

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Tanaman Pisang (*Musa sp.*)

Tanaman pisang (*Musa sp.*) termasuk pada komoditas tanaman hortikultura, pisang berasal dari daerah Asia Tenggara yang sudah tersebar di dunia yang memiliki iklim tropis dan subtropis termasuk Indonesia (Suyanti dan Supriyadi, 2008). Menurut pemaparan Wibowo (2009) bahwa lebih dari 200 kultivar pisang ada di Indonesia, dengan jumlah kultivar yang banyak menjadikan pisang sebagai komoditas buah unggulan. Tanaman ini memiliki ciri yang khas batang berupa bonggol yang berada di dalam tanah, batang semu yang berlapis, bentuk daun yang seperti lembaran yang lebar serta bunga dan buah yang tersusun dalam sisiran tandan.

Kandungan dalam tanaman pisang berupa provitamin A berupa beta karoten sebanyak 45 mg dalam 100 g berat kering, vitamin B berupa tiamin, riboflavin, niacin, dan piridoksin sebesar 0,5 mg. Selain itu pisang juga mengandung mineral yaitu kalium yang diperkirakan menyumbang 440 mg. Dalam tubuh manusia kalium berfungsi untuk kesehatan jantung, tekanan darah, menjaga keseimbangan air dalam tubuh, serta membantu pengiriman oksigen ke otak (Suyanti dan Supriyadi, 2008).

Terdapat tiga jenis tanaman pisang di Indonesia yaitu pisang hias, pisang serat dan pisang buah yang banyak dikonsumsi dan bernilai ekonomi tinggi. Pisang yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan digemari masyarakat yaitu Ambon Kuning (AAA), Ambon Lumut (AAA), Ambon Putih (AAA), Barangan (AAA), Raja (AAB), Kepok (ABB), Tanduk (AAB), Badak, dan Nangka (Cahyono, 2009). Menurut Satuha dan Supriyadi (2010), tanaman pisang berasal dari Asia Selatan dan Asia Pasifik, penyebarannya hingga kini sangat luas terlebih ke negara beriklim tropis dan subtropis. Pisang Tanduk merupakan salah satu pisang yang memiliki buah berukuran besar. Pisang Tanduk mempunyai bentuk seperti tanduk, panjang, melengkung, berkulit tebal berwarna kuning tua bertotol hitam atau merah, penampang buah bersegi empat atau lima.

Pisang Tanduk pada umumnya mempunyai dua atau tiga sisir dalam satu tandan, Daging buah Pisang Tanduk mempunyai warna yang beragam, ada yang orange, kuning atau putih krem (Yusnita, 2013). Tanaman pisang dapat tumbuh dengan baik pada daerah beriklim tropis basah dengan 2 bulan kering dan memiliki curah hujan 1.520-3.800 mm/tahun. Pisang dapat tumbuh dengan tanah yang memiliki drainase baik, kaya akan humus dan ketersediaan air yang cukup. Tanaman ini termasuk toleran terhadap kekeringan serta mampu hidup pada dataran tinggi hingga 2.000 mdpl. Suhu yang optimum untuk pertumbuhannya berkisar 27°C dengan suhu maksimumnya mencapai 38°C (Prihatman, 2000).

2.2. Klasifikasi dan Botani Pisang

Klasifikasi pisang secara umum menurut Suyanti dan Supriyadi (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Monocotyledone
Subkelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i> Linn.

Semua tanaman tingkat tinggi, termasuk pisang merupakan organisme multisel artinya tersusun atas banyak sel. Sel-sel yang struktur dan fungsinya sama membentuk jaringan. Jaringan yang berbeda-beda membentuk organ. Organ yang berbeda-beda membentuk tanaman. Tanaman utuh terdiri atas organ akar, batang, cabang atau ranting, daun, bunga, dan buah. Organ daun terdiri atas jaringan epidermis, palisade, dan bunga karang yang masing-masing tersusun atas sel-sel yang struktur dan fungsinya sama (Yusnita, 2015).

Secara umum, tanaman pada dasarnya terdiri atas sistem tajuk dan sistem akar. Sistem tajuk adalah bagian tanaman yang berada di atas permukaan tanah,

berhubungan secara langsung dengan atmosfer, sedangkan sistem akar adalah bagian tanaman yang berada di dalam tanah. Sistem tajuk terdiri atas batang, cabang dan ranting, daun, bunga, dan buah (Ismariati, 2010).

Daun pisang dibentuk dari meristem yang ada pada bonggol (rhizom). Struktur daun pisang terdiri atas lembaran daun (lamina), tangkai daun, dan pelepah daun. Kumpulan pelepah daun membentuk suatu struktur silindris yang disebut dengan batang semu. Lamina daun pisang dibentuk oleh meristem. Pada awalnya lamina berbentuk gulungan, lalu terdorong ke atas oleh pembentukan jaringan pelepah daun di bagian bawah, lalu gulungan membuka menjadi lembaran sehingga menjadi lebih efektif untuk menangkap cahaya (Robinson, 2010).

Daun (pelepah, tangkai, dan lamina) dibentuk dari meristem pada bonggol. Pembentukan dimulai dari dalam. Daun demi daun dibentuk ke arah luar. Dengan demikian daun yang terluar adalah yang paling tua. Semakin tua semakin sempit atau semakin kecil ukuran laminanya. Dengan kata lain, daun-daun yang muncul berikutnya mempunyai ukuran lamina yang lebih besar. Lamina daun paling besar adalah daun yang muncul terakhir pada saat menjelang berbunga. Jika dilihat perkembangan pelepah daunnya, maka pelepah yang lebih dulu terbentuk mula-mula melingkar membentuk batang semu secara penuh. Tetapi karena didorong dari dalam oleh pelepah-pelepah yang tumbuh kemudian, maka pelepah bagian luar menjadi tidak lagi melingkar secara penuh. Maka jika dibuka satu demi satu, pelepah-pelepah daun tampak melengkung secara transversal (Ismariati, 2010).

Tanaman pisang terdiri atas sistem tajuk dan sistem akar. Namun berbeda dari tanaman pada umumnya, batang pisang yang sebenarnya tidak terletak di bagian atas permukaan tanah. Dalam botani, batang pisang disebut rhizom, yang dengan istilah keseharian dinamakan bonggol. Bonggol pisang adalah batang dikarenakan pada bonggol yang menopang daun. Struktur daun pisang yang biasanya orang katakan batang itu bukan batang pisang, tetapi disebut dengan batang semu (*pseudostem*). Diujung batang semu terdapat tangkai daun kemudian daun. Ketika tanaman pisang memulai masa reproduktif. Sel meristem yang ada di tengah bonggol, bergerak melalui batang semu dan berkembang menjadi bunga kemudian keluar dari batang semu dengan penampakan tandan buah (Yusnita, 2015).

2.3. Pisang Varietas Tanduk

Pisang Tanduk merupakan varietas yang memiliki ukuran terbesar dalam komoditas pisang. Varietas ini memiliki panjang buah berkisar antara 25-40 cm, lebar 6-12 cm, dan diameter 4.4-4.8 cm. Umumnya dalam satu tandan pisang tanduk, terdapat 1-3 sisir yang dipelihara dengan dengan jumlah sebanyak 6-10 buah dalam tiap sisirnya. Pisang Tanduk memiliki bobot buah 300-320g per buah, dan memiliki potensi hasil 15 kg per tandannya. Pisang ini memiliki kulit berwarna hijau muda saat mentah dan berubah menjadi kuning pada tahap pematangan dengan kadar beta karoten sebesar 0.71mg per 100g. Pisang Tanduk yang matang memiliki daging buah berwarna oranye dengan tekstur halus dan derajat kemanisan sebesar 31- 33° brix. Pisang Tanduk merupakan buah yang tidak mengenal musim, sehingga tersedia sepanjang tahun di pasaran pisang Tanduk dapat segera dipanen dalam usia 124-139 hari setelah bunga mekar. Pada usia ini, buah Pisang Tanduk memiliki kandungan pati sebesar 30-33% dan kandungan asam sebesar 0.13-0.16% (Sutriana, 2018).



Gambar 1. Pisang Tanduk

Berat tandan jumlah sisir per tandan, berat buah, jumlah buah per sisir, persentase buah dan kulit, dipengaruhi oleh varietas pisang dan letak buah dalam satu tandan. Bervariasinya ukuran tandan pada varietas yang sama, dapat disebabkan perbedaan lingkungan tumbuh masing-masing tanaman pisang. Pada lingkungan yang baik (cukup nutrisi dan air) tanaman pisang tumbuh subur dan dapat menghasilkan tandan yang besar. Disamping aspek lingkungan, keberagaman ukuran buah pisang dalam satu tandan juga dipengaruhi oleh letak sisir, biasanya makin ke ujung, ukuran buah pisang akan makin kecil dan jumlah buah per sisir akan makin sedikit (Sutriana, 2018).

Pisang Tanduk dapat ditanam pada berbagai jenis tanah, terutama baik pada tanah aluvial dan gambut dangkal. Pisang ini membutuhkan lereng yang tidak curam karena cukup rentan terhadap kerusakan angin bila ditanam pada daerah perbukitan. Varietas pisang tanduk hanya bisa dipanen sekali selama satu musim tanam. Penanaman kembali harus dilakukan untuk mendapatkan panen pada musim berikutnya. Pisang Tanduk atau lebih dikenal di daerah lumajang dengan nama Pisang Agung (*Musa acuminata* var. *Typica*, AAB group) merupakan salah satu jenis pisang golongan yang diunggulkan (Sutriana, 2018).

2.4. Pisang Varietas Mas Kirana

Salah satu sentra budidaya pisang berada di Jawa Timur, yaitu di Kabupaten Lumajang, tepatnya di Desa Kandang Tepus, Kecamatan Senduro, Kabupaten Lumajang. Jenis pisang yang menjadi komoditas unggulan dari daerah ini adalah Pisang Agung dan Pisang Mas Kirana. Penghargaan yang didapatkan oleh pemerintah Kabupaten Lumajang berkaitan dengan Pisang Mas Kirana ini antara lain sertifikat Prima-3 untuk kategori produk buah segar tahun 2009. Surat Keputusan Nomor 188.45/406/427.12/2006 tentang Pisang Mas Kirana sebagai produk andalan Kabupaten Lumajang. SK Menteri Pertanian Nomor: 516/Kpts/SR/120/12/2005, sebagai varietas unggulan daerah. Penghargaan dari *Good Agricultural Practice* (GAP) dari Union Belanda tahun 2013 (Nawangsih, 2018).



Gambar 2. Pisang Mas Kirana

Menurut Nawangsih (2018), di Kabupaten Lumajang Jawa Timur ditemukan pisang Mas Kirana yang hanya tumbuh di lereng Gunung Semeru dengan

ketinggian 3.676 meter dari permukaan laut (mdpl), sehingga tidak ditemukan di daerah lain. Varietas Pisang Mas Kirana, biasanya digunakan sebagai buah meja, rasanya manis, bentuk pisangnya menarik, dengan aroma yang harum. Produsen Pisang Mas Kirana di Kabupaten Lumajang, membagi pisang berdasarkan jenis kategori kualitasnya. Untuk jenis pisang kualitas B, di jual di pasar tradisional. Sedangkan jenis pisang dengan kualitas A, disalurkan ke distributor untuk kemudian dijual ke pasar swalayan di kota-kota besar di seluruh Jawa Timur bahkan Indonesia.

Keunggulan yang dimiliki oleh produk pisang Mas Kirana baik secara kompetitif maupun komparatif diharapkan nantinya mampu memberikan dampak yang positif bagi kemajuan bidang pertanian pada khususnya dan peningkatan perekonomian masyarakat pada umumnya. Perkembangan yang terjadi di lapangan menunjukkan bahwa masih terdapat kendala terkait dengan pembibitan tanaman Pisang Mas Kirana, dimana pemasaran bibit Pisang Mas Kirana harga jualnya lebih murah, jika dibandingkan dengan pemasaran buah pisang Mas Kirana itu sendiri. Sehingga banyak konsumen yang justru lebih tertarik untuk membeli bibitnya dibandingkan membeli buahnya, sedangkan untuk kegiatan pengolahan atau budidaya yang dilakukan masih belum ada standarisasi khusus di kalangan petani, Pisang Mas Kirana hanya berfungsi sebagai tanaman pekarangan atau tanaman pelindung yang bisa digabung dengan jenis tanaman lain yang berbeda varietasnya atau tumpang sari, Pisang Mas Kirana bukan digunakan sebagai tanaman utama yang memang hanya difokuskan untuk pisang, sehingga hasil panen petani tidak bisa maksimal, karena buah yang dihasilkan tidak terstandar baik dari segi ukuran, maupun bentuk buah yang dihasilkan. Pisang Mas Kirana memiliki kandungan 99 kalori, 1,2 g protein, 0,2 g lemak, 25,8 mg karbohidrat, 0,7 g serat, 8 mg fosfor, 0,5 mg besi, vitamin A 44 RE, vitamin B 0,08 mg, vitamin C sebanyak 3 mg dan air 72 g. Pisang Mas Kirana selain dapat dikonsumsi sebagai buah segar dapat juga dikonsumsi sebagai produk olahan seperti keripik pisang dan selai pisang (Nawangsih, 2018).

Produktivitas tanaman ditentukan oleh interaksi antara lingkungan dan faktor genetik. Faktor lingkungan dapat dimodifikasi dengan memperhitungkan efisiensi pengelolaannya dengan pengaturan jarak tanam, penggunaan bibit, dan pemupukan

yang sesuai, sehingga tanaman dapat berproduksi dengan optimal. Faktor genetik pisang bergantung pada varietas yang ditanam dengan karakter masing-masing. Salah satu varietas pisang yang cukup potensial adalah Mas Kirana. Pisang tersebut memiliki keunggulan dibandingkan pisang lain yakni produktivitas tinggi, bentuk buah bulat berisi (gilig), lingir buah hampir tidak tampak, kulit buah berwarna kuning bersih, dan daging buah berwarna kuning cerah dengan rasa manis legit. Bentuk buah yang cukup menarik dan rasa manis yang dimiliki pisang Mas Kirana, memberikan daya tarik tersendiri bagi para konsumen. Sehingga wajar bila varietas Pisang Mas Kirana telah dipasarkan keluar daerah Lumajang, bahkan pernah diekspor ke mancanegara seperti Singapura, China, Jepang, dan Taiwan. Produksi pisang di Kabupaten Lumajang, telah memberikan keuntungan besar bagi masyarakat setempat, dan berhasil mengantarkan kabupaten Lumajang dikenal dunia karena potensi pisang (Bank Indonesia, 2013).

2.5. Teknik Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan

Kultur jaringan didefinisikan sebagai suatu teknik menumbuhkan kembang bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*, yang dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2015). Perbanyak secara kultur jaringan akan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu, kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit (Andaryani, 2010).

Metode kultur *in vitro* dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu singkat dan tidak membutuhkan tempat yang luas, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyak secara konvensional, mempunyai sifat identik dengan induknya (Fatmawati, 2008).

Kultur jaringan pisang yang banyak dikenal adalah kultur dengan eksplan bonggol (Nisa dan Rodinah, 2005). Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat ditempuh melalui dua jalur, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Jalur embriogenesis somatik di masa mendatang lebih mendapat perhatian karena bibit dapat berasal dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak dibandingkan melalui jalur organogenesis (Lestari, 2011).

Kultur *in vitro* termasuk teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif buatan berdasar sifat totipotensi tumbuhan. Totipotensi adalah kemampuan sel tanaman untuk tumbuh menjadi organ baru meskipun sudah tua. Teknik kultur *in vitro* dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi, meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar, penggunaan medium yang cocok, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik terutama untuk kultur cair. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem misalnya daun muda, ujung batang, keping biji, dan sebagainya (Andaryani, 2010).

Kondisi fisiologis eksplan memiliki peranan penting bagi keberhasilan teknik kultur jaringan. Eksplan yang mengalami stagnasi sampai akhir pengamatan tidak menunjukkan pertumbuhan. Stagnasi merupakan suatu keadaan eksplan dimana eksplan tersebut tidak mati tetapi tidak tumbuh dari mulai tanam sampai kurun waktu tertentu. Stagnasi pada eksplan diduga karena faktor dari media yang digunakan (Zulkarnain, 2009). Hal ini sejalan dengan pendapat Arimarsetiowati (2012), yang menyatakan bahwa media dapat menjadi penyebab terjadinya stagnasi pertumbuhan, karena dari kondisi media suatu sel dapat atau tidak terdorong melakukan proses pembelahan. Selain media, faktor lain yang menyebabkan stagnasi pada eksplan diduga yaitu umur eksplan yang digunakan.

Dormansi adalah suatu kondisi untuk mempertahankan hidup dari lingkungan yang tidak menguntungkan dan dapat terjadi pada jamur maupun bakteri sebagai kontaminan utama pada permukaan jaringan eksplan (*exogenously dormant*) maupun di dalam jaringan eksplan (*endogenously dormant*) (Jones & Lennon, 2010). Lingkungan tidak menguntungkan dalam hal ini adalah akibat proses-proses sterilisasi senyawa-senyawa kimia sterilan. Kontaminan dapat tumbuh cepat atau lambat berkaitan dengan dormansi. Kontaminan akan berkembang cepat secara

kompetitif pada lingkungan kultur yang mempunyai ketersediaan nutrisi tinggi, dan akan berkembang lambat menggunakan strategi anabiosis (pengurangan metabolisme sel pada waktu tertentu saat keadaan lingkungan tidak menguntungkan) selama mengalami dormansi (Putri, 2017).

Tahapan kultur jaringan meliputi inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar (pengakaran), dan aklimatisasi. Kegiatan inisiasi meliputi persiapan eksplan, sterilisasi eksplan hingga mendapatkan eksplan yang bebas dari mikroorganisme kontaminan. Multiplikasi merupakan tahap perbanyakan eksplan dengan subkultur (pemindahan eksplan dalam media baru yang berisi Zat Pengatur Tumbuh) secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok bahan tanaman (eksplan). Pengakaran merupakan kegiatan terakhir sebelum planlet dipindahkan ke kondisi luar. Aklimatisasi ialah proses pemindahan/pengadaptasian planlet dari kondisi *in vitro* ke kondisi luar/lapangan (Kumar *et al.*, 2011)

2.6. Faktor Yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan Tumbuhan

Berhasilnya kultur jaringan banyak ditentukan oleh media tanam yang dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, salah satunya yaitu pH, cahaya, temperatur, sterilisasi, dan pemilihan eksplan. Faktor lain yang mempengaruhi pembelahan yang menyebabkan faktor genetik lebih dominan terhadap pembelahan tunas dan akar. Media tanam pada kultur jaringan berisi kombinasi dari asam amino esensial, garam-garam anorganik, vitamin-vitamin, larutan buffer, dan sumber energi (glukosa). Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media. Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya (Tuhuteru *et al.*, 2012).

Keasaman pH merupakan faktor lingkungan eksplan yang sangat menentukan. Pertumbuhan sel memerlukan pH yang digunakan antara 5-6 (Katuuk, 1989). Manfaat pH dalam media yaitu untuk membantu penyerapan unsur hara dan menjaga kestabilan membran sel dalam mengatur garam-garam agar tetap dalam bentuk terlarut (George dan Sherrington, 1984). Apabila pH terlalu tinggi dapat

dilakukan penurunan pH dengan menambahkan HCl dan jika terlalu rendah dapat ditambahkan NaOH (0,1-1,0 M) untuk meningkatkan pH (Pierik, 1987). Tingkat keasaman (pH) media harus diatur supaya tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH sitoplasma (Gunawan, 1987). Pengaturan pH media selain memperhatikan kepentingan fisiologi sel, juga harus mempertimbangkan faktor-faktor: 1) Kelarutan dari garam-garam penyusun media, 2) Pengambilan dari zat pengatur tumbuh dan garam-garam lain, 3) Efisiensi pembekuan agar (Gunawan, 1987). Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pH optimum spesifik setiap tanaman. Namun secara umum dapat dikatakan bahwa kebanyakan bagian tanaman, tumbuh dengan baik pada media yang mengandung buffer lemah pada pH antara 5-6 (Wetherell, 1982). Keberhasilan kultur jaringan juga dipengaruhi oleh keasaman media. Keasaman media ditetapkan antara 5,6-5,8 karena pH yang tinggi menyebabkan unsur-unsur seperti besi, seng, mangan, tembaga, dan boron mengalami presipitasi sebagai hidroksida sehingga tidak tersedia bagi jaringan yang dikulturkan, sedangkan pada pH rendah, unsur-unsur seperti kalsium, belerang, fosfor, dan molibdat menjadi tidak tersedia (Zulkarnain, 2009). Apabila pH dalam media terlalu rendah atau tinggi, akan menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi terhambat (Davey & Anthony, 2010).

Temperatur yang baik untuk pertumbuhan tanaman dalam *in vitro* antara 25-28^oC yang merupakan suhu ruangan normal. Temperatur ruang kultur juga menentukan respon fisiologi kultur dan kecepatan pertumbuhannya. Ukuran eksplan yang dikulturkan turut menentukan keberhasilan dari suatu teknik kultur jaringan. Ukuran eksplan yang terlalu kecil akan kurang daya tahannya bila dikulturkan, sedangkan bila ukurannya terlalu besar akan sulit didapatkan eksplan yang steril (Gunawan, 1998). Mariska dan Sukmadjaja (2003) juga menambahkan ukuran eksplan yang dapat digunakan dalam teknik kultur jaringan bervariasi dari ukuran mikroskopik 0,1-5 cm.

Tipe eksplan merupakan faktor yang penting dalam mengoptimalkan pelaksanaan kultur jaringan. Tipe eksplan seperti tunas pucuk, tunas ketiak (aksilar), akar, mata tunas, daun, embrio, dan bakal biji akan memberikan perbedaan yang signifikan pada pertumbuhan eksplan (Jabeen *et al.*, 2005). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan kandungan hormon pada masing-masing bagian

eksplan (Kumar *et al.*, 2011). Varietas eksplan juga merupakan faktor yang penting dalam mempengaruhi regenerasi eksplan (Michel *et al.*, 2008).

Peluang keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi juga oleh umur tanaman. Semakin muda tanaman, maka akan semakin besar keberhasilan dalam kultur jaringan. Jaringan muda (*juvenile*) memiliki sel-sel yang aktif membelah dengan kecepatan pembelahan sel yang tinggi sehingga jaringan muda merupakan bahan eksplan yang baik. Respon eksplan akan menurun seiring pertambahan umur eksplan (Naughmouchi *et al.*, 2008).

Budidaya tanaman pisang dengan cara kultur jaringan terkadang mengalami masalah berupa terjadinya kontaminasi yang menyebabkan pertumbuhan planlet pisang menjadi terhambat hingga mati (Karjadi *et al.*, 2008). Kontaminasi pada kultur jaringan dapat disebabkan oleh jamur atau bakteri yang berasal dari beberapa faktor pembawa, antara lain kondisi planlet, lingkungan tempat *transplanting*, peralatan, atau orang yang melakukan pekerjaan *transplanting* (Nisa *et al.*, 2018).

Beberapa sumber kontaminasi mikroorganisme pada sistem kultur jaringan, adalah: (1) media, (2) lingkungan kerja yang kurang steril dan pelaksanaan penanaman yang kurang hati-hati dan kurang teliti, (3) eksplan, secara internal (kontaminan terbawa di dalam jaringan tanaman), (4) eksplan, secara eksternal (kontaminan berada di permukaan eksplan akibat prosedur sterilisasi yang kurang sempurna, (5) serangga atau hewan kecil yang masuk ke botol kultur setelah diletakkan pada ruang kultur. Beberapa jenis mikroorganisme melepaskan senyawa beracun ke dalam medium kultur yang dapat menyebabkan kematian eksplan (Zulkarnain, 2009). Kontaminasi pada media tanam dan peralatan kerja dapat dihilangkan dengan cara sterilisasi menggunakan *autoclave* sedangkan lingkungan kerja maupun ruangan inkubasi dilakukan sterilisasi dengan menyemprotkan alkohol atau formalin pada ruangan. Eksplan dari lapang biasanya mengandung banyak kontaminan, debu dan kotoran kotoran, untuk menghilangkan kontaminan tersebut diperlukan bahan sterilisasi misalnya NaClO, hidrogen peroksida, *bromine water* dan silver nitrat. Penggunaan bahan sterilan pada sterilisasi eksplan juga harus diperhatikan. Konsentrasi bahan sterilan yang rendah membuat eksplan rentan terhadap patogen, namun semakin tinggi konsentrasi bahan sterilan maka akan menghambat perkembangan jaringan eksplan (Rismayani, 2010).

Faktor eksplan yang penting adalah genotipe, kondisi fisiologis, umur, dan ukuran tanaman (Zulkarnain, 2009). Eksplan yang ditanam pada media tumbuh yang tepat dapat beregenerasi melalui proses organogenesis dan embriogenesis (Alitalia, 2008). Organogenesis adalah suatu proses berkembangnya pucuk atau akar adventif, sedangkan embriogenesis adalah proses perkembangan embrio lengkap dari sel-sel vegetatif atau sel-sel somatik yang diperoleh dari berbagai sumber eksplan (Zulkarnain, 2009). Faktor-faktor lingkungan memiliki pengaruh yang sangat besar bagi pertumbuhan dan perkembangan eksplan meliputi suhu ruangan, cahaya, karbondioksida, oksigen, etilen dan kelembaban. Suhu memberikan manfaat bagi pertumbuhan *in vitro* sejumlah besar spesies berkisar antara 25-28°C. Cahaya meliputi panjang gelombang, kerapatan flux, dan fotoperiodisitas sangat penting bagi pertumbuhan dan morfologis tanaman pada kultur *in vitro*. Karbondioksida, uap air, dan konsentrasi gas etilen ruangan dipengaruhi oleh tutup wadah kultur yang mempengaruhi pertukaran udara. Kelembaban relatif di dalam ruang kultur sekitar 70%, namun kebutuhan kelembaban di dalam wadah kultur mendekati 90% (Zulkarnain, 2009).

2.7. Media Dasar Dalam Kultur Jaringan

Media pertumbuhan memiliki peranan penting dalam perkembangan tanaman kultur jaringan. Variasi media dasar seperti media *Nitsch and Nitsch*, media B5, media Gamborg telah banyak digunakan namun, media *Murashige and Skoog* (MS) adalah jenis media yang banyak digunakan. Hal itu terbukti dengan banyaknya tanaman yang bisa beradaptasi dengan media MS tersebut (Kumar & Reddy, 2011).

Penggunaan media dasar yang tepat merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan dalam perbanyakan bibit menggunakan teknik kultur jaringan sehingga dapat diperoleh hasil yang optimum (Imelda, 2018). Media MS telah banyak digunakan dalam kultur jaringan. Media MS ini merupakan media yang memiliki unsur hara makro dan mikro yang lebih lengkap dibandingkan dengan penemuan-penemuan sebelumnya. Media tanam kultur jaringan yang sering digunakan adalah media MS. Medium MS dapat diaplikasikan pada sejumlah besar spesies (Jafari *et al.*, 2011).

Media pertumbuhan *Murashige and Skoog* (MS) merupakan media pertumbuhan yang banyak digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Hal itu karena media MS memberikan respon fisiologis yang baik terhadap berbagai jenis eksplan tanaman, sehingga mampu tumbuh dan beradaptasi. Media ini mengandung garam mineral yang tinggi jika dibandingkan dengan formulasi jenis media pertumbuhan yang lain, mengandung tinggi nitrogen, kalium, beberapa nutrisi mikro terutama boron dan mangan (Uche *et al.*, 2016)

Keunggulan media MS merupakan media yang paling cocok dan paling banyak digunakan dalam kultur jaringan dasar dimana berfungsi dengan baik dalam regenerasi jaringan dengan penambahan PPM. PPM (*Plant Preservative Mixture*) merupakan biosida spektrum luas yang sangat efektif mencegah atau menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada kultur jaringan. Penggunaan biosida dengan dosis yang optimum sangat efektif dan tidak mempengaruhi regenerasi tanaman. Media pertumbuhan dapat disiapkan dengan mencampurkan stok bahan media atau menggunakan media yang instan. Tingkat pH diatur hingga mencapai 5,8 dengan ditambahkan NaOH apabila pH masih asam dan ditambahkan HCl apabila pH masih basa sehingga tercapai pH media 5,8. Agar yang digunakan sebanyak 8 hingga 10g/l. Media pertumbuhan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121⁰ selama 20 menit (Kumar & Loh, 2012).

2.8. Sterilisasi

Dalam rangkaian kegiatan teknik kultur jaringan mencegah dan menghindari kontaminasi sangat diperlukan. Aspek ini sangat menentukan keberhasilan dalam perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan. Sterilisasi dilakukan untuk mencegah dan menghindari kontaminasi. Sterilisasi tersebut tidak hanya dilakukan terhadap bahan eksplan tetapi juga terhadap bahan dan peralatan, serta ruangan yang digunakan. Proses sterilisasi bahan eksplan sangat penting dilakukan dalam kultur jaringan dimana proses ini bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan yang dapat menimbulkan kontaminasi sehingga menghambat pertumbuhan eksplan menjadi tanaman utuh. Banyak bahan desinfektan yang dapat digunakan untuk sterilisasi media dalam

kultur jaringan, diantaranya yang umum dikenal adalah HgCl₂ dan NaClO (Suratman, 2013).

Menurut Wijaya (2007) Beberapa teknik sterilisasi yang lazim digunakan dalam kultur jaringan tanaman, yaitu:

a. Sterilisasi panas basah

Cara sterilisasi panas basah adalah dengan menggunakan uap air. Alat yang digunakan untuk sterilisasi ini ialah autoklaf. Hampir semua mikroba mati sesudah diberi uap air dengan suhu 121°C selama 10-15 menit. Cara sterilisasi ini dapat digunakan untuk mensterilkan media kultur, air, alat/instrumen, gelas serta peralatan plastik yang tahan akan suhu panas. Lama sterilisasi ada aturannya, untuk mensterilkan media 20-75 ml dibutuhkan media 500-5000 ml dibutuhkan waktu 25-35 menit, yang semuanya dilakukan pada suhu 121°C.

Manfaat dari sterilisasi adalah prosesnya cepat, sederhana, dan sanggup membasmi virus tertentu. Namun autoklaf juga mempunyai kekurangan, yaitu:

- 1) Bila pemanasan terlalu tinggi, gula akan membatu sehingga dapat menjadi racun dalam media.
- 2) Bila terlalu lama disterilkan, garam akan mengendap sehingga terjadi dipolimerisasi agar.
- 3) Dapat menurunkan pH sekitar 0,3 - 0,5 unit.
- 4) Dapat merusak substansi yang mudah menguap, misalnya *ethrel* dan *ethylene* (Katuuk, 1989).

b. Sterilisasi panas kering

Cara sterilisasi panas kering adalah dengan menggunakan suhu tinggi dan dalam kondisi kering. Alat yang digunakan untuk sterilisasi ini ialah oven. Oven digunakan untuk mensterilkan alat- alat yang tidak mudah terbakar, antara lain; alat-alat gelas dan alat-alat dari logam. Namun dalam keadaan tertentu dimana suhu tidak terlalu panas, alat dapat dibungkus dengan kertas kemudian disterilkan. Bukan pula berarti semua alat dari bahan logam harus disterilkan dengan cara ini. Alat-alat seperti pisau serta skalpel tidak dapat disterilkan dengan cara ini sebab dapat merusak ketajaman pisau / alat. Lama pemanasan tergantung pada suhu. Biasanya sterilisasi untuk suhu 160°C, memerlukan waktu 45 menit, 170°C-18 menit, 180°C-7,5 menit, dan 190°C selama 1,5 menit. Suhu harus dikontrol, sebab pada suhu

170°C, kertas mulai hancur. Setelah selesai disterilisasi, alat/instrumen dikeluarkan dan dibawa ke ruang transfer, dimana mereka dapat disterilkan lagi dengan menggunakan sinar ultraviolet.

c. Sterilisasi dengan pemijaran

Alat /instrumen berupa pisau dan skalpel, dikeluarkan dari bungkusnya, dicelupkan dalam etanol 70% dan dilewatkan pada nyala lampu spiritus. Setiap beberapa saat instrument harus dicelupkan ke dalam etanol kemudian dibakar. Perlakuan ini berjalan terus selama kegiatan inokulasi yang berlangsung di dalam kotak transfer (LAF).

d. Sterilisasi dengan bahan kimia

Sterilisasi dengan bahan kimia merupakan pembasmian mikroba dengan jalan memakai bahan kimia. Biasanya bahan kimia dipakai untuk mensterilkan permukaan saja, yang meliputi: material tanaman dapat disterilkan dengan menggunakan natrium hipoklorit, perak nitrat atau air brom, sedangkan instrumen, tangan pekerja, serta kotak transfer dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Katuuk, 1989). Banyak jenis bahan pencuci yang boleh digunakan untuk sterilisasi material tanaman. Jenis serta lamanya sterilisasi tergantung pada kepekaan material tanaman. Banyak kali terjadi bila terlalu lama dan dengan konsentrasi bahan pencuci yang tinggi, berakibat bukannya mematikan mikroba tetapi bahkan merusak jaringan tanaman yang disterilkan. Di samping itu bahan pencuci hendaknya bersifat lebih mudah larut. Bila tidak demikian, sisa zat pencuci akan tetap pada material tanaman, yang dapat mengganggu pertumbuhan eksplan.

e. Sterilisasi dengan sinar ultraviolet

Ruang dan kotak transfer sukar untuk disterilkan hanya dengan menggosok dengan alkohol atau bahan kimia pada permukaan. Untuk itu digunakan lampu germisidal dengan sinar ultraviolet. Ada laboratorium yang sudah memasangnya di langit-langit atau pada tempat lain dengan maksud agar semua bagian terkena cahaya. Kelemahan menggunakan sinar ultraviolet adalah pada tempat-tempat yang tidak terkena cahaya proses sterilisasi tidak terjadi. Selain itu, sinar ultraviolet hanya mampu mematikan bentuk fertilisasi bakteri dan jamur, bukan bentuk spora.

Jika suatu eksplan ditanam pada medium padat atau dalam medium cair yang sesuai, dalam waktu 2 – 4 minggu, tergantung spesiesnya akan terbentuk massa

kalus yaitu suatu massa amorf yang tersusun atas sel-sel parenkim berding sel tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan induk (Yuwono, 2006).

2.9. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Setiap tanaman dapat menghasilkan hormon pertumbuhan secara alami, namun biasanya hormon tersebut masih kurang untuk mendukung pembentukan organ atau aktifitas pertumbuhan lainnya, oleh karena itu dalam kultur jaringan biasanya ditambahkan hormon eksogen untuk mendukung kinerja hormon endogen yang telah dihasilkan secara alami oleh tanaman (Ngomuo *et al.*, 2014). Dalam dunia pertanian penggunaan hormon (Fitohormon) tumbuh atau dikenal dengan istilah ZPT merupakan faktor pendukung yang dapat memberikan kontribusi besar dalam keberhasilan budidaya pertanian. ZPT dalam kadar kecil mampu menimbulkan suatu reaksi atau tanggapan baik secara biokimia, fisiologis, maupun morfologis yang berfungsi untuk mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Untuk membantu perangsangan akar digunakan zat pengatur tumbuh (Dewi, 2008). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik yang bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Untuk mendapatkan hasil perbanyakan bibit yang baik selain perlu memperhatikan media tumbuh, diperlukan ZPT untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangannya. Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam teknik kultur jaringan ini disesuaikan dengan arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan, karena perbedaan konsentrasi pemberian zat pengatur tumbuh menyebabkan pertumbuhan yang berbeda pada tanaman (Zulkarnain, 2009).

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Zulkarnain, 2009). Rosmaina (2011) menambahkan peran sitokinin bagi tanaman adalah memacu pembelahan sel dan pembentukan organ, menunda penuaan, meningkatkan aktivitas wadah penampung hara, memacu perkembangan kuncup samping tumbuhan dikotil, dan memacu perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil. Peran sitokinin pada tanaman secara langsung adalah dalam proses transkripsi dan translasi RNA dalam proses sintesis protein yang

berlangsung dalam tahap interfase. Proses translasi RNA dilanjutkan dengan pembentukan asam-asam amino yang merupakan komponen dasar protein. Protein yang terbentuk antara lain berupa enzim-enzim yang berperan dalam pembelahan sel, yaitu enzim polimerase DNA yang berperan dalam memperbaiki kesalahan penyusunan basa nitrogen pada rantai DNA dan enzim ligase yang berperan dalam menggabungkan fragmen – fragmen DNA yang terputus-putus saat proses replikasi DNA berlangsung. Ketersediaan enzim – enzim ini di dalam sel menyebabkan proses pembelahan sel tanaman menjadi lebih efektif.

Thidiazuron merupakan bahan aktif yang terdokumentasi sebagai jenis ZPT sitokinin *derivat phenyl-urea* dengan aktivitas sitokinin lebih tinggi dibandingkan sitokinin tipe adenin, seperti *benzyladenine* (BA), kinetin, *isopentenyl adenine* atau 2-iP pada konsentrasi yang lebih rendah (Yusnita, 2015). Zat ini dikenal sebagai zat pengatur tumbuh pada berbagai macam jenis tanaman secara *in vitro*, zat ini memiliki kemampuan dalam membantu menginduksi kalus sampai pembentukan embrio somatik. George (2008) mengungkapkan bahwa TDZ merupakan jenis ZPT sitokinin yang lebih efektif daripada sitokinin jenis adenin dalam membantu menginduksi respon morfogenik tanaman. Pada konsentrasi rendah (kurang dari 1 μ M), TDZ menginduksi proliferasi lebih besar dari tunas ketiak dibandingkan dengan sitokinin lainnya. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, TDZ merangsang pembentukan kalus, tunas atau embrio somatik (Lee, 2005).