Eckstein.1993. A field comparison of conventional suckers with tissue culture banana planting material over three crop cycles. *JHort.Sci.* 68.511-521.
- Saha-Roy O., P. Bantawa, S.K. Gosh, J.A. Texeira da Silva, P. DebGhosh and T.K. Mondal. 2010. Micropropagation and field performance of 'Malbhog' (*Musa paradisiaca*, AAB group) A popular banana ??? of North East India. *Tree and Forestry Sci.Biotech.* 4 (Special Issue 1):52-

- Sandra, E.2012. Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga. IPB Press. Bogor . 110 hal
- Schenk, R.V. dan A.C. Hildebrant. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous plant cell cultures. *Can.IBot.50:199-204.*
- Silayoi, B, N. Chomchalow.1987. Cytotaxonomic and morphological studies of Thai banana cultivars. In: Persley, G.J. dan E.A De Langhe (Eds) Banana and Plantain Breeding Strategies. Proceedings of International Workshop, Cairns, Australia. October 1986. *Aciar Proceeding no. 21. Australian Center for International Agriculture Research (ACIAR), Canberra.* Pp.157-160.
- Simmonds, N.W. dan K. Shepherd.1955. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *J.Linnaean Soc.London Bot.55: 305312.*
- Sipen, P. dan M.R. Davey. 2012. Effects of N6-benzylaminopurine and indoleacetic acid on in vitro shoot multiplication, nodule-. like meristem proliferation and plant regeneration of Malaysian bananas. *Trop. Life Sci. Res.* 23(2):67-80

- Stover, R.H. dan N.W. Simmonds.1987. *Bananas*, 3<sup>rd</sup> edn. Longman. London. 468pp.
- Skoog, F & C.O.Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culred *in vitro*. *Symp. Soc.Exp. Biol.* 11: 118-131.
- Sastrosupadi, A. 1999. Informasi budi daya abaka untuk menunjang pengembangan agrobisnis abaka. Seminar dan Lokakarya Nasional Peluang dan Potensi Serat Abaka sebagai komoditi Ekspor Prospektif dan Pemberdayaan Ekonomi Rakyat. KADIN. Jakarta, 15 September 1999.
- Sudjindro. 1999. Pemanfaatan plasma nutfah dalam usaha pengembangan tanaman abaka untuk mendukung industri strategis. Seminar dan Lokakarya Nasional Peluang dan Potensi Serat Abaka sebagai Komoditi Ekspor Prospektif dan Pemberdayaan Ekonomi Rakyat. KADIN. Jakarta, 15 September 1999.
- Suratman. 1982. Bercocok tanam abaka (*Musa textillis* Nee). Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Circular No. 35.
- Taji, A, P.P.Kumar dan P. Lakshmanan. 2002. *In Vitro Plant Breeding* Food Product Press. New York, London, Oxford. 167pp;

- Triyanto, H.S., Muliah, dan M. Edi. 1982. Batang abaka (*Musa textilis* Nee.) sebagai bahan baku kertas. Berita Selulosa. Hlm 18-21
- Watimena, G.A. 1988. Biotek yang menunjang pertanian dan industri yang tangguh dan berkelanjutan. Seminar Pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian dan Industri yang Tangguh dan Berkelanjutan. IPB. Bogor, 21-22 September 1988
- Yusnita, K. Mantja, dan D. Hapsoro. 1996. Pengaruh benziladenin, adenin, dan asam indolasetat terhadap perbanyakan tunas pisang ambon kuning secara *in vitro*. *J. Agrotropikal* (1):29-32
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisi en*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hal.
- Yusnita dan D. Hapsoro. 2013. Eksplorasi, Karakterisasi, Seleksi dan Perbanyakan Klonal *In Vitro* untuk Mendapatkan Genotipe Unggul Pisang Komersial Lampung. Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Lampung.
- Yusnita, O.C.P. Pradana dan D. Hapsoro. 2014. Pembiakan *In Vitro* Tanaman Pisang (*Musa spp*)

cv. Ambon Knifing: Optimasi Multiplikasi Tunas dengan Benziladenin dan Kinetin serta Aklimatsasi Planlet. Poster, disampaikan pada Seminar Nasional dan Rapat Tahunan (SEMIRATA) Dekan Fakultas Pertanian BKS Barat, Bandar Lampung, 19-20 Agustus, 2014.

Yusnita, E. Danial, and D. Hapsoro. 2015. *In vitro* shoot regeneration of Indonesian banana (*Musa* spp.) cv. Ambon Kuning and Raja Bulu, plantlet acclimatization and field performance, *Agrivita J.Agric.Sci.* (in press)

Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Penerbit : CV.Anugerah Utama Raharja. Jakarta. 104 hal.



### **Rina Srilestari**

Dosen di Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta sejak 1994. Penulis mengajarkan Kultur Jaringan Tumbuhan, Fisiologi Tumbuhan dan Tanaman Hortikultura. Penulis mendapatkan hibah dari Kemenristekdikti (Universitas Strategi dan Strategi Nasional). Penulis aktif sebagai peneliti dalam "Budaya Jaringan Tumbuhan". Penulis aktif dalam asosiasi profesional adalah anggota dari Perhimpunan Agronomi Indonesia (PERAGI) Komda DIY.

### **Ari Wijayani**



Dosen di Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta sejak 1989. Penelitian ekstensif penulis berkaitan dengan tanaman hias. Penulis banyak mendapat hibah, antara lain dari BPPT-Riset dan Teknologi; Kemenristekdikti (dana penelitian kompetitif, Universitas Strategis Nasional dan Unggulan); dan MOF LPDP-RISPRO. Penulis 14 tanaman buku terlaris nasional diterbitkan, termasuk "Budidaya Krisan" dan "Kultur Jaringan Tumbuhan". Penulis aktif dalam asosiasi profesional, sebagai sekretaris jenderal Asosiasi Agronomi Indonesia (fermentor) Komda DIY, anggota Asosiasi Anggrek Indonesia (PAI), Ketua Pusat Studi Tanaman Hias di UPN Yogyakarta serta Ketua Sentra HKI "WIMAYARISTEK" UPN Yogyakarta.

### **Bambang Supriyanta**



Dosen di Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta sejak tahun 1996. Penulis sebagai pemulia tanaman yang telah menyelesaikan program sarjana, pascasarjana, dan doktoral di fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penulis aktif sebagai peneliti di bidang pemuliaan tanaman padi baik secara konvensional maupun pemuliaan berdasarkan penanda molekuler. Penulis aktif dalam asosiasi profesional, sebagai Ketua Asosiasi Pembibitan Tanaman Indonesia Komda DIY-Jateng