

UJI PERBEDAAN MEDIA DAN KONSENTRASI BAP TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS PISANG RAJA SECARA KULTUR *IN VITRO*

Lucky Prayoga dan Sugiyono

Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRACT

A research with aims of obtaining which better between MS and Gamborg (B5) as the media in raja banana in vitro culture and knowing how much BAP needed in order to gain a most optimal growth of raja banana in in vitro culture. The research has been done in Plant Physiology Laboratory Biology Faculty General Soedirman University from April up to July 2010. Completely Randomized Design has been used with split plot design. As the main plot were media; i.e. MS media (M_1) and Gamborg (B5) media (M_2). As the sub plot were BAP concentration (K); consist of K_0 : 0 μ M, K_1 : 5 μ M, K_2 : 10 μ M, K_3 : 15 μ M, K_4 : 20 μ M and K_5 : 25 μ M. Each treatment repeated three times and each repeating treatments consist of three sub-samples. It could be concluded from the result that raja banana in vitro culture might be done in MS or Gamborg (B5) media. The best concentration of BAP in stimulating the forming and the growth of raja banana shoots in in vitro culture was 15 μ M.

Key words : BAP, Gamborg (B5) medium, MS medium, Raja banana shoot raja

PENDAHULUAN

Tanaman pisang telah dikenal luas di seluruh dunia. Salah satu pemanfaatan tanaman ini ialah diambil buahnya sebagai buah meja. Pisang merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang sangat disukai karena sifatnya yang mudah tumbuh tanpa memerlukan perawatan khusus. Menurut Anwar (2003) pisang mempunyai kandungan gizi yang sangat baik, antara lain menyediakan energi

cukup tinggi yaitu 138 kal/100 g buah segar. Buah pisang kaya akan mineral (kalium, magnesium, fosfor, besi dan kalsium); mengandung vitamin, (C, B kompleks, B6) dan mengandung serotonin yang aktif sebagai neurotransmitter dalam kelancaran fungsi otak.

Menurut Rismunandar (1986) jenis-jenis pisang di seluruh dunia dapat dikelompokkan ke dalam tiga golongan besar; yaitu 1) pisang yang langsung

dimakan buahnya setelah matang, dikenal sebagai pisang meja, seperti *Musa paradisiaca*, *M. acuminata* dan *M. cavendishii*; 2) pisang yang dimakan setelah diolah seperti *Musa paradisiaca forma typica*; dan 3) pisang berbiji (*Musa brachycarpa*) atau disebut juga pisang batu atau pisang klutuk.

Pisang raja adalah salah satu jenis pisang unggul karena dapat dimakan baik segar maupun dalam bentuk olahan dengan rasa dan aroma yang khas. Ketersediaan bibit pisang yang bermutu tinggi, bebas penyakit, seragam, dan dalam jumlah besar adalah masalah umum yang dialami petani pisang untuk meningkatkan produksi pisang guna memenuhi kebutuhan baik dalam negeri maupun ekspor. Perbanyak tanaman pisang secara konvensional dengan bonggol atau anakan akan menghasilkan bibit dalam waktu yang lama, jumlahnya terbatas (satu rumpun hanya menghasilkan 5 – 10 bibit per tahun). Kualitas bibit yang dihasilkan juga rendah karena hama dan penyakit

tanaman akan mudah tersebar (Rahman *et al.*, 2004).

Penyediaan bibit tanaman pisang raja berkualitas unggul dapat dilakukan melalui kultur *in vitro*. Di dalam teknik kultur *in vitro* dikenal beberapa macam media yang telah biasa digunakan untuk menumbuhkan eksplan. Di antara media tersebut yang banyak digunakan ialah media MS (Murashige and Skoog) dan Gamborg (B5). Diketahui bahwa media MS memiliki kandungan unsur hara baik makro maupun mikro lebih lengkap bila dibandingkan dengan media dasar lain dan dapat digunakan untuk menumbuhkan hampir semua jenis tanaman (Pierik, 1987).

Media Gamborg (B5) adalah media yang pada awalnya banyak digunakan untuk menumbuhkan tanaman monokotil. Namun, sekarang media ini terbukti dapat digunakan pula untuk tanaman dikotil. Secara umum media ini memiliki kandungan garam mineral yang lebih rendah daripada media MS. Rendahnya kandungan garam mineral ini ternyata memberikan

respon yang baik pada beberapa spesies tanaman (Thorpe, 1981; Dixon, 1985). Oleh karena itu, untuk kultur *in vitro* pisang raja perlu diketahui media yang lebih tepat di antara kedua media tersebut.

Zat pengatur tumbuh merupakan komponen media yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan eksplan sangat terhambat bahkan mungkin tidak terjadi pertumbuhan sama sekali (Brotosisworo, 1990; Rahardja, 1990; Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk merangsang perbanyakan tunas ialah zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin. Salah satu jenis sitokinin sintetik adalah 6-benzil aminopurin (BAP) yang memiliki berat molekul 225,2 dan aktif mendorong pertumbuhan tunas (Noogle dan Fritz, 1989). BAP bersifat sangat aktif meskipun dalam konsentrasi rendah, stabil pada larutan encer, sangat mudah diserap, mudah

ditranslokasikan, mudah disimpan, dan mudah dimetabolisasi (Bertell dan Eliason, 1992).

Dari beberapa penelitian mengenai kultur *in vitro* diketahui bahwa penambahan 4,0 mg/l BAP (setara dengan 15 μ M) dan 1 mg/l Kinetin pada media MS menghasilkan pertumbuhan tunas tunggal paling baik pada pisang meja (*Musa sapientum* cv. *Chini champa* dan *sagar*) dalam waktu 15 – 21 hari (Habiba *et al.*, 2002). Untuk merangsang pertumbuhan tunas tanaman melon diperlukan 10 μ M BAP (Hardijati, 1997). Menurut Pierik (1987), BAP biasanya digunakan pada kisaran konsentrasi 0,1 – 1,0 μ M. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi BAP di atas 1,0 μ M dapat memberikan dukungan optimal bagi pembentukan tunas tanaman yang dibudidayakan secara kultur *in vitro*. Untuk merangsang pembentukan tunas pisang raja dalam kultur *in vitro* perlu diteliti besaran konsentrasi BAP yang paling optimal.

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui media yang lebih tepat di antara media MS dan media Gamborg (B5) sebagai media kultur *in vitro* pisang raja dan konsentrasi optimal BAP untuk merangsang pembentukan tunas pisang raja dalam kultur *in vitro*

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Biologi Unsoed dari April hingga Juli 2010. Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola perlakuan petak terpisah (*split plot*). Sebagai petak utama digunakan jenis media (M), yaitu media MS (M_1) dan media Gamborg (B5) (M_2). Sebagai anak petak digunakan konsentrasi BAP (K); yang meliputi K_0 : 0 μ M, K_1 : 5 μ M, K_2 : 10 μ M, K_3 : 15 μ M, K_4 : 20 μ M dan K_5 : 25 μ M. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang tiga kali dan masing-masing ulangan terdiri atas tiga sub sampel. Variabel yang diamati meliputi saat muncul tunas, jumlah tunas yang

terbentuk, panjang tunas dan jumlah daun.

Pengambilan sampel dilakukan melalui pengamatan setiap hari diikuti pencatatan saat muncul tunas dengan memperhatikan timbulnya tonjolan berwarna hijau muda. Pada akhir penelitian dihitung jumlah tunas yang terbentuk di sekeliling tunas utama. Penghitungan dilakukan dengan mengeluarkan eksplan secara aseptis dalam *laminar air flow cabinet*. Masing-masing tunas yang terbentuk dipisahkan dari tunas utama dan kemudian diukur panjangnya dari pangkal sampai dengan ujung tunas. Jumlah daun pada tiap tunas dihitung satu per satu. Data panjang tunas dan jumlah daun secara berturut-turut merupakan data rata-rata panjang tunas dan data rata-rata jumlah daun yang terbentuk. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan uji BNT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplan yang ditanam baik pada media MS maupun Gamborg (B5) dengan penambahan BAP dapat tumbuh dengan baik. Pertumbuhan tunas yang baik setelah sub kultur ke dua ditandai dengan peningkatan jumlah tunas baru dan perpanjangan tunas yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa media MS dan Gamborg (B5) dengan penambahan BAP dapat digunakan untuk kultur *in vitro* tunas pisang raja (Gambar 1 dan 2).

Dari hasil sidik ragam diketahui bahwa saat muncul tunas pada kultur dalam media MS dan Gamborg (B5) tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini menunjukkan bahwa kedua media yang digunakan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk menumbuhkan tunas pisang raja secara *in vitro*. Keadaan ini juga menunjukkan bahwa pisang raja bukan merupakan tanaman yang sensitif terhadap perbedaan kandungan hara makro dan mikro pada suatu media. Diketahui bahwa media MS mempunyai



Gambar 1. Tunas yang terbentuk pada media MS



Gambar 2. Tunas yang terbentuk pada media Gamborg (B5)

kandungan ion total, N total, NH_4^+ , NO_3^- , H_2PO_4^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} dan Cl^- yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan media Gamborg (B5). Namun, media MS mengandung ion K^+ dan SO_4^{2-} lebih rendah bila dibandingkan dengan media Gamborg (B5). Perbandingan kandungan ion antara media MS dan media Gamborg (B5) tersaji pada Tabel 1.

Penambahan BAP pada media mempercepat pembentukan tunas mikro secara nyata (Tabel 2). Perlakuan 15 μM BAP merupakan perlakuan yang mendorong pembentukan tunas pisang

raja paling cepat, yaitu rata-rata 28,25 hari.

Menurut Ordas *et al.* (1992), BAP memacu pertumbuhan tunas melalui dua cara; yaitu (1) melalui mekanisme aksi : BAP berinteraksi dengan sisi target substrat untuk merangsang dan menyintesis protein yang selanjutnya akan membentuk tunas dan (2) melalui mode aksi: BAP bekerja melalui pengaturan enzim yang mengatur plastisitas dan elastisitas dinding sel sehingga memungkinkan sel-sel mengalami pembesaran, pembelahan, dan diferensiasi. Pada

Tabel 1. Perbandingan kandungan ion antara media MS dan media Gamborg (B5) dalam mmol/l (Pierik, 1987)

No.	Jenis ion	Media MS	Media Gamborg (B5)
1	N total	60,017	26,756
2	NH_4^+	20,612	2,028
3	NO_3^-	39,405	24,728
4	H_2PO_4^-	1,249	1,087
5	K^+	20,042	25,815
6	Ca^{2+}	2,993	1,163
7	Mg^{2+}	1,501	1,104
8	SO_4^{2-}	1,501	2,028
9	Cl^-	5,986	2,325
	Total	60,188	93,289

penelitian ini diduga penambahan BAP sampai dengan 15 μM mampu merangsang sintesis protein/enzim sehingga memacu pembelahan dan diferensiasi sel menuju pembentukan tunas.

Hasil sidik ragam untuk jumlah tunas yang terbentuk pada kultur *in vitro* menunjukkan bahwa kedua media yang diteliti tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pisang raja yang terbentuk. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa baik media MS maupun media Gamborg (B5) dapat mendukung pertumbuhan tunas pisang raja secara *in vitro*.

Jumlah tunas pisang raja yang terbentuk pada kultur *in vitro* ditentukan oleh konsentrasi BAP yang diberikan. Penambahan BAP sampai dengan 15 μM mampu memperbanyak jumlah tunas yang terbentuk. Penambahan BAP lebih dari 15 μM ternyata tidak mampu menambah jumlah tunas pada kultur *in vitro*. Berdasarkan uji BNT diketahui bahwa penambahan 15 μM BAP merupakan perlakuan terbaik untuk memperbanyak tunas pada kultur *in vitro* pisang raja dengan rata-rata tunas yang terbentuk sebanyak 5,48 tunas. Data tersaji pada Tabel 3.

Tabel 2. Saat muncul tunas

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	62,33	34,00	33,33	27,66	32,00	31,33	36,78 ^a
Gamborg	65,33	36,67	32,33	28,83	31,00	33,67	37,97 ^a
Rataan	63,83 ^d	35,33 ^c	32,83 ^{bc}	28,25 ^a	31,50 ^b	32,50 ^{bc}	(-)

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

(-) : tidak berbeda nyata.

Tabel 3. Jumlah Tunas yang Terbentuk

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	1,33	1,33	2,67	5,51	4,67	2,00	2,92 ^a
Gamborg	1,00	1,33	2,33	5,45	2,33	1,67	2,35 ^a
Rataan	1,17 ^a	1,33 ^a	2,50 ^{bc}	5,48 ^d	3,50 ^c	1,83 ^{ab}	(-)

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

(-) : tidak berbeda nyata.

Menurut Wattimena (1987), sitokinin yang diberikan secara eksogen akan diserap oleh eksplan, kemudian dialirkan melalui xilem ke tempat tunas aksilar. Dengan demikian, tunas aksilar memiliki kandungan sitokinin relatif lebih tinggi daripada jaringan lainnya dan kemudian terangsang untuk membentuk tunas majemuk. Pada penelitian ini, 15 μM BAP cukup optimal untuk bersinergi dengan hormon-hormon alami dalam eksplan pisang raja sehingga dapat meningkatkan kemampuan jaringan tanaman tersebut dalam memacu multiplikasi dan pertumbuhan tunas.

Peningkatan pembentukan tunas baru sejalan dengan konsentrasi BAP yang diberikan sampai dengan aras tertentu. Pada penelitian ini, pemberian BAP sampai dengan 15 μM meningkatkan jumlah tunas. Kadar optimum untuk menghasilkan jumlah tunas terbanyak adalah 15 μM . Pemberian BAP lebih dari 15 μM berpengaruh pada penurunan jumlah tunas yang terbentuk. Kenyataan ini menunjukkan bahwa BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang efektif untuk memacu pembentukan tunas, tetapi kisaran konsentrasinya sempit.

Panjang tunas yang terbentuk pada kultur *in vitro* pisang raja sangat ditentukan oleh konsentrasi BAP yang diberikan. Hasil uji lanjut terhadap data rata-rata panjang tunas menunjukkan bahwa penambahan BAP sampai dengan 20 μM memperpendek ukuran tunas yang terbentuk. Pemberian BAP lebih dari 20 μM ternyata tidak memperpendek panjang tunas yang terbentuk. Hasil uji BNT (Tabel 4) menunjukkan bahwa perlakuan 10 μM BAP menghasilkan panjang tunas terpendek (1,21 cm).

Dua media berbeda yang digunakan pada penelitian ini tidak menghasilkan perbedaan nyata pada jumlah daun yang terbentuk. Dengan

demikian, baik media MS maupun media Gamborg (B5) dapat digunakan untuk melakukan kultur *in vitro* pisang raja.

Jumlah daun yang terbentuk dipengaruhi secara nyata oleh konsentrasi BAP yang ditambahkan. Penambahan konsentrasi BAP sampai dengan 15 μM cenderung menurunkan jumlah daun yang terbentuk. Hasil uji BNT yang disajikan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa penambahan BAP menurunkan jumlah daun secara nyata bila dibandingkan dengan kontrol, kecuali pada penambahan BAP 20 μM . Hasil analisis tersebut juga menunjukkan bahwa 15 μM BAP menghasilkan jumlah daun paling sedikit (1,03 daun).

Tabel 4. Panjang Tunas yang Terbentuk

Media	BAP (μM)						Rataa
	0	5	10	15	20	25	n
MS	2,90	2,12	1,41	1,52	2,90	1,77	2,10 ^a
Gamborg	2,33	1,67	1,02	1,12	2,47	2,13	1,79 ^a
Rataan	2,62 ^{de}	1,90 ^{ac}	1,22 ^a	1,32 ^{ab}	2,69 ^e	1,95 ^{bcd}	(-)

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

(-) : tidak berbeda nyata.

Tabel 5. Jumlah Daun yang Terbentuk

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	2,60	1,83	1,25	1,00	1,67	2,00	1,73 ^a
Gamborg	2,00	1,50	1,77	1,07	0,92	1,50	1,46 ^a
Rataan	2,30 ^d	1,67 ^{bc}	1,51 ^{ac}	1,03 ^a	1,29 ^{ab}	1,75 ^{bcd}	(-)

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

(-) : tidak berbeda nyata.

Dari keseluruhan pengamatan terhadap variabel yang diteliti dapat diketahui bahwa pembentukan dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* pisang raja dipengaruhi oleh konsentrasi BAP yang ditambahkan. Diketahui pula bahwa konsentrasi BAP 15 μM merupakan perlakuan terbaik untuk memacu pembentukan dan pertumbuhan tunas pisang raja pada kultur *in vitro*.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kultur *in vitro* pisang raja dapat dilakukan baik menggunakan media MS maupun media Gamborg (B5). Konsentrasi BAP terbaik untuk memacu pembentukan dan pertumbuhan tunas pisang raja dalam kultur *in vitro* adalah 15 μM .

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, F. 2003. Pisang Membuat Otak Segar.
 URL: <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi>. 16 September 2004.
- Bertell, G. and L. Eliason. 1992. Cytokinin effect on root growth and possible interaction with ethylene and indole-3-acetic acid. *Physiologia Plantarum*, 4(2):pp255-261.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Brotoisworo, S. 1990. *Kultur Jaringan Tumbuhan I*. PAU-Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Dixon, R.A. 1985. Isolation and Maintenance of Callus and Cell Suspension Cultures *in* Dixon, R.A. (ed)., 1985. *Plant Cell Culture a Practical Approach*. IRL Press, Oxford: 1-20.

- Habiba, U., S. Reza, M.L. Saha, M.R. Khan, dan S. Hadiuzzaman. 2002. Endogenous bacterial contamination during in vitro culture of table banana: identification and prevention. *Plant Tissue Culture* 12(2): 117-124.
- Hardijati, T. 1997. Laporan Hasil Penelitian: *Upaya meningkatkan kadar alkaloid pada kultur kalus Catbarantus roseus melalui penambahan zat pengatur tumbuh auksin*. Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.
- Herdaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Kanisius, Yogyakarta.
- Noogle, G.R. and G.J. Fritz. 1989. *Introductory Plant Physiology*. Prentice Hall. Engle Wood Cliff, New York.
- Ordas, R.J., B. Fernandez, and R. Rodriques. 1992. Benzyladenin controlled protein synthesis and growth in apple cell suspension. *Physiologia Plantarum*, 84 (2):229-235.
- Pierik, R.L.M., 1987. *In vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhaf Publisher, Dorroocht. The Netherland.
- Rahardja, P.C., 1990. *Kultur Jaringan Teknik Perbanyakan Secara Modern*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rahman, M.Z., K.M. Nasirudin, M.A. Amin, and M.N. Islam. 2004. *In vitro* response and shoot multiplication of banana with BAP and NAA. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(4):406-409.
- Rismunandar, 1986. *Bertanam Pisang*. Penerbit C.V. Sinar Baru, Bandung.
- Thorpe, T.A. 1981. *Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture*. Academic Press, New York.
- Wattimena, G.A. 1987. *Diklat Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB, Bogor.