

Konservasi *In Vitro* Pisang Kepok Unti Sayang (*Musa balbisiana*) Melalui Pertumbuhan Minimal pada Berbagai Media

Conservation of Banana cv. Kepok Unti Sayang (*Musa balbisiana*) Through Minimum Growth On Various Media In Vitro Formula

Ogie Satriadi, Darda Efendi* dan Sulassih

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia
Telp.&Faks. 62-251-8629353 e-mail agronipb@indo.net.id
*Penulis untuk korespondensi : dardaefendi@yahoo.co.id

Disetujui 16 Januari 2017 / *Published Online* 24 Januari 2017

ABSTRACT

Banana kepok Unti Sayang carbohydrate compound 30% that potentially as staple food. This cultivar resistant from blood disease bacterium because there is no male bud so the bacteria cannot infect. Vegetative multiplication on field which limited number has potentially causing erroption drift. In vitro conservation can be a solution to protect vegetative multiplication on field from their environment. Method more effective and efficient. The experiment aim is optimal medium consentration to keep the kepok Unti Sayang plant with minimum growth use retardan paclobutrazol and osmoregulator manitol and also to evaluate regenerating ability after minimum growth period. The experiment use randomize complete block design with three replicate a factor of medium composition consist of two medium. MS + PVP (Polivinylypyrrolidone) + paclobutrazol (0, 2, 4 and 6 ppm), manitol (0, 20 and 40 ppm) during 18 weeks in minimum growth medium. After 18 weeks, the plant subculture in regeneration medium MS + 2 ppm BA (Benzyl Adenin) until 4 weeks. MS+ PVP + paclobutrazol 6 ppm is the best consentration medium to minimize plant growth. The consentration showed the lowest growth of shoot are 0.33, height are 0.39 cm, root are 0.22 and number of leafs are 0.00. Compared with the highest growth, control obtain 1.11 in shoot, height are 1.73 cm, average number of leafs are 0.44, and root are 1.11 (paclobutrazol 2 ppm). MS + Paclobutrazol 6 ppm is the best treatment to minimize growth plant until 18 weeks.

Keywords: manitol, midterm, paclobutrazol

ABSTRAK

Pisang kepok Unti Sayang memiliki kandungan karbohidrat 30% sehingga berpotensi sebagai bahan pangan alternatif. Pisang kepok Unti Sayang juga merupakan tanaman yang lebih tahan terhadap serangan penyakit layu darah. Ketersediaan bibit dari anakan pisang di lapang yang terbatas jumlahnya berpotensi menyebabkan punahnya pisang jenis ini. Konservasi secara in vitro merupakan solusi dalam memelihara ketersediaan bibit yang lebih aman, lebih efektif dan efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi media yang optimal dalam upaya penyimpanan eksplan pisang kepok Unti Sayang dengan cara meminimumkan pertumbuhan menggunakan retardan paclobutrazol dan osmoregulator manitol serta mengevaluasi daya regenerasi pasca penyimpanan. Penelitian ini menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak satu faktor berupa komposisi media yang terdiri dari dua macam media, yang pertama adalah MS+ PVP (Polivinylypyrrolidone) + paclobutrazol (0, 2, 4 dan 6 ppm), serta MS+ PVP + manitol (0, 20 dan 40 ppm). Eksplan disimpan selama 18 minggu pengamatan pada media pertumbuhan minimal, selanjutnya eksplan disubkultur dalam media regenerasi MS + 2 ppm BA dan diamati selama 4 minggu. Konsentrasi media terbaik untuk meminimumkan pertumbuhan eksplan adalah MS+ PVP ditambah paclobutrazol 6 ppm memberikan nilai rata-rata pertumbuhan yang paling rendah dengan jumlah tunas sebanyak 0.33, tinggi eksplan 0.39 cm, jumlah akar 0.22 dan jumlah daun 0.00. Jika dibandingkan dengan pertumbuhan tertinggi yang terdapat pada tunas 1.11 (kontrol), tinggi 1.73 cm (kontrol), jumlah akar 1.11 (paclobutrazol 2 ppm) dan jumlah daun 0.44 (kontrol). Jadi konservasi in vitro pada perlakuan 6 ppm adalah perlakuan yang paling optimal dalam meminimumkan pertumbuhan eksplan hingga 18 minggu.

Kata kunci: jangka menengah, manitol, paclobutrazol

PENDAHULUAN

Pisang merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai penopang ketahanan pangan. Buah pisang memiliki nilai gizi berupa vitamin (provitamin A, B dan C) serta mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi dan kalsium yang penting untuk tubuh (Abdillah 2010). Kultivar pisang yang banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai pisang meja (*banana*) dan pisang olahan (*plantain*) (Ekaputri 2013). Pisang yang dikonsumsi saat ini merupakan keturunan yang berasal dari dua tetua yaitu *Musa acuminata* yang bergenom A dan *Musa balbisiana* yang bergenom B. Genom B memberikan kontribusi terhadap komposisi genom pisang olahan yaitu menentukan kadar pati di dalamnya (Simmond 1966). Pisang kepok adalah salah satu pisang yang memiliki genom ABB (Kasutjaningati 2004). Pisang kepok merupakan pisang *plantain* (Simmond 1966) yang memiliki kandungan pati yang tinggi yaitu 17% (Emaga *et al* 2007) sehingga pisang kepok dapat dijadikan sebagai alternatif untuk meningkatkan ketahanan pangan berbasis sumber daya lokal.

Budidaya pisang kepok masih memiliki kendala, terutama serangan penyakit. Salah satu penyakit yang banyak ditemui di antaranya penyakit layu darah atau biasa disebut dengan BDB (*blood disease bacterium*). Selanjutnya serangga menginfeksi pada kumpulan bunga jantan (*male bud*) melalui celah ketika bunga rontok dan infeksi tersebut menyebar ke semua bagian tanaman yang sehat (Buddenhagen 2009).

Pada tahun 1992 telah ditemukan pisang kepok mutan yang tidak berjantung (*budless mutan*) dengan nama asli Loka Nipah di Sulawesi Selatan. Selanjutnya tim Pusat Kajian Hortikultura Tropika mengembangkan penemuan tersebut mulai pada tahun 2008. Pisang kepok yang kemudian diberi nama pisang kepok Unti Sayang ini terpilih sebagai varietas unggul yang berpotensi dikomersialkan karena memiliki banyak keunggulan seperti berikut: berbuah tanpa jantung, bunga jantung habis setelah pembentukan buah sehingga dapat terhindar dari penyakit layu darah, produksi tinggi (40 kg per tandan) dan buah memiliki kandungan karbohidrat 30% sehingga berpotensi pula sebagai salah satu bahan pangan alternatif (Suhartanto *et al* 2009).

Konservasi secara *in vitro* merupakan salah satu upaya pelestarian pisang kepok Unti Sayang yang memiliki berbagai keunggulan karena: (1) mudah disimpan, (2) menghemat pemakaian lahan, (3) menghemat tenaga kerja, (4) menghemat waktu, (5) biakan dapat segera diperbanyak apabila diperlukan, (6) mudah dalam

pertukaran plasma nutfah dan (7) terbebas dari serangan hama dan penyakit (Ningsih 2008). Secara umum konservasi plasma nutfah dapat diklasifikasikan menjadi tiga macam, yaitu penyimpanan jangka pendek (dalam keadaan tumbuh atau kultur jaringan normal); penyimpanan jangka menengah (dengan pertumbuhan minimal atau lambat) dan penyimpanan jangka panjang dengan pembekuan atau kriopreservasi (Lestari 2008).

Penyimpanan *in vitro* dapat dilakukan dengan cara menurunkan temperatur, menambahkan gula osmotik seperti manitol atau sorbitol dan menambahkan zat penghambat tumbuh seperti asam absisat (ABA), *paclobutrazol*, *ancymidol*, dan *cycocel* (Lestari *et al* 2001). Penelitian yang dilakukan Aridha *et al* (2009) menunjukkan bahwa penyimpanan planlet pisang Buai dengan penambahan *paclobutrazol* pada media tanam dengan konsentrasi 2 ppm efektif mengurangi jumlah daun *planlet* selama masa penyimpanan 16 minggu. Konsentrasi optimal penggunaan manitol adalah 2-4%, konsentrasi lebih dari 4% dapat menyebabkan kematian pada kultur tanaman pisang (Bhat dan Chandel 1993). Percobaan berbagai komposisi media tanam *paclobutrazol* dan manitol untuk meminimumkan pertumbuhan dalam upaya konservasi jangka menengah dapat dijadikan sebagai langkah awal penyimpanan plasma nutfah pisang kepok Unti Sayang. Selanjutnya eksplan melalui multiplikasi menggunakan media MS + 2 ppm BA (*Benzyl Adenin*) (Semaryani 2012) diperlukan untuk mengetahui kemampuan regenerasi eksplan pasca periode simpan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2015 sampai dengan Oktober 2015 di laboratorium kultur jaringan Pusat Kajian Hortikultura Tropika, Institut Pertanian Bogor, Baranangsiang dengan suhu ruangan berkisar antara 18^o sampai 31^o Celcius serta kelembaban berkisar 50% dengan fotoperiodesitas 10 jam terang per hari dengan intensitas cahaya 800-1000 lux.

Penelitian dilaksanakan menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLK) satu faktor dengan satu macam percobaan yaitu pemberian perlakuan retardan *paclobutrazol* empat taraf yaitu 0 ppm (K), 2 ppm (P1), 4 ppm (P2), dan 6 ppm (P3) dan perlakuan gula osmotik manitol tiga taraf yaitu 0 ppm (K), 20 ppm (M1) dan 40 ppm (M2) dengan satu perlakuan kontrol yang sama. Masing-masing perlakuan terdapat tiga kali ulangan dan setiap ulangan terdapat tiga

botol sehingga total terdapat 18 satuan percobaan dengan masing-masing satu eksplan per botol. Setiap media memiliki komposisi dasar MS (Murashige dan Skoog) dengan penambahan PVP (*Polivinylpyrrolidone*) 1 ppm.

Bahan yang digunakan berupa anakan pisang Kepok Unti Sayang berasal dari koleksi kebun percobaan PKHT di Pasir Kuda dan Tajur. Media kultur padat MS yang mengandung hara makro dan mikro, zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenin*), manitol, *paclobutrazol*, glukosa, bahan pematat berupa agar, PVP (*Polivinylpyrrolidone*). Bahan lainnya adalah NaOH dan HCl derajat keasaman larutan media, aquades, spiritus, alkohol 70% dan 95%, H₂O₂, *clorox*, *agrept*, *benlate*, *detergen*, pisau *scalpel*, karet, plastik. Peralatan yang digunakan timbangan analitik (*Ohaus*), pH meter (*Hanna Instrument*), kamera *smartphone* Xiaomi, autoklaf (*All American*), oven (*Memert*), pinset, botol dan laminar *air flow cabinet*, petridish dan bunsen.

Media pertumbuhan adalah MS dengan komposisi hara makro (NH₄NO₃, KNO₃, MgSO₄·7H₂O, KH₂PO₄), larutan hara mikro (KI, H₃BO₃, MnSO₄·4H₂O, ZnSO₄·7H₂O, Na₂MoO₄·2H₂O, CuSO₄·5H₂O, dan CoCl₂·6H₂O), vitamin (asam nikotinat, piridoksin, tiamin HCl, mio-inositol, CaCl₂·2H₂O, FeSO₄·7H₂O, dan Na₂EDTA·2H₂O) dengan penambahan PVP 1 ppm serta zat penghambat tumbuh *paclobutrazol* dan gula alkohol manitol digunakan sesuai masing-masing taraf. Sukrosa dimasukan ke dalam larutan media dan diatur pH media hingga mencapai 5.8 dengan penambahan NaOH atau HCl, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Media yang telah mendidih dituang ke dalam botol kaca dengan volume 25 ml per botol.

Pada proses sterilisasi, alat tanam, botol kultur, dan cawan petri dibersihkan dan dicuci dengan *detergen*, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17.5 Psi. Aquades disterilisasi selama 30 menit sedangkan media selama 20 menit.

Bahan tanam dikupas sampai berukuran 10 cm di bawah air mengalir lalu direndam di dalam larutan *detergen* dengan konsentrasi 5 gr L⁻¹ selama satu jam. Bahan tanam dikupas kembali bagian pelepahnya sampai menjadi ukuran 3 cm lalu direndam kembali di dalam larutan *detergen* dengan konsentrasi 3 gr L⁻¹ selama 1 jam dan dibilas di bawah air mengalir. Tahap selanjutnya dilakukan perendaman bahan tanaman di dalam larutan *agrept* dan *benlate* masing-masing konsentrasi 2 gr L⁻¹ *dishaker* selama 12 jam. Tahap sterilisasi dilakukan di dalam laminar *air flow cabinet*. Bonggol direndam dalam larutan *clorox* sebanyak dua kali yaitu pada larutan *clorox*

dengan konsentrasi 20% selama 20 menit, kemudian dibilas air steril, dan dilanjutkan dengan perendaman kedua yaitu di dalam larutan *clorox* 10 % selama 10 menit. Bonggol dibilas kembali kemudian dimasukkan ke dalam larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 10 % selama 5 menit. Setiap tahap perendaman dilakukan pengupasan pelepah bonggol sampai berukuran 1.5- 2 cm dan ditanam di dalam media perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap minggu.

Pengamatan dilakukan selama 22 minggu. Pengamatan pada parameter pertumbuhan minimal dilakukan seminggu sekali dimulai sejak satu minggu setelah inisiasi (MSI) hingga ke-18 (MSI). Peubah yang diamati antara lain: tinggi tunas (cm) dengan cara mengukur tinggi tanaman diukur dari permukaan media sampai ke titik tumbuh, jumlah akar dihitung adalah akar yang tumbuh langsung dari tanaman yang dikulturkan, jumlah tunas dengan cara menghitung ada tidaknya tunas (cabang), jumlah daun dari setiap penambahan jumlah daun yang diamati.

Regenerasi berlangsung selama satu bulan. Peubah yang diamati antara lain: tinggi tunas (cm) dengan cara mengukur tinggi tanaman diukur dari permukaan media sampai ke titik tumbuh, jumlah akar dihitung adalah akar yang tumbuh langsung dari tanaman yang dikulturkan. jumlah tunas dengan cara menghitung ada tidaknya tunas (cabang) pada tanaman tersebut diamati, jumlah daun dari setiap penambahan pertumbuhan yang diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyimpanan Secara In Vitro

Kondisi eksplan mengalami pertumbuhan yang lambat, hal ini diduga merupakan respon eksplan terhadap perlakuan yang diberikan *paclobutrazol* sebagai zat penghambat tumbuh dan manitol yang merupakan inhibitor osmotik. Hampir semua eksplan terdapat penimbunan senyawa fenolik pada media di sekeliling eksplan dengan ciri warna hitam pekat. Fenol merupakan respon tanaman terhadap serangan patogen yang berfungsi sebagai fungisida dan bakterisida serta pertahanan pada lingkungan yang buruk dan pada kondisi tanaman tertekan (Wattimena 1987).

Syarat-syarat penyimpanan *in vitro* adalah terpeliharanya stabilitas genetik dari eksplan yang ditanam, kondisi eksplan bebas dari penyakit, bebas kemungkinan untuk rusak atau mati serta tidak kehilangan potensi regenerasi (Dewi 2002). Penyimpanan dengan pertumbuhan minimal diharapkan kondisi eksplan menjadi kerdil, jumlah tunas sedikit, botol tidak cepat penuh dan unsur

hara pada media tidak cepat habis sehingga kultur dapat disimpan lebih lama (Ningsih 2008). Pertumbuhan minimal perlu dilakukan karena subkultur berulang dan penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi mengakibatkan variasi somaklonal (Lestari 2005).

Jumlah tunas. Berdasarkan analisis ragam, faktor tunggal *paclobutrazol* dan manitol dalam berbagai konsentrasi memberikan perbedaan nyata terhadap jumlah tunas pada minggu ke-6 (Tabel 1). Jumlah tunas tertinggi terdapat pada kontrol yang berbeda nyata terhadap P1 (*paclobutrazol* 2 ppm), P2 (*paclobutrazol* 4 ppm), P3 (*paclobutrazol* 6 ppm), M1 (manitol 20 ppm) dan M2 (manitol 40 ppm). Pada pengamatan minggu terakhir, kontrol memiliki nilai rata-rata sebanyak

1.11 dan perlakuan P1, P2, P3, M1 dan M2 secara berturut-turut 0.89; 0.45; 0.33; 0.44; 0.66. Hasil penelitian Lestari dan Supriyati (2001) menunjukkan penyimpanan tunas temu putri selama 12 minggu berbeda nyata terhadap kontrol pada MS + manitol 4% namun tidak berbeda nyata pada MS + 3%. Pada penelitian Ningsih (2009) menunjukkan jumlah tunas purwoceng pada media MS+ *paclobutrazol* 1-5 ppm berbeda nyata terhadap kontrol pada penyimpanan eksplan selama 4 bulan. *Paclobutrazol* menghambat sintesis giberelin di dalam tanaman, akibatnya pembelahan dan pemanjangan sel terhambat selain itu tunas tetap dorman. Hal ini menyebabkan kultur sulit untuk membentuk tunas baru (Ningsih 2008).

Tabel 1. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah tunas eksplan selama 18 minggu penyimpanan

Umur Eksplan (Minggu)	Jumlah Tunas						KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 2 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 4 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm		
5	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.19	0.0574tn
6	0.44a	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	11.61	0.02970*
7	0.44	0.11	0.00	0.00	0.11	0.11	15.92	0.2531 tn
8	0.77	0.33	0.06	0.00	0.11	0.22	19.3	0.1100 tn
9	0.88	0.33	0.23	0.00	0.22	0.22	21.28	0.1911 tn
10	0.88	0.55	0.28	0.11	0.33	0.33	19.79	0.2770 tn
11	0.88	0.55	0.28	0.11	0.33	0.33	19.61	0.2453 tn
12	0.88	0.55	0.42	0.11	0.33	0.33	20.65	0.3532 tn
13	1.00	0.66	0.42	0.11	0.33	0.39	21.16	0.2536 tn
14	1.00	0.66	0.42	0.11	0.33	0.39	21.16	0.2536 tn
15	1.00	0.66	0.44	0.11	0.33	0.61	25.01	0.4338 tn
16	1.11	0.77	0.44	0.11	0.44	0.61	21.99	0.2519 tn
17	1.11	0.77	0.45	0.22	0.44	0.66	23.51	0.4225 tn
18	1.11	0.89	0.45	0.33	0.44	0.66	23.39	0.5017 tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, *: berbeda nyata, **: sangat berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$. Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tinggi eksplan. Tinggi eksplan yang diamati sampai minggu ke-18 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada perlakuan P1 (*paclobutrazol* 2 ppm), P2 (*paclobutrazol* 4 ppm), P3 (*paclobutrazol* 6 ppm), M1 (manitol 20 ppm) dan M2 (manitol 40 ppm) dan kontrol (Tabel 2). Berdasarkan pengamatan pada minggu ke-18, nilai rata-rata perlakuan pertumbuhan sebesar 1.73 cm, nilai rata-rata perlakuan P1 1.07 cm; M1 0.92 cm; M2 0.82 cm; P2 0.55 cm dan P3 0.39 cm. Hasil penelitian Aridha *et al* (2009) menunjukkan tinggi planlet pisang Buai setelah penyimpanan selama 16 minggu menggunakan

media MS + *paclobutrazol* 2-6 ppm memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Semakin bertambahnya konsentrasi *paclobutrazol* memberikan pertumbuhan tinggi eksplan yang semakin pendek. *Paclobutrazol* menyebabkan penghambatan pada pembelahan, pembesaran sel dan sedikit mempengaruhi pembentukan daun sehingga kultur yang dihasilkan kerdil. Kondisi ini mengakibatkan ketidakseimbangan kecepatan antara respirasi dengan fotosintesis sehingga pertumbuhan kultur terhambat. Apabila hal ini berlangsung dalam periode yang cukup lama dan dalam konsentrasi perlakuan tinggi pada akhirnya

eksplan akan mengakibatkan kematian (Ningsih 2008).

Pada penelitian Dewi (2002), eksplan talas yang diberikan perlakuan manitol menjadi terhambat, semakin tinggi konsentrasi manitol maka eksplan semakin pendek. Pada tanaman yang mengalami stress osmotik, air merupakan faktor pembatas di dalam sejumlah proses fisiologis dan biokimia sehingga dapat mempengaruhi laju pembesaran dan pembelahan

sel tanaman (Ningsih 2008). Manitol merupakan suatu senyawa osmoregulator yang menyebabkan meningkatnya potensial osmotik dalam media kultur serta menginduksi penurunan potensial osmotik dalam tanaman sebagai respon memelihara turgornya. Kondisi eksplan akan terlihat semakin pendek dengan semakin meningkatnya konsentrasi manitol yang diberikan . (Dewi 2002).

Tabel 2. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap tinggi eksplan selama 18 minggu penyimpanan

Umur Eksplan (Minggu)	Tinggi Eksplan (cm)						KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 2 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 4 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm		
5	0.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.46	0.0829tn
6	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.61	0.1626 tn
7	0.33	0.11	0.04	0.00	0.17	0.04	16.47	0.5833 tn
8	0.41	0.31	0.05	0.00	0.28	0.09	18.32	0.3999 tn
9	0.57	0.36	0.09	0.00	0.39	0.22	18.27	0.2573 tn
10	0.64	0.44	0.10	0.00	0.56	0.32	21.59	0.2856 tn
11	0.66	0.46	0.10	0.00	0.56	0.33	21.15	0.2552 tn
12	0.74	0.46	0.11	0.00	0.59	0.33	21.18	0.2178 tn
13	0.86	0.65	0.12	0.00	0.68	0.39	22.75	0.1843 tn
14	0.93	0.84	0.15	0.00	0.68	0.39	26.55	0.2484 tn
15	1.09	0.91	0.16	0.00	1.04	0.61	29.61	0.2930 tn
16	1.37	0.96	0.33	0.22	0.90	0.67	23.43	0.2093 tn
17	1.46	1.02	0.41	0.22	0.92	0.72	24.09	0.2247 tn
18	1.73	1.07	0.55	0.39	0.92	0.82	21.83	0.2037 tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$

Jumlah akar. Jumlah akar eksplan berbeda nyata pada minggu ke-10, 11, 12 dan 16 (Tabel 3). Perlakuan P1 (*paclobutrazol* 2 ppm), pada minggu ke-10 dan ke-11 menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol, P2, P3, M1 dan M2. P1 berbeda nyata pada minggu ke-12 terhadap perlakuan kontrol, P2, P3, M1 dan M2. Perlakuan P1(*paclobutrazol* 2 ppm), berbeda nyata terhadap P2 (*paclobutrazol* 4 ppm), P3(*paclobutrazol* 6 ppm) dan M1(manitol 20 ppm) pada minggu ke-16. Respon pertumbuhan akar eksplan pada P1 lebih cepat (sejak minggu ke-6) dibandingkan kontrol, M1 dan M2 (manitol 40 ppm) sejak minggu ke-11. Perlakuan P2 dan P3 mulai menunjukkan pertumbuhan akar sejak minggu ke-13. Pada minggu ke-16, nilai rata-rata jumlah akar dari tertinggi hingga terendah adalah P1 (1.11), K (0.66), M2 (0.66), M1 (0.33), P2 (0.35), P3 (0.22).

Perlakuan P1 memberikan respon yang baik terhadap pertumbuhan akar eksplan meskipun peubah tinggi dan jumlah tunas lebih rendah dibandingkan kontrol. Penelitian Pinhero dan Fletcher (1994) menunjukkan, pengaruh *paclobutrazol* antara lain menghambat panjang batang, meningkatkan panjang trikoma, meningkatkan pembentukan lapisan lilin pada kutikula, meningkatkan kandungan klorofil serta meningkatkan pertumbuhan akar. Perlakuan P2 dan P3 yang memiliki konsentrasi *paclobutrazol* yang lebih tinggi menunjukkan jumlah akar yang lebih rendah dari kontrol. Hal ini dapat diduga bahwa konsentrasi 4 ppm dan 6 ppm memberikan efek stress dan pemberian konsentrasi *paclobutrazol* yang lebih tinggi pada eksplan dapat menyebabkan kematian. Pada penelitian Dewi (2002), penambahan konsentrasi manitol semakin menurunkan jumlah akar secara nyata.

Tabel 3. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah akar selama 18 minggu penyimpanan

Umur Eksplan (Minggu)	Jumlah Akar						KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 2 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 4 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm		
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
6	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	10.19	0.0574tn
7	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	10.19	0.0574 tn
8	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	10.19	0.0574 tn
9	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	10.19	0.0574 tn
10	0.00b	0.44a	0.00b	0.00b	0.00b	0.00	5.32	0.0001**
11	0.00b	0.44a	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	5.32	0.0001**
12	0.11b	0.66a	0.00b	0.00b	0.00b	0.11b	16.14	0.0493*
13	0.22	0.66	0.00	0.00	0.00	0.11	16.6	0.0582 tn
14	0.33	0.88	0.27	0.11	0.11	0.33	18.39	0.1245 tn
15	0.55	1.11	0.33	0.11	0.33	0.44	17.68	0.0842 tn
16	0.66ab	1.11a	0.35b	0.22b	0.33b	0.66ab	14.26	0.0455*
17	0.66	1.11	0.63	0.22	0.55	0.66	16.62	0.2049 tn
18	0.66	1.11	0.65	0.22	0.66	0.66	17.77	0.2766 tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, *: berbeda nyata, **: sangat berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$. Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Jumlah daun. Peubah jumlah daun pada eksplan yang diamati memberikan hasil yang berbeda nyata di minggu pengamatan ke-18, perlakuan kontrol memiliki nilai rata-rata tertinggi (0.44) dibandingkan pada perlakuan M2 (manitol 40 ppm) sebesar 0.22. Perlakuan P1 (*paclobutrazol* 2 ppm), P2 (*paclobutrazol* 4 ppm), P3 (*paclobutrazol* 6 ppm), dan M1 (manitol 20 ppm) tidak menunjukkan pembentukan organ daun (Tabel 4). *Paclobutrazol* diduga menyebabkan ketidakseimbangan proses fisiologi eksplan tunas pisang sehingga menghentikan pembentukan daun (Aridha *et al* 2009). Pada penelitian Lestari dan Suprijati (2001), penambahan manitol pada media

eksplan temu putri menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap kontrol. Jumlah daun akan semakin sedikit apabila konsentrasi yang diberikan pada media semakin banyak.

Perlakuan M2 menunjukkan pertumbuhan daun yang dipengaruhi aktifitas endogen dalam eksplan tersebut. Perbedaan respon pada masing-masing tanaman terhadap zat penghambat tumbuh yang diberikan tergantung dari kandungan sitokinin dan zat pengatur tumbuh seperti berupa GA (asam giberelin) yang ada di dalam jaringan tanaman dan kondisi fisiologis jaringan (Lestari 2005).

Tabel 4. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah daun eksplan selama 18 minggu penyimpanan

Umur Eksplan (Minggu)	Jumlah Daun							KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 2 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 4 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm			
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	
7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	
9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	
10	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.53	0.4651tn	
11	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.53	0.4651 tn	
12	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.53	0.4651 tn	
13	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.53	0.4651 tn	
14	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	12.19	0.4651 tn	
15	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	12.19	0.4651 tn	
16	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	12.6	0.2831 tn	
17	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	11.41	0.0666 tn	
18	0.44a	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	0.22ab	12.87	0.04520*	

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, *: berbeda nyata, **: sangat berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$. Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Regenerasi Pasca Penyimpanan

Eksplan pisang kepok Unti Sayang yang masih hidup pada akhir minggu ke-18 disubkultur ke media regenerasi selama 4 minggu. Media regenerasi yang digunakan adalah BA (*Benzyl Adenin*) 2 ppm. Berdasarkan penelitian Semyani (2012), 2ppm merupakan konsentrasi terbaik dalam perbanyakan pisang kepok Unti Sayang secara *in vitro*. Pasca regenerasi, eksplan banyak mengalami kontaminasi bakteri dengan ciri kontaminasi ditandai dengan adanya warna putih kecoklatan seperti susu sehingga eksplan yang masih dapat diamati yaitu perlakuan kontrol, P3, M1 dan M2. Media BA memberikan respon pertumbuhan hingga minggu ke-4. BA termasuk golongan sitokinin yang memiliki sifat mendorong aktivitas pembelahan sel. (Wattimena 1987).

Perlakuan *paclobutrazol* dan manitol memberikan nilai rata-rata lebih rendah dibandingkan kontrol pada peubah tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar dan jumlah daun meski tidak berbeda nyata. Hal ini membuktikan bahwa pengaruh perlakuan penyimpanan selama 18 bulan masih membawa efek penghambatan. Bila dibandingkan, pertumbuhan eksplan pada periode regenerasi jauh lebih cepat dari pada periode penyimpanan. Pada periode regenerasi, kondisi eksplan yang diharapkan menunjukkan

pertumbuhan normal berupa pemanjangan tunas dan multiplikasi seperti pada tanaman pule pandak dan pulasari yang dilakukan oleh Purnamaningsih dan Gati (1997).

Hasil analisis ragam, pengaruh perlakuan *paclobutrazol* dan manitol selama memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata selama 4 minggu pengamatan. Peran *paclobutrazol* dan manitol pada periode penyimpanan masih memberi pengaruh pertumbuhan. Nilai rata-rata jumlah akar kontrol sebesar 0.78, P3 (*paclobutrazol* 6 ppm) 0.22, M1 (manitol 20 ppm) 0.03, M2 (manitol 40 ppm) 0.11 (Tabel 5).

Pada peubah tinggi eksplan, analisis ragam menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antar perlakuan. Pada minggu terakhir pengamatan, nilai rata-rata tinggi kontrol sebesar 5.88 cm, P3 2.18 cm, 3.07 cm dan M2 3.61 cm (Tabel 6).

Semakin bertambahnya umur eksplan, jumlah tunas menunjukkan pertumbuhan pada perlakuan kontrol, P3, M1 dan M2. Hasil analisis ragam juga menunjukkan belum menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan. Pada akhir minggu pengamatan, nilai rata-rata jumlah tunas kontrol sebesar 1.56, P3 1.00, M1 0.79, dan M2 1.00 (Tabel 7).

Nilai rata-rata jumlah daun terhadap umur eksplan cukup bervariasi antar perlakuan meski tidak memberikan analisis ragam yang berbeda

nyata. Pada akhir pengamatan, jumlah daun dari masing-masing perlakuan rendah yaitu; kontrol 1.33, M2 0.56, P3 0.11 dan M1 0.90 (Tabel 8).

Respon setiap tanaman pada media regenerasi cukup beragam, pada eksplan temu lawak setelah 7 bulan disimpan pada media pertumbuhan minimal *paclobutrazol* belum menunjukkan perbedaan nyata pada peubah jumlah tunas, jumlah daun, panjang tunas dan jumlah

akar meskipun disimpan selama 6 minggu (Syahid 2007). Pada pertumbuhan media regenerasi 7 bulan menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada tanaman daun dewa setelah disimpan pada media MS + *paclobutrazol* (1-4 ppm) selama 12 bulan. (Lestari 2005). Sedangkan pada penelitian Ningsih (2009), jumlah tunas purwoceng berbeda nyata pada perlakuan *paclobutrazol* periode regenerasi setelah penyimpanan 4 bulan.

Tabel 5. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah akar eksplan selama 4 minggu

Umur (Minggu)	Jumlah Akar					KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm			
1	0.22	0.11	0.00	0.00		17.1	0.6204tn
2	0.56	0.11	0.00	0.00		16.33	0.0943tn
3	0.78	0.22	0.00	0.11		24.73	0.2346tn
4	0.78	0.22	0.03	0.11		24.60	0.2558tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$.

Tabel 6. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap tinggi eksplan selama 4 minggu

Umur (Minggu)	Tinggi Tanaman (cm)					KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm			
1	1.86	0.24	0.68	1.06		37.87	0.4696tn
2	3.73	0.51	1.54	1.62		31.67	0.2286tn
3	4.80	1.61	2.40	1.99		38.37	0.6300tn
4	5.88	2.18	3.07	3.61		37.92	0.6615tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$.

Tabel 7. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah tunas eksplan selama 4 minggu

Umur (Minggu)	Jumlah Tunas					KK	UJI F
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 ppm	Manitol 40 ppm			
1	0.89	0.56	0.27	0.45		22.26	0.5505tn
2	1.00	0.56	0.68	0.89		20.27	0.8202tn
3	1.22	0.89	0.72	1.00		20.73	0.8865tn
4	1.56	1,00	0.79	1.00		11.03	0.1657tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$.

Tabel 8. Pengaruh tunggal *paclobutrazol* (ppm) dan manitol (ppm) terhadap jumlah daun eksplan selama 4 minggu

Umur (Minggu)	Jumlah Daun					
	Kontrol 0 ppm	<i>Paclobutrazol</i> 6 ppm	Manitol 20 g L ⁻¹	Manitol 40 ppm	KK	UJI F
1	0.44	0.00	0.11	0.11	19.58	0.4547tn
2	0.78	0.00	0.13	0.22	19.53	0.1276tn
3	1.22	0.00	0.46	0.22	23.30	0.0945tn
4	1.33	0.11	0.90	0.56	30.65	0.3260tn

Keterangan : tn: tidak berbeda nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x+0.5)^{1/2}$.

KESIMPULAN

Perlakuan penambahan retardan *paclobutrazol* 6 ppm (P3) menunjukkan penghambatan multiplikasi, menghambat pemanjangan tunas selama 18 minggu pada periode perlambatan tumbuh. Eksplan pada perlakuan memberikan respon pertumbuhan yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol ada periode regenerasi sehingga dapat diduga bahwa P3 merupakan konsentrasi yang dapat digunakan untuk pertumbuhan minimal dalam upaya konservasi pisang kepok Unti Sayang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, F. 2010. Modifikasi Tepung Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca Formatypica*) Melalui Proses Fermentasi Spontan dan Pemanasan Otoklaf Untuk Meningkatkan Kadar Pati Resisten. *Tesis*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Aridha, S.D., Suliansyah, I., Gustian. 2009. Upaya Penyimpanan Plasma Nutfah Planlet Pisang Buai (*Musa paradisiaca* L.) Secara *In Vitro* Pada Berbagai Konsentrasi Asam Absisat dan *Paclobutrazol*. *Jerami* Vol 2(3) [internet]. [Diunduh 2015 Maret 03]; Faperta.unand.ac.id/jerami/PDF/v02-3-04.pdf
- Bhat, S.R., Chandel, K.P.S.1993. *In vitro* conservation of *Musa* germplasm: effect of manitol and temperature on growth and storage. *J. Hort. Sci* 68(6):84-846.
- Buddenhagen, I. 2009. *Blood bacterial wilt of banana: History, Field biology And Solution*. Internasional Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihood. ActaHort. 828.
- Dewi, N. 2002. Perbanyakan dan Pelestarian Plasma Nutfah Talas (*Colocasia esculenta* (L) Schott) secara *In Vitro*. *tesis*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ekaputri, S. 2013. Perbandingan Keragaman Morfologi Pisang Kepok Unti Sayang (*Musa balbisiana*) Hasil Subkultur 1 Sampai 6. *skripsi*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Emaga Happi, T., Herinavalona, A.R., Wathélet, B., Tchango, T.J., Paquot, M. 2007. Effect of the stage maturation and varieties in the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chem*. 103: 590-600.
- Kasutjaningati. 2004. Pemiakan Mikro Berbagai Genotipe Pisang (*Musa* spp) dan Potensi Bakteri Endofitik Terhadap Layu *Fusarium* (*Fusarium oxysorum* f. Sp. *cubense*). *tesis*. Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lestari, E.G. 1999. Penyimpanan Tunas Nilam dengan Enkapsulasi dan Media Padat dengan Zat Penghambat Tumbuh *Paclobutrazol* dan *Ancymidol*). *tesis*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lestari, E.G., Supriyati, Y.2001. Penyimpanan Temu Putri (*Curcuma petiolata* Roxb.) Melalui Pertumbuhan Minimal. *BioSMART*. 3(1):24-28.
- Lestari, E.G. 2005. Penyimpanan *In Vitro* Tanaman Obat Daun Dewa melalui Pertumbuhan Minimal. *AgroBiogen* 1(2):68-72
- Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. Bogor : Akademia.60hlm

- Ningsih, R. 2008. Penyimpanan Dengan Pertumbuhan Minimal dan Regenerasi *In Vitro* Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). *tesis* . Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pinhero, R.G., Fletcher, R.A.1994. Paclobutrazol and Ancymidol Protect Corn Seedling from High and Low Temperature Stresses. *Plant Growth Reg.*15 :47-53.
- Simmond, N.W. 1966. *Bananas* 2nd ed.London:Longmans.512 hlm.
- Semaryani, C.I.M. 2012. Subkultur Berulang Tunas *In Vitro* Pisang Kepok Unti Sayang pada Beberapa Komposisi Media. *skripsi*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Suhartanto, M.R., Sobir, Harti, H., Nasution, M.A. 2009. Pengembangan pisang sebagai penopang ketahanan pangan nasional. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2009. Bogor (ID). Hlm 600-601.
- Syahid, S.F. 2007. Pengaruh Retardan Paclobutrazol Terhadap Pertumbuhan Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Selama Konservasi In Vitro. *Littri* 13(3):93-97.
- Wattimena, G.A. 1987. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 145 hlm.