

**Pengaruh Media Induksi terhadap Multiplikasi Tunas dan Pertumbuhan Planlet Pisang Rajabulu (AAB) dan Pisang Tanduk (AAB) pada Berbagai Media Multiplikasi**

***Induction Medium Effect on Multiplication and Growth of Planlet of cv Rajabulu (AAB) and Tanduk (AAB) Plantains on Several Multiplication Media***

**Kasutjaningati<sup>1\*</sup>, Roedhy Poerwanto<sup>2</sup>, Widodo<sup>3</sup>, Nurul Khumaida<sup>2</sup>, dan Darda Efendi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Produksi Tanaman, Politeknik Negeri Jember, Jl. Mastrip PoBox 164, Jember, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 23 Maret 2011/Disetujui 7 September 2011

**ABSTRACT**

*The aim of this research was to study the effects of explant from various induction media on multiplication and growth of cv Rajabulu (AAB) and Tanduk (AAB) plantain. This research was arranged in factorial complete randomized design with two factors. The first factor was two kinds of explant which came from induction media I1 (MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 3 mg L<sup>-1</sup>), and from induction media I2 (MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 3 mg L<sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L<sup>-1</sup>); the second factor was 4 kinds of multiplication media, i.e. MS0 (control/without PGR), MS + BA 0.20 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.01 mg L<sup>-1</sup> (M1), MS + BA 1 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L<sup>-1</sup> (M2), MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup> (M3). The experiment results were the use of TDZ in the induction medium reduced the use of high cytokinin in the multiplication level. The use of Rajabulu explant that came from media I2 produced more shoots (4.3 shoots per explant) compared to explant from media I1 (3.2 shoots per explant). The use of multiplication media M3 and M2 produced the highest shoot number. The best shoot morphogenesis produced when the shoots after subculture in media with PGR (M3 or M2) to media MS0 (big shoot 3.1 and medium shoot 3.5). Tanduk plantain's shoot was responsive to cytokinin. The best treatment is I1-M3 with the highest number of shoots and the highest percentage of big and medium shoot is (33%) compared to other treatments (<17%). In the second subculture, the highest shoot number were obtained from multiplication media M3 and M2. The morphogenesis of Tanduk plantain produced the highest big shoot if subcultured to media M3-M0 and M2-M0, followed to M0-M0.*

*Keywords: TDZ, cytokinin, auxin, morphogenesis, big shoot, medium shoot*

**ABSTRAK**

*Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh eksplan yang berasal dari media induksi terhadap multiplikasi dan pertumbuhan planlet pisang Rajabulu (AAB) dan pisang Tanduk (AAB) pada berbagai komposisi media multiplikasi. Percobaan berdasar pada rancangan acak lengkap (RAL) dan percobaan terdiri atas 2 faktor. Faktor pertama terdiri atas 2 tipe eksplan yang sudah diinduksi pada media induksi I1 (MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 3 mg L<sup>-1</sup>), dan media induksi I2 (media induksi + TDZ 0.09 mg L<sup>-1</sup>); faktor kedua terdiri atas 4 macam media multiplikasi; M0 (tanpa ZPT), MS + BA 0.20 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.01 mg L<sup>-1</sup> (M1), MS + BA 1 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L<sup>-1</sup> (M2), MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup> (M3), media M1 + GA 3 mg L<sup>-1</sup> (M4), media M2 + GA 3 mg L<sup>-1</sup> (M5), dan media M3 + GA 3 mg L<sup>-1</sup> (M6). Pertumbuhan eksplan pada perlakuan media M4, M5, dan M6 menunjukkan pertumbuhan tunas tidak sempurna (pelepeh memanjang, daun kecil, dan bentuk tidak normal), sehingga perlakuan yang dianalisis dalam penelitian ini hanya perlakuan tanpa GA3 yaitu M0, M1, M2 dan M3. Hasil analisis menunjukkan bahwa eksplan pisang Rajabulu berasal dari media induksi+TDZ menghasilkan tunas lebih banyak (4.3 tunas per eksplan) dibandingkan dengan eksplan berasal dari media induksi tanpa TDZ (3.2 tunas per eksplan). Multiplikasi pada media M3 and M2 memproduksi tunas lebih banyak. Morfogenesis planlet viabel untuk pisang Rajabulu diperoleh bila tunas disubkultur dari media (M3 atau M2) ke M0 (3.1 tunas besar dan 3.5 tunas sedang). Tunas pisang Tanduk sangat responsif terhadap sitokinin. Perlakuan terbaik pada eksplan asal media induksi I1 dan multiplikasi pada media M3 dan M2 menghasilkan tunas kecil. Morfogenesis planlet viabel pisang Tanduk diperoleh bila tunas disubkultur pada media M3-M0 dan M2-M0, dilanjutkan M0-M0.*

*Kata kunci: TDZ, sitokinin, morfogenesis, tunas besar, tunas sedang*

\* Penulis untuk korespondensi. e-mail: kasutjaningati@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Pisang Rajabulu (AAB) dan pisang Tanduk (AAB) yang bergenom sama mempunyai karakter hasil buah dan pertumbuhan yang berbeda. Karakter proliferasi dan regenerasi tunasnya secara *in vitro* juga berbeda. Keduanya mempunyai permasalahan dan kurang optimal dalam menghasilkan planlet viabel. Planlet viabel yang dimaksud adalah planlet dengan vigor yang sempurna (mempunyai akar, batang dan daun sempurna) dan masuk dalam kriteria tunas besar ( $> 3$  cm) agar berhasil diaklimatisasi untuk menghasilkan bibit siap tanam.

Eksplan pisang Tanduk sangat responsif terhadap sitokinin, yaitu menghasilkan regenerasi tunas berukuran kecil dengan adanya sitokinin dalam media tanam. Subkultur tunas berulang pada media sama dengan sitokinin tinggi dapat menambah jumlah nodul dan jumlah tunas abnormal (daun berbentuk roset tanpa pelepah atau tangkai daun, *vitrous*, dan albino). Sedangkan tunas pisang Rajabulu menunjukkan kemampuan multiplikasi yang rendah, dan diperlukan nisbah sitokinin auksin yang tinggi untuk mendorong pertumbuhan tunas eksplan pisang Rajabulu (Kasutjaningati, 2004).

Stabilitas tunas perlu dijaga dengan memodifikasi komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT), terutama rasio auksin: sitokinin, disesuaikan dengan tingkat mikropropagasi tunas. Konsentrasi ZPT yang dibutuhkan saat induksi tunas akan berbeda dengan saat multiplikasi tunas berulang, dan perlu disesuaikan dengan genotipe yang digunakan. Penambahan ZPT ke dalam media *in vitro* sangat efektif dalam mengontrol pertumbuhan tanaman dengan mempengaruhi proses biokimia tanaman (Arinaitwe *et al.*, 2000). Terlepas dari pengaruh genotipe, laju proliferasi dan pemanjangan tunas dipengaruhi oleh tipe sitokinin dan konsentrasinya. Dalam kultur *in vitro* pisang, biasanya digunakan sitokinin jenis adenin misalnya *6-benzylaminopurine* (BAP) (Zaffari *et al.*, 2000; Venkatachalam *et al.*, 2007). Sitokinin eksogen berfungsi sebagai faktor pendorong multiplikasi (Vuylsteke, 1989; Arinaitwe *et al.*, 2000). Rekomendasi konsentrasi optimum BAP untuk mikropropagasi pisang adalah  $20 \mu\text{M}$  (Vuylsteke, 1989).

Penambahan thidiazuron (TDZ) sebanyak  $0.09 \text{ mg L}^{-1}$  pada media dengan komposisi  $\text{MS} + 2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 3 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$  mampu mempercepat pertumbuhan tunas aksilar eksplan pisang Rajabulu 1 bulan lebih cepat dan pada eksplan pisang Tanduk 3 bulan lebih cepat dibandingkan dengan eksplan pada perlakuan tanpa TDZ. Selain mempercepat munculnya tunas aksilar eksplan, penambahan TDZ pada media juga mampu meningkatkan total tunas lebih banyak, walaupun tunas yang terbentuk termasuk kategori tunas kecil (Kasutjaningati *et al.*, 2010). Penelitian Arinaitwe *et al.* (2000) juga menunjukkan bahwa penggunaan TDZ pada pisang kultivar Kibuzi (AAA), Bwara (AAA) dan Ndziwemiti (ABB) dapat meningkatkan laju proliferasi tunas dibandingkan dengan BAP.

Asam gibberelat (GA3) juga diperlukan pada proses multiplikasi untuk memperbaiki tunas, mengingat GA3 berfungsi dalam proses pemanjangan sel. Penambahan

GA3 sebesar  $5 \text{ mg L}^{-1}$  dapat memperpanjang ruas dan memperlebar daun pada tunas mikro apel (George dan Sherrington, 1988). Kombinasi GA3 ( $0.01-0.1 \text{ mg L}^{-1}$ ) dan kinetin ( $0.5-5 \text{ mg L}^{-1}$ ) mendorong multiplikasi dan juga menstimulasi pemanjangan tunas kentang. Menurut Yusnida *et al.* (2006) pada kultur Anggrek Bulan penambahan GA3 sebanyak  $2 \text{ mg L}^{-1}$  mampu merangsang perkecambahan plb (*protocorm like body*).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari multiplikasi eksplan pisang Rajabulu dan pisang Tanduk yang berasal dari media induksi berbeda serta pengaruh GA3 dan BA pada berbagai media multiplikasi.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Kajian Buah-buahan Tropika (PKBT) Baranangsiang, Institut Pertanian Bogor. Material penelitian berupa tunas *in vitro* pisang Tanduk dan pisang Rajabulu. Tunas-tunas *in vitro* diseleksi dan dipilih yang mempunyai ukuran seragam (ukuran tunas kecil  $< 2$  cm) untuk dijadikan eksplan pada percobaan ini.

Percobaan pada dua jenis pisang dianalisis statistik secara terpisah. Proses penelitian dilakukan berdasar tahapan kultur tunas yaitu tahap multiplikasi dan tahap morfogenesis untuk mempersiapkan planlet aklimatisasi (yaitu pemanjangan tunas; kesempurnaan batang, daun dan akar). Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 10-20 ulangan (*unbalance two way analysis of variance*) dengan unit percobaannya berupa satu eksplan per botol. Perlakuan terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah dua jenis eksplan yang berasal dari media berbeda yaitu eksplan yang berasal dari media I1 ( $\text{MS} + 2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 3 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$ ) tanpa TDZ dan media I2 ( $\text{media I1} + 0.09 \text{ mg L}^{-1} \text{ TDZ}$ ); faktor kedua adalah tujuh taraf media multiplikasi, yaitu media MS tanpa ZPT (M0), media  $\text{MS} + 0.20 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 0.01 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$  (M1), media  $\text{MS} + 1 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 0.25 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$  (M2), media  $\text{MS} + 2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$  (M3), media  $\text{M1} + 3 \text{ mg L}^{-1} \text{ GA3}$  (M4), media  $\text{M2} + 3 \text{ mg L}^{-1} \text{ GA3}$  (M5), dan media  $\text{M3} + 3 \text{ mg L}^{-1} \text{ GA3}$  (M6). Media multiplikasi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan modifikasi dari media induksi  $5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$  dan  $3 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$  (Kasutjaningati, 2004; Ernawati *et al.*, 2005).

Konsistensi (kestabilan) multiplikasi dilakukan setelah tunas disubkulturkan kembali ke dalam media multiplikasi yang sama, sedangkan pengamatan terhadap viabilitas dan vigor planlet (kesempurnaan organ planlet) dilakukan setelah tunas disubkulturkan kembali ke media MS tanpa ZPT (M0) dan media multiplikasi yang sama sebagai pembanding. Semua pengamatan pertumbuhan tunas dilakukan empat minggu setelah tanam (MST).

Peubah yang diamati terdiri atas total tunas (*cormlet*) dan mutu tunas dibedakan berdasar ukuran tunas yaitu tunas kecil (bila tinggi planlet  $< 2$  cm), tunas sedang (bila tinggi planlet 2-3 cm), dan tunas besar (bila tinggi planlet  $> 3$  cm). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam, dilanjutkan dengan uji DMRT untuk tiap jenis

pisang. Kultur ditumbuhkan di bawah kondisi terang 16 jam dengan intensitas cahaya 120 -160  $\mu\text{E m}^{-2}\text{g}^{-1}$  dan suhu 19-22 °C. Letak botol kultur diacak setiap 2 hari sekali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Multiplikasi Tunas

Pengamatan visual hasil pertumbuhan eksplan pisang Rajabulu dan pisang Tanduk pada berbagai media multiplikasi dengan penambahan GA3 (media M4, M5, dan M6) menunjukkan pertumbuhan tunas tidak sempurna yaitu pelepah memanjang, daun kecil, dan bentuk tidak normal (Gambar 1D, 1E dan 1F). Pertumbuhan tunas tidak normal diduga akibat penambahan konsentrasi GA yang terlalu tinggi. Selanjutnya perlakuan yang dianalisis dalam penelitian ini hanya perlakuan tanpa GA3 yaitu M0, M1, M2 dan M3.

Rata-rata total tunas pisang Rajabulu yang berasal dari media induksi dengan TDZ (I2) lebih banyak dibandingkan dengan nilai rata-rata total tunas dari eksplan yang berasal dari media induksi tanpa TDZ (I1) (Tabel 1). Eksplan yang berasal dari media induksi dengan TDZ juga menghasilkan lebih banyak tunas berukuran sedang (60%) dibandingkan eksplan yang berasal dari media tanpa TDZ (50%). Hal ini berarti bahwa konsentrasi 0.09 mg L<sup>-1</sup> TDZ yang ditambahkan dalam media MS + 2 mg L<sup>-1</sup> BA + 3 mg L<sup>-1</sup> IAA mampu mendorong proliferasi eksplan pisang Rajabulu dan mampu meningkatkan jumlah tunas. Hal tersebut sesuai pendapat Thomas dan Katterman (1986), bahwa TDZ dalam konsentrasi sangat rendah dapat mempengaruhi biosintesis sitokinin endogen.

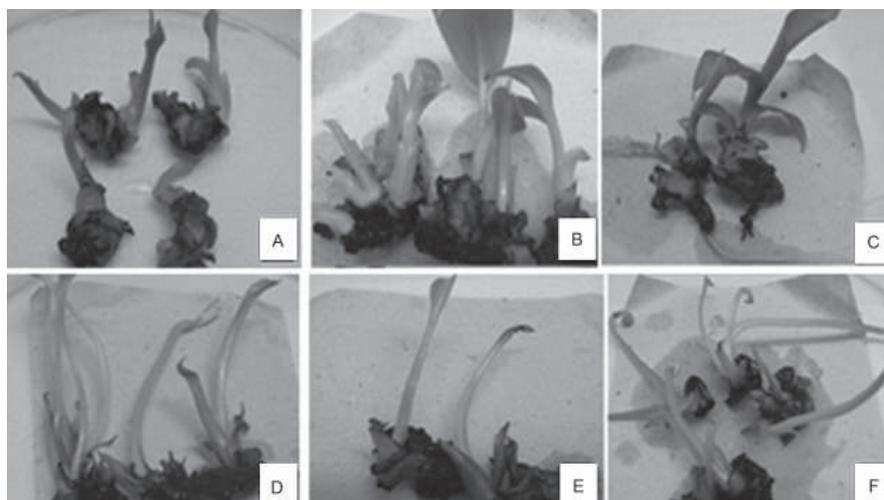
Pada pisang Rajabulu, media multiplikasi M2 (MS + 1 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.25 mg L<sup>-1</sup> IAA) dan M3 (MS+ 2 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> IAA) menghasilkan rata-rata total tunas yang lebih banyak dibandingkan media multiplikasi M1 dan M0 (Tabel 1). Kedua media tersebut juga menghasilkan jumlah tunas sedang yang lebih banyak (60% dari total

tunas) dibandingkan dengan media M1 dan M0. Penurunan konsentrasi BA dan IAA pada media M3 dan M2 mampu memberikan jumlah tunas pisang Rajabulu tidak berbeda nyata serta sama dengan hasil perlakuan Kasutjiani (2004), yaitu 4 tunas per eksplan.

Penggunaan TDZ pada media induksi sebelum eksplan dipindahkan ke media multiplikasi diduga berpengaruh terhadap proliferasi tunas pada media multiplikasi. Eksplan pada media M0 (tanpa ZPT) mampu bermultiplikasi dan menghasilkan rata-rata total tunas yang tidak berbeda nyata dengan rata-rata total tunas pada media M1 (Tabel 1). Berarti jaringan eksplan mampu berproliferasi karena terinduksi sitokinin eksogen pada media induksi sebelumnya (TDZ). Adanya respon pertumbuhan eksplan yang tidak berbeda nyata pada selang komposisi media M3 dan M2 juga diduga karena peran eksplan yang telah terinduksi TDZ sebelumnya.

Jaringan eksplan tidak akan berproliferasi tanpa induksi sitokinin dari luar. Eksplan yang diduga telah terinduksi bila disubkultur pada media M0 (tidak ada pengaruh sitokinin eksogen) maka tunas yang terbentuk adalah tunas sedang (nilai rata-rata 2 tunas) tapi apabila masih mendapat pengaruh sitokinin eksogen walaupun rendah (di media M1) tunas berproliferasi membentuk tunas kecil. Jaringan tanaman yang telah terinduksi sel-selnya akan berproliferasi atau akan mengalami determinasi, dan berkembang mengarah ke pembentukan organ bergantung pada lingkungan baru (media subkultur berikutnya) tanpa sitokinin atau sitokinin rendah (Salisbury dan Ross 1995).

Hasil sidik ragam terhadap multiplikasi dan mutu tunas pisang Tanduk (Tabel 2), menunjukkan adanya interaksi antar perlakuan yaitu eksplan yang berasal dari media induksi berbeda dengan media multiplikasi terhadap jumlah tunas sedang dan besar. Jumlah tunas sedang tertinggi diperoleh pada perlakuan asal eksplan tanpa TDZ (I1) pada media multiplikasi (M3) yaitu 4.2 tunas per eksplan (34% dari total tunas). Jumlah tunas besar tertinggi diperoleh dari perlakuan asal eksplan tanpa TDZ (I1) pada



Gambar 1. Multiplikasi eksplan pisang Rajabulu. (A) tunas pada media M3, (B) tunas pada media M2, (C) tunas pada media M1, (D) tunas tidak normal pada media M6, (E) tunas tidak normal pada media M5, (F) tunas tidak normal pada media M4.

Tabel 1. Multiplikasi eksplan pisang Rajabulu yang berasal dari media induksi pada beberapa media multiplikasi (4 MST)

| Media induksi asal sumber eksplan   | Media multiplikasi |  |   |  | Rataan |
|---|--------------------|--|---|--|--------|
|   | M0 (MS0)           | M1 (BA 0.20 mg L <sup>-1</sup> + IAA 0.01 mg L <sup>-1</sup> ) | M2 (BA 1 mg L <sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L <sup>-1</sup> ) | M3 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L <sup>-1</sup> ) |        |
| -----Tunas kecil-----   |                    |  |   |  |        |
| I1 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA)                              | 0.5                | 1.3  | 0.8   | 0.3  | 0.8    |
| I2 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA+ 0.09 mg L <sup>-1</sup> TDZ) | 0.3                | 0.7  | 1.5   | 0.9  | 0.9    |
| Rataan  | 0.4                | 0.9  | 1.3   | 0.7  |        |
| -----Tunas sedang-----  |                    |  |   |  |        |
| I1 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA)                              | 1.5                | 0.5  | 1.8   | 3.1  | 1.8    |
| I2 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA+ 0.09 mg L <sup>-1</sup> TDZ) | 2.2                | 2.0  | 3.2   | 2.9  | 2.6    |
| Rataan  | 2.0ab              | 1.5b   | 2.8a  | 3.0a   |        |
| -----Tunas besar-----   |                    |  |   |  |        |
| I1 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA)                              | 0.3                | 0.5  | 0.8   | 0.7  | 0.6    |
| I2 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA+ 0.09 mg L <sup>-1</sup> TDZ) | 0.7                | 0.6  | 0.9   | 0.9  | 0.8    |
| Rataan  | 0.6                | 0.6  | 0.8   | 0.9  |        |
| -----Total tunas-----   |                    |  |   |  |        |
| I1 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA)                              | 2.3                | 2.3  | 3.4   | 4.1  | 3.2b   |
| I2 (2 mg L <sup>-1</sup> BA+ 3 mg L <sup>-1</sup> IAA+ 0.09 mg L <sup>-1</sup> TDZ) | 3.2                | 3.3  | 5.6   | 4.7  | 4.3a   |
| Rataan  | 2.9b               | 3.0b   | 4.9a  | 4.5a   |        |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, pada kolom atau baris rataaan dan kolom interaksi tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf  $\alpha = 5\%$ . (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ ) Media dasar yang digunakan adalah MS

media M0 yaitu 1.5 tunas per eksplan (25% dari total tunas). Sesuai dengan karakter eksplan pisang Tanduk yang sangat responsif terhadap sitokinin maka media BA 2 mg L<sup>-1</sup> (tanpa TDZ) mampu membawa eksplan menghasilkan tunas sedang pada media M3 (BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup>); apabila dikulturkan pada media tanpa sitokinin (M0) akan menghasilkan planlet ukuran besar.

Dua hal tersebut di atas berarti untuk keperluan multiplikasi tunas diperlukan sitokinin eksogen, tetapi untuk morfogenesis cukup sitokinin endogen yang ada dalam eksplan (atau eksplan mendapat diinduksi sitokinin sebelum disubkultur ke media M0). Pisang Tanduk dengan asal eksplan dari media induksi 1 (tanpa TDZ) diduga memiliki rasio auksin:sitokinin dalam eksplan yang mengarah pada pertumbuhan tunas besar pada media M0 dan mengarah pada pertumbuhan tunas katagori sedang pada media M3. Apabila eksplan yang digunakan berasal dari media induksi 2 (dengan TDZ) maka rasio sitokinin:auksin endogen akan mendorong multiplikasi (pada M2 dan M3) mengarah pada pembentukan tunas kecil.

Kemampuan eksplan pisang Tanduk membentuk tunas kecil sangat besar dan kemampuan membentuk tunas besar sangat rendah. Pengaruh tunggal perlakuan eksplan yang berasal dari media induksi 2 (dengan TDZ) mampu menghasilkan nilai rata-rata total tunas yang nyata lebih banyak dari media induksi tanpa TDZ (I1) (Tabel 2).

Pengaruh tunggal perlakuan komposisi media multiplikasi nyata terhadap total tunas dan jumlah tunas

kecil pisang Tanduk, dimana nilai rata-rata total tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan media M3. Rata-rata nilai jumlah tunas kecil yang dihasilkan dari media M3 (11.2 tunas per eksplan) tidak berbeda nyata dengan media M2 (10.1 tunas per eksplan) (Tabel 2). Proliferasi tinggi tunas pisang Tanduk karena sitokinin tinggi dalam media M3 dan M2 dapat menurunkan mutu tunas, yaitu menghasilkan persentase tunas kecil yang sangat tinggi (89%).

Perbedaan pola multiplikasi pisang Rajabulu dan pisang Tanduk pada perlakuan eksplan yang berasal dari media induksi 2 (dengan TDZ) dan perlakuan komposisi sitokinin: auksin di media multiplikasi, diduga karena perbedaan karakter kedua kultivar pisang tersebut dalam merespon (*uptake rate*) sitokinin, adanya perbedaan laju translokasi ke daerah meristem dan proses metabolismenya (Arinaitwe *et al.*, 2000; Gubbuk dan Pekmezcu, 2004). Sesuai pendapat Zaffari *et al.* (2000) dan Shirani *et al.* (2009) bahwa yang menjadi penentu utama proliferasi adalah level auksin dan sitokinin endogen dari masing-masing jenis eksplan.

#### Konsistensi Perbanyakan Tunas

Konsistensi atau kestabilan perolehan tunas ditingkat subkultur ditentukan oleh komposisi ZPT media yang digunakan. Umumnya makin meningkat frekuensi subkultur dengan konsentrasi ZPT sama, akan meningkatkan level ZPT pada eksplan. Level atau rasio sitokinin/auksin eksplan akan menentukan arah pertumbuhan dan perkembangan eksplan

Tabel 2. Multiplikasi eksplan pisang Tanduk yang berasal dari media induksi pada beberapa media multiplikasi (4 MST)

| Media iInduksi asal sumber eksplan   | Media Multiplikasi |   |   |   | Rataan |
|--|--------------------|---|---|---|--------|
|  | M0 (MS0)           | M1 (BA<br>0.20 mg L <sup>-1</sup><br>+ IAA 0.01<br>mg L <sup>-1</sup> ) | M2 (BA<br>1mg L <sup>-1</sup> +<br>IAA 0.25<br>mg L <sup>-1</sup> ) | M3 (BA 2<br>mg L <sup>-1</sup> +<br>IAA 0.5<br>mg L <sup>-1</sup> ) |        |
| -----Tunas kecil-----  |                    |   |   |   |        |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                               | 3.0                | 5.6   | 6.6   | 8.4   | 6.0b   |
| I2 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | 6.4                | 9.1   | 12.0  | 13.0  | 10.0a  |
| Rataan   | 5.1c               | 8.0b  | 10.1ab  | 11.2a   |        |
| -----Tunas sedang-----   |                    |   |   |   |        |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                               | 1.4b               | 0.9b  | 1.3b  | 4.2a  | 2.0    |
| I2 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | 1.9b               | 2.2b  | 1.4b  | 1.7b  | 1.8    |
| Rataan   | 1.7                | 1.8   | 1.4   | 2.6   |        |
| -----Tunas besar-----  |                    |   |   |   |        |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                               | 1.5a               | 0.6b  | 0.0c  | 0.0c  | 0.5    |
| I2 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | 0.1c               | 0.1c  | 0.0c  | 0.0c  | 0.1    |
| Rataan   | 0.7                | 0.3   | 0.0   | 0.0   |        |
| -----Total tunas-----  |                    |   |   |   |        |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                               | 5.9                | 7.1   | 8.0   | 12.5  | 8.5b   |
| I2 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | 8.5                | 11.4  | 13.4  | 14.6  | 12.0a  |
| Rataan   | 7.5c               | 10.1b   | 11.4b   | 13.8a   |        |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, pada kolom atau baris ratahan dan kolom interaksi tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf  $\alpha = 5\%$ . (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ ). Media dasar yang digunakan adalah MS

dan selanjutnya akan mempengaruhi total tunas. Tingginya total tunas yang dihasilkan akan menentukan mutu tunas (jumlah tunas besar, tunas sedang, tunas kecil).

Analisis ragam variabel hasil tunas pisang Rajabulu yang disubkultur kembali ke medium yang sama dari berbagai perlakuan komposisi media multiplikasi (Tabel 3), menunjukkan bahwa total tunas dan mutu tunas pisang Rajabulu semua variabel berbeda nyata kecuali untuk tunas kecil.

Tabel 3 menunjukkan total tunas pisang Rajabulu dari perlakuan sumber eksplan (tanpa TDZ atau dengan TDZ),

yang disubkultur kembali ke media sama berturut-turut: I1M1-M1 dan I2M1-M1 (4.6 dan 4.4 tunas per eksplan); I1M2-M2 dan I2M2-M2 (5.6 dan 6.5 tunas per eksplan); I1M3-M3 dan I2M3-M3 (6.1 dan 6.9 tunas per eksplan), secara statistik antar keduanya menunjukkan tidak berbeda nyata. Berarti total tunas sepenuhnya dipengaruhi oleh komposisi sitokinin dari media multiplikasi.

Hasil multiplikasi tunas pisang Rajabulu di subkultur pertama (Tabel 1) dan subkultur ke dua (Tabel 3) terdapat hubungan hasil yang konsisten dalam hal total tunas yang dihasilkan. Potensi mutu tunas keduanya masuk kategori

Tabel 3. Pengaruh sumber eksplan dan subkultur ke media multiplikasi yang sama terhadap jumlah tunas pisang Rajabulu (4 MST)

| Media induksi asal sumber eksplan   | Media multiplikasi | Jumlah tunas per eksplan |        |       |        |
|---|--------------------|--------------------------|--------|-------|--------|
|   |                    | Kecil                    | Sedang | Besar | Total  |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                          | M1-M1              | 1.5                      | 1.4bc  | 1.5ab | 4.6bc  |
|   | M2-M2              | 2.0                      | 2.2ab  | 1.4ab | 5.6abc |
|   | M3-M3              | 2.8                      | 3.3a   | 0.0c  | 6.1abc |
| I2 (BA2 mg L <sup>-1</sup> +IAA3 mg L <sup>-1</sup> +TDZ0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | M1-M1              | 1.4                      | 0.9c   | 2.2a  | 4.4bc  |
|   | M2-M2              | 2.8                      | 2.4ab  | 1.3ab | 6.5ab  |
|   | M3-M3              | 3.4                      | 2.6ab  | 1.0b  | 6.9a   |

Keterangan: M1-M1 (subkultur dari perlakuan media M1 ke M1), dst. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom variabel yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf  $\alpha = 5\%$ . (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ )

berukuran sedang pada media multiplikasi MS + BA 1 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L<sup>-1</sup> (M2-M2) adalah 2.2-2.4 tunas per eksplan, dan media MS + BA 2mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup> (M3-M3) adalah 3.3-2.6 tunas per eksplan, hasil analisis ragam secara statistik tidak berbeda nyata.

Konsentrasi sitokinin media multiplikasi yang makin rendah menghasilkan jumlah total tunas makin menurun pula, MS+BA0.20 mg L<sup>-1</sup>+IAA0.01 mg L<sup>-1</sup> (M1-M1) dengan total tunas terendah (I1M1-M1 adalah 4.6 tunas; I2M1-M1 adalah 4.4 tunas per eksplan), dengan jumlah tunas sedikit meningkatkan pertumbuhan tunas besar (2.2-1.5 tunas/eksplan).

Analisis ragam variabel hasil tunas pisang Tanduk yang disubkultur kembali ke medium yang sama dari berbagai perlakuan komposisi media multiplikasi (Tabel 4), menunjukkan bahwa total tunas dan mutu tunas pisang Tanduk semua variabel berbeda nyata kecuali untuk tunas sedang.

Multiplikasi tunas pisang Tanduk yang disubkulturkan kembali pada media yang sama (Tabel 4), berturut-turut: I1M1-M1 dan I2M1-M1 (13.1 dan 16.1 tunas per eksplan); I1M2-M2 dan I2M2-M2 (22.0 dan 18.2 tunas per eksplan); I1M3-M3 dan I2M3-M3 (18.0 dan 17.3 tunas per eksplan), secara statistik antar keduanya menunjukkan tidak berbeda nyata. Berarti total tunas sepenuhnya dipengaruhi oleh komposisi sitokinin dari media multiplikasi.

Hasil multiplikasi tunas pisang Tanduk di subkultur pertama (Tabel 2) dan subkultur kedua (Tabel 4) terdapat hubungan hasil yang konsisten dalam hal total tunas yang dihasilkan, potensi mutu tunas keduanya berukuran tunas kecil pada media multiplikasi MS + BA 1 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L<sup>-1</sup> (M2-M2) = 20.3-15.2 tunas per eksplan, dan media MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup> (M3-M3) = 16.9-15.8 tunas per eksplan, hasil analisis ragam secara statistik tidak berbeda nyata (M2 dan M3).

Tunas besar tetap dihasilkan dari eksplan tanpa TDZ (sitokinin rendah) dan pada media multiplikasi sitokinin rendah adalah 1.9 tunas per eksplan (I1M1-M1) dan I2M1-M1 (1 tunas per eksplan).

Peningkatan BAP umumnya meningkatkan jumlah total tunas, tetapi jumlah tunas yang terlalu banyak akan mendorong pada penurunan mutu tunas (tunas kecil-kecil,

tunas tidak normal, daun roset, vitrous). Shirani *et al.* (2009) menyatakan bahwa pada *Musa* spp sitokinin tinggi merangsang pembelahan sel, mendorong proliferasi tunas dan diferensiasi tunas adventif.

*Morfogenesis Planlet*

Morfogenesis merupakan proses pembesaran tunas membentuk struktur organ tanaman (tinggi tanaman/batang, daun dan akar). Pada fase tersebut perlu diingat bahwa pilihan terbaik bukan pada perlakuan yang menghasilkan tunas terbanyak, tetapi pada rasio perbanyakannya yang cukup tinggi dengan mutu tunas terbaik (kelayakan tunas) (Kasutjaningati, 2004).

Multiplikasi tunas pisang Rajabulu berpotensi menghasilkan planlet berukuran sedang. Planlet ukuran sedang kurang viabel untuk aklimatisasi. Pertumbuhan tunas harus diarahkan pada pembesaran planlet. Hasil analisis (Tabel 5) menunjukkan subkultur tunas ke media MS0 (M0-M0, M1-M0, M2-M0, M3-M0) memberikan total tunas lebih tinggi dibandingkan dengan subkultur ke media yang sama (M1-M1, M2-M2), berbeda nyata. Subkultur tunas pisang Rajabulu dari media berZPT ke MS0 (M2-M0 adalah 4 tunas; M1-M0 adalah 3.1 tunas) mampu menghasilkan tunas berukuran besar (>3 cm) lebih banyak dibandingkan dengan subkultur ke media berZPT sama (M2-M2 adalah 1.3 tunas; M1-M1 adalah 2.2 tunas).

Memenuhi morfogenesis planlet pisang Rajabulu menjadi viabel (mampu diaklimatisasi) perlu penurunan level rasio sitokinin/auksin tunas untuk mengarahkan pertumbuhan regenerasi dari fase pembelahan sel ke arah pembesaran dan pemanjangan sel, pemanjangan tunas. Tunas-tunas hasil dari tahap multiplikasi disubkultur ke media lain yang mengandung sitokinin sangat rendah (M3-M1; M2-M1) atau tanpa sitokinin (M3-M0; M2-M0; M1-M0). Setelah planlet cukup panjang dapat diteruskan dengan tahap pengakaran dan aklimatisasi. Hal ini sejalan dengan hasil yang dilaporkan oleh Haq dan Dahot (2007) yang menyatakan bahwa morfogenesis tunas ke arah pertumbuhan tunas yang viabel dan vigor perlu perubahan komposisi media dan waktu pengkulturan media yang sesuai jenis pisang dan konsentrasi ZPT.

Tabel 4. Pengaruh sumber eksplan dan subkultur ke media multiplikasi yang sama terhadap jumlah tunas pisang Tanduk (4 MST)

| Media asal sumber eksplan  | Media multiplikasi | Jumlah tunas per eksplan |        |       |        |
|--|--------------------|--------------------------|--------|-------|--------|
|  |                    | Kecil                    | Sedang | Besar | Total  |
| I1 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> )                               | M1-M1              | 10.1c                    | 1.1    | 1.9a  | 13.1c  |
|  | M2-M2              | 20.3a                    | 1.3    | 0.4c  | 22.0a  |
|  | M3-M3              | 16.9ab                   | 1.0    | 0.1c  | 18.0ab |
| I2 (BA 2 mg L <sup>-1</sup> + IAA 3 mg L <sup>-1</sup> + TDZ 0.09 mg L <sup>-1</sup> ) | M1-M1              | 12.8b                    | 2.3    | 1.0b  | 16.1bc |
|  | M2-M2              | 15.2ab                   | 2.8    | 0.1c  | 18.2ab |
|  | M3-M3              | 15.8ab                   | 1.4    | 0.0c  | 17.3b  |

Keterangan: M1-M1 (subkultur dari perlakuan media M1 ke M1), dst. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom variabel yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf α = 5%. (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ )

Karakter tunas pisang Tanduk hasil multiplikasi berbeda dengan tunas pisang Rajabulu, lebih banyak menghasilkan tunas kecil. Sehingga untuk morfogenesis perlu perlakuan khusus untuk mengarahkan keseimbangan rasio auksin/sitokinin tunas. Pada pisang Tanduk tunas berukuran besar banyak terbentuk pada media M0-M0

(Tabel 6). Penurunan level sitokinin dan mengarahkan pertumbuhan regenerasi perlu dilakukan untuk meningkatkan tunas berukuran besar. Tunas yang berasal dari media berZPT selanjutnya disubkultur dahulu ke media M0 (M3-M0; M2-M0; M1-M0), selanjutnya disubkultur lagi ke MS0 (M0M0).

Tabel 5. Pengaruh subkultur ke media multiplikasi yang sama atau ke media M0 terhadap kemampuan morfogenesis tunas pisang Rajabulu (4 MST)

| Media multiplikasi | Jumlah tunas per eksplan |        |       |       |
|--------------------|--------------------------|--------|-------|-------|
|                    | Kecil                    | Sedang | Besar | Total |
| M0-M0              | 5.3a                     | 2.1b   | 1.2c  | 8.6ab |
| M1-M0              | 2.6bcd                   | 3.5a   | 3.1ab | 9.1a  |
| M2-M0              | 2.2cd                    | 2.0bc  | 4.0a  | 8.2ab |
| M3-M0              | 3.5b                     | 2.9ab  | 2.4b  | 8.7a  |
| M1-M1              | 1.4d                     | 0.9d   | 2.2b  | 4.4c  |
| M2-M2              | 2.8bc                    | 2.4abc | 1.3c  | 6.5b  |

Keterangan: Media multiplikasi M0-M0 (subkultur dari media M0 ke M0); M3-M0 (subkultur dari media M3 ke M0), dst. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom variabel yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf  $\alpha = 5\%$ . (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ ). M3-M3 data hilang

Tabel 6. Pengaruh subkultur ke media multiplikasi yang sama atau ke media M0 terhadap kemampuan morfogenesis tunas pisang Tanduk (4 MST)

| Media multiplikasi | Jumlah tunas per eksplan |        |       |       |
|--------------------|--------------------------|--------|-------|-------|
|                    | Kecil                    | Sedang | Besar | Total |
| M0-M0              | 1.4b                     | 2.1    | 4.6a  | 8.0   |
| M1-M0              | 8.0ab                    | 2.0    | 1.0b  | 11.0  |
| M2-M0              | 20.0a                    | 1.0    | 0.0b  | 21.0  |
| M3-M0              | 15.5a                    | 2.0    | 0.5b  | 18.0  |
| M1-M1              | 10.1ab                   | 1.1    | 1.9b  | 13.2  |
| M2-M2              | 20.3a                    | 1.3    | 0.4b  | 21.9  |

Keterangan: Media multiplikasi M0-M0 (subkultur dari media M0 ke M0); M3-M0 (subkultur dari media M3 ke M0), dst. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom variabel yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf  $\alpha = 5\%$ . (Data ditransformasi menggunakan  $y' = \sqrt{y+0.5}$ ). M3-M3 data hilang

### KESIMPULAN

Eksplan pisang Rajabulu dan pisang Tanduk yang berasal dari media induksi dengan penambahan TDZ menghasilkan total tunas lebih banyak dibanding yang berasal dari media induksi tanpa TDZ. Media multiplikasi terbaik untuk pisang Rajabulu dan pisang Tanduk adalah media M2 (MS + BA 1 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.25 mg L<sup>-1</sup>) dan M3 (MS + BA 2 mg L<sup>-1</sup> + IAA 0.5 mg L<sup>-1</sup>). Pada pisang Rajabulu dihasilkan tunas berukuran sedang, pada pisang Tanduk dihasilkan tunas berukuran kecil. Penambahan GA3 pada media multiplikasi menghasilkan pertumbuhan tunas yang tidak normal. Pada planlet pisang Rajabulu, untuk mendapat tunas viabel (berukuran besar) eksplan perlu

disubkultur dari media ber-ZPT ke media sitokinin sangat rendah atau tanpa sitokinin. Sedangkan untuk planlet pisang Tanduk, planlet harus disubkultur dari media ber-ZPT ke media tanpa sitokinin, selanjutnya disubkultur lagi ke media MS tanpa ZPT.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas sebagian biaya penelitian kepada RUSNAS Pengembangan Buah-buahan Unggulan Indonesia melalui Pusat Kajian Buah-buahan Tropika IPB; The Indonesian International Education Foundation (Indonesian Scholar Dissertation Award); Sekretariat Badan Litbang Pertanian melalui KKP3T.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinaitwe, G., P.R. Rubaihayo, M.J.S. Magambo. 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. *Sci. Hort.* 86:13-21.
- Ernawati, A., A. Purwito, J.M. Pasaribu. 2005. Perbanyakan tunas mikro pisang Rajabulu (*Musa* AAB Group) dengan eksplan anakan dan jantung. *Bul. Agron.* 33:31-38.
- George E.F., P.D. Sherrington. 1988. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetic Ltd. Eversley, England.
- Gubbuk, H., M. Pekmezcu. 2004. In Vitro Propagation of Some New Banana Types (*Musa* spp.). *Turk. J. Agric.* 28:355-361.
- Haq, I., M.U. Dahot. 2007. Micro-propagation efficiency in banana (*Musa* spp.) under different immersion systems. *Pak. J. Biol. Sci.* 10:726-733.
- Kasutjaningati. 2004. Pembiakan mikro berbagai genotipe pisang (*Musa* spp.) dan potensi bakteri endofitik terhadap layu fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kasutjaningati, R. Poerwanto, N. Khumaida, D. Efendi. 2010. Kemampuan pecah tunas dan kemampuan berbiak mother plant pisang Rajabulu (AAB) dan pisang Tanduk (AAB) dalam medium inisiasi in vitro. *Agriplus* 20:39-46.
- Salisbury, F.B., C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3 (terjemahan). ITB, Bandung.
- Shirani, S., F. Mahdavi, M. Maziah. 2009. Morphological abnormality among regenerated shoots of banana and plantain (*Musa* spp.) after in vitro multiplication with TDZ and BAP from excised shoot tips. *Afr. J. Biotechnol.* 8:5755-5761.
- Thomas, J.C., F.R. Katterman. 1986. Cytokinin activity induced by thidiazuron. *Plant Physiol.* 81:681-683.
- Venkatachalam, L., R.V. Sreedhar, N. Bhagyalakshmi. 2007. Micropropagation in banana using high levels of cytokinins does not involve any genetic changes as revealed by RAPD and ISSR markers. *Plant Growth Regul.* 51:193-205.
- Vuylsteke, D. 1989. Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. IBPGR, Rome.
- Yusnida, B., W. Syafii, Sutrisna, 2006. Pengaruh giberelin (GA3) dan air kelapa terhadap perkecambahan biji angrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara in vitro. *J. Biogenesis* 2:41-46.
- Zaffari, G.R., G.B. Kerbauy, J.E. Kraus, E.C. Romano. 2000. Hormonal and histological studies related in vitro banana bud formation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 63:187-192.