

**PENGARUH MEDIA DAN KONSENTRASI BAP TERHADAP
PERTUMBUHAN TUNAS MIKRO PISANG RAJA
SECARA *IN VITRO***
*(The Influences of Media and BAP Concentrations on Raja Banana
Microshoots Growth In Vitro)*

Lucky Prayoga
Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRACT

A research of the influence of media and BAP concentrations on raja banana micro shoots growth has been carried out from November 2005 until July 2006. During the research, a split plot design has been used. The main plot was the kind of media; i.e. MS and Gamborg. The sub plot was BAP concentrations (K); i.e. 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. On the plantlet formation, a factorial treatment pattern on CRD has been used. The result showed that both MS and Gamborg media could be used in planting raja banana micro shoots. The best growth of the micro shoots appeared with the addition of 15 μ M BAP into the media.

Key words : Raja banana, culture media, BAP.

PENDAHULUAN

Pisang raja merupakan salah satu jenis pisang yang disukai konsumen, karena rasanya manis dengan aroma khas. Pisang ini dikonsumsi sebagai buah meja dan di Daerah Jawa digunakan pula sebagai pelengkap upacara adat. Untuk memenuhi kebutuhan konsumen, diperlukan ketersediaan pisang raja setiap hari dalam jumlah cukup banyak. Masalah umum yang dialami petani pisang dalam meningkatkan produksi

pisang raja untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri maupun ekspor ialah ketersediaan bibit yang bermutu tinggi, bebas penyakit dan seragam dalam jumlah besar. Perbanyak tanaman pisang secara konvensional dengan bonggol atau anakan akan menghasilkan bibit dalam waktu relative lama dan dengan jumlah terbatas (satu rumpun pisang hanya menghasilkan 5 – 10 bibit per tahun). Kualitas bibit yang dihasilkan juga rendah, karena hama dan penyakit

tanaman akan mudah tersebar. Akibatnya produksi buah menurun dan kualitas produk menjadi sangat rendah (Rahman *et al.*, 2004).

Upaya untuk memenuhi permintaan akan ketersediaan bibit pisang raja dalam jumlah relatif besar secara serempak dengan kualitas baik, sehat dan bebas penyakit ialah melalui kultur jaringan tanaman (kultur *in vitro*) atau disebut juga mikropropagasi. Mantell *et al.* (1985) menyatakan bahwa mikropropagasi dilakukan dengan cara memotong jaringan menjadi berukuran kecil dan kemudian menanamnya pada media buatan secara aseptis; sehingga akan didapatkan klon tanaman, yaitu sekelompok tanaman yang mempunyai sifat genetic seragam. Teknik mikropropagasi berpotensi besar untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif, terutama tanaman yang memiliki nilai ekonomi penting (Biondi dan Thorpe, 1981).

Dalam kultur jaringan, induksi tunas mikro merupakan cara untuk mendapatkan meristem tanaman dalam jumlah banyak. Tunas mikro

merupakan tunas lateral dan berukuran kecil dan membentuk rumpun yang mudah dipisahkan menjadi tunas-tunas umumnya lebih cepat menghasilkan propagul dibandingkan dengan perangsangan pertumbuhan tunas apikal, dengan tetap menjamin dihasilkannya tanaman *true-to-type*, karena tunas mikro berasal dari mata tunas aksilar yang sudah ada pada eksplan (Yusnita, 2003).

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam keadaan *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor yang sangat kompleks. Faktor-faktor tersebut ialah (1) bahan tanaman dan komposisi genetiknya; (2) nutrisi seperti air, garam-garam makro dan mikro, gula sebagai sumber karbon; (3) faktor fisik pembiakan seperti cahaya, suhu, pH, konsentrasi O₂ dan konsentrasi CO₂; (4) substansi organik seperti hormon dan vitamin (Pierik, 1987).

Keberhasilan kultur jaringan sangat tergantung pada media yang digunakan. Setiap tanaman memerlukan media tumbuh yang berbeda atau

membutuhkan komposisi dan konsentrasi komponen media yang berbeda (Bonga dan Von Anderkas, 1992). Banyak penelitian menunjukkan bahwa media dasar Murashige and Skoog (MS) berpengaruh baik untuk kultur jaringan beberapa jenis tanaman. Menurut Narayanaswamy (1994), media MS mengandung nitrat, amonium dan kalsium lebih tinggi daripada kebanyakan media lain. Menurut Preece (1993), konsentrasi ammonium yang tinggi dapat mempengaruhi pembentukan tunas *in vitro* dengan cara meningkatkan system sitokinin. Nitrat dan kalsium yang terkandung berpengaruh dalam mendukung pertumbuhan tunas. Media Gamborg (B5) secara umum memiliki kandungan garam mineral lebih rendah daripada kandungan pada media MS. Beberapa species tanaman memberikan respon yang baik terhadap rendahnya kandungan garam mineral pada media ini (Thorpe, 1981; Dixon, 1985). Dari kedua media kultur jaringan tersebut di atas, perlu diketahui pengaruhnya

masing-masing dalam mikropropagasi pisang raja.

Salah satu zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin, ialah 6-benzyl aminopurine (BAP) yang aktif mendorong pertumbuhan tunas (Noogle dan Fritz, 1989). BAP telah banyak digunakan untuk mikropropagasi tanaman. Secara spesifik, perlu diteliti besaran konsentrasi BAP yang berpengaruh terbaik terhadap pertumbuhan tunas mikro pisang raja.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman dari November 2005 sampai dengan Juli 2006. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan pola perlakuan petak terpisah (*Split plot*). Sebagai main plot ialah jenis media, yaitu media MS dan media Gamborg (B5). Sebagai sub-plot ialah konsentrasi BAP (K); yaitu K₀: 0 μ M, K₁: 5 μ M, K₂: 10 μ M, K₃: 15 μ M, K₄: 20 μ M dan

K₅: 25 μ M. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang tiga kali dan masing-masing ulangan terdiri dari tiga sub-sampel.

Variabel yang diamati adalah waktu pembentukan tunas dan pertumbuhan tunas mikro pisang raja yang parameternya meliputi jumlah tunas yang terbentuk, panjang tunas dan jumlah daun. Pengukuran saat muncul tunas dilakukan setiap hari dengan cara mengamati dan mencatat kemunculan tunas mikro, yang ditandai oleh timbulnya tonjolan berwarna hijau muda. Pada akhir penelitian, eksplan dikeluarkan secara aseptis di dalam laminair Air Flow Cabinet dan dihitung jumlah tunas mikro yang terbentuk di sekeliling tunas utama. Masing-masing tunas mikro kemudian dipisahkan dari tunas utama dan diukur panjangnya mulai dari pangkal sampai ujung tunas. Jumlah daun pada masing-masing tunas dihitung dan dicatat. Data panjang daun dan jumlah daun merupakan data rata-rata panjang seluruh tunas mikro dan rata-rata jumlah seluruh daun yang terbentuk. Data yang diperoleh

dianalisis dengan analisis ragam (Annova), dilanjutkan dengan uji BNT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara visual tampak bahwa eksplan yang ditanam pada media MS maupun media Gamborg (B5) tanpa penambahan BAP dapat tumbuh dan membentuk tunas mikro (Gambar 1 dan 2). Tunas mikro yang terbentuk dapat tumbuh dengan baik, dengan adanya penambahan jumlah tunas baru dan perpanjangan tunas. Demikian pula pada media MS maupun Gamborg yang ditambah BAP terlihat adanya pertumbuhan tunas. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua media tersebut dapat digunakan untuk kultur *in vitro* tunas pisang raja.

Hasil analisis ragam terhadap hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara media MS dan media Gamborg dalam menghasilkan induksi dan pertumbuhan tunas. Hasil analisis ragam terhadap saat muncul tunas menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara media MS dan media

Gamborg. Dengan demikian media MS dan Gamborg keduanya dapat digunakan sebagai media kultur *in vitro* pisang raja. Hal ini menunjukkan pula bahwa pisang raja bukanlah tanaman yang sensitif terhadap perbedaan komposisi hara makro dan mikro pada media pertumbuhan; karena media MS mempunyai kandungan ion total, N total, NH_4^+ , NO_3^- , H_2PO_4^- , Ca^+ , Mg^{2+} dan Cl^- lebih tinggi dari yang terkandung dalam media Gamborg; sedangkan kandungan ion K^+ dan SO_4^{2-} lebih rendah dari kandungan dalam media Gamborg. Perbandingan komposisi kedua media ini tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi media MS dan media Gamborg (B5)

Bahan Kimia	Media MS (1962)	Media Gamborg (B5)
NH_4NO_3	1650	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		134
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	246
KNO_3	1900	2528
KH_2PO_4	170	
NaH_2PO_4		150
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,025	150
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,5	37,2
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8	27,8
H_3BO_3	6,2	3
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,075
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$		10
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	
KI	0,83	0,8
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	1,5
Asam nikotinat	0,5	1,0
Piridoksin HCl	0,5	1,0
Thiamin HCl	0,1	10,0
Phytigel	2,5	2,5
Sukrosa	20.000	20.000
Mioinositol	100	100
Casein hidrolizate	3.000	3.000
Akuadestilata	750 ml.	750 ml.

Sumber : Thorpe, 1981; Dixon, 1985; Pierik, 1987.

Waktu munculnya tunas dipengaruhi oleh BAP. Penambahan pada BAP pada media mempercepat pembentukan tunas mikro secara signifikan (Tabel 2). Penambahan 15 μM BAP mendorong pembentukan tercepat tunas mikro pada pisang raja, yaitu dengan rata-rata 27,67 hari. Pada eksplan kontrol (tanpa penambahan BAP), tunas mikro baru muncul setelah rata-rata 63,83 hari. Hasil analisis regresi menunjukkan bahwa kemunculan tunas mikro semakin cepat dengan adanya peningkatan konsentrasi BAP yang ditambahkan sampai kadar 16,59 μM ; di atas konsentrasi tersebut, kemunculan tunas mikro melambat.

Menurut Ordas *et al.* (1992), BAP memacu pertumbuhan tunas dengan dua mekanisme yaitu : (1) mekanisme aksi: BAP akan berinteraksi

dengan sisi target dari substrat untuk merangsang dan mensintesis protein yang selanjutnya akan membentuk tunas; (2) mode aksi: BAP bekerja melalui pengaturan enzim yang mengatur plastisitas dan elastisitas dinding sel, sehingga memungkinkan sel-sel mengalami pembesaran, pembelahan dan diferensiasi. Oleh karena itu, pada penelitian ini ditunjukkan bahwa penambahan BAP sampai 16,59 μM mampu merangsang sintesis protein/enzim sehingga akan memacu pembelahan dan diferensiasi sel menuju pembentukan tunas. Penambahan BAP di atas 16,59 μM justru memperlambat sintesis protein atau enzim yang berperan pada pembelahan dan diferensiasi sel.

Tabel 2. Waktu Muncul Tunas Mikro

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	65,33	36,67	32,33	28,33	31,00	33,67	37,89 ^a
Gamborg	62,33	34,00	33,33	27,00	32,00	31,33	36,67 ^a
Rataan	63,83 ^d	35,33 ^c	32,83 ^{bc}	27,67 ^a	31,50 ^b	32,50 ^{bc}	(-)

Penambahan BAP sampai 15 μM mampu memperbanyak jumlah tunas mikro pisang raja. Penambahan BAP di atas konsentrasi tersebut tidak dapat menambah jumlah tunas mikro pisang raja. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan K3 (15 μM BAP) merupakan perlakuan terbaik untuk memperbanyak tunas mikro pisang raja dengan rata-rata tunas yang terbentuk sebesar 5,67 tunas mikro (Tabel 3). Berdasarkan perhitungan regresi diketahui bahwa konsentrasi optimum BAP untuk menghasilkan jumlah tunas terbanyak adalah 14,88 μM .

Menurut Wattimena (1987), sitokinin yang diberikan secara eksogen akan diserap oleh eksplan, kemudian dialirkan melalui *xylem* ke tempat tunas aksilar sehingga tunas aksilar memiliki

kandungan sitokinin lebih tinggi. Hal ini merangsang pembentukan tunas majemuk. Pada penelitian ini, BAP dengan konsentrasi 14,88 μM diduga sesuai untuk bersinergi dengan hormon-hormon alami yang terdapat dalam tanaman sehingga meningkatkan kemampuan jaringan dalam memacu multiplikasi dan pertumbuhan tunas.

Menurut Abidin (1983) dan Wilkins (1989), pertumbuhan tunas aksilar dipengaruhi oleh penurunan dominasi apikal akibat adanya BAP. BAP mampu menurunkan efek dominansi apikal sehingga terjadi pertumbuhan ke samping yang memungkinkan tunas-tunas mikro tumbuh dan berkembang. BAP memacu proses pembentukan tunas sesuai dengan fungsi sitokinin, yaitu merangsang pembelahan sel tanaman.

Tabel 3. Jumlah Tunas Mikro

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	1,00	1,33	2,33	5,67	2,33	2,00	2,44 ^a
Gamborg	1,33	1,33	2,67	5,67	4,67	1,67	2,89 ^a
Rataan	1,17 ^a	1,33 ^a	2,50 ^{bc}	5,67 ^d	3,50 ^c	1,83 ^{ab}	(\bar{c})

Ordas *et al.* (1992) menambahkan bahwa BAP berperan dalam peningkatan material hidup sel melalui dua titik control, yaitu merangsang metabolisme dan sintesis protein. BAP memacu pembentukan organ sub-seluler seperti mitokhondria, aparat golgi, reticulum endoplasma yang kemudian berdampak pada peningkatan pembentukan sunstansi-substansi dinding sel baru dan energi untuk pembelahan sel berikutnya (Wareing dan Phillips, 1981; Bertell dan Eliasson, 1992). Dalam sintesis protein, BAP berperan dalam peningkatan proses transkripsi di dalam inti sel dengan cara merangsang kerja enzim RNA polymerase; sedangkan pada proses translasi, BAP berperan dalam merangsang pembentukan poliribosom yang sangat menentukan laju sintesis protein (Ordas *et al.*, 1992).

Pada penelitian ini, media yang digunakan tidak berpengaruh nyata terhadap panjang tunas mikro pisang raja yang terbentuk. Penambahan BAP sampai 20 μM memperpendek panjang tunas mikro yang terbentuk. Pada penambahan BAP lebih dari 20 μM ternyata tidak berpengaruh terhadap panjang tunas mikro yang terbentuk. Uji Beda Nyata Terkecil menunjukkan bahwa perlakuan 10 μM BAP menghasilkan panjang tunas terpendek (1,21 cm). Data tersaji pada Tabel 4.

Bhojwani dan Razdan (1983) mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP yang ditambahkan pada media kultur menghasilkan pertambahan jumlah tunas yang terbentuk, namun ukuran panjangnya berkurang. Fenomena tersebut terjadi karena BAP lebih berperan dalam memacu pembelahan sel dan

Tabel 4. Panjang Tunas Mikro

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	2,33	1,17	1,02	1,11	2,47	2,13	1,71 ^a
Gamborg	2,90	2,12	1,41	1,53	2,90	1,77	2,10 ^a
Rataan	2,62 ^{de}	1,64 ^{ac}	1,21 ^a	1,32 ^{ab}	2,68 ^e	1,95 ^{bcd}	(-)

Tabel 5. Jumlah Daun yang Terbentuk pada Tunas Mikro

Media	BAP (μM)						Rataan
	0	5	10	15	20	25	
MS	2,00	1,50	1,77	1,07	1,67	1,50	1,58 ^a
Gamborg	2,60	1,83	1,25	1,00	0,92	2,00	1,60 ^a
Rataan	2,30 ^d	1,67 ^{bc}	1,51 ^{ac}	1,03 ^a	1,29 ^{ab}	1,75 ^{bcd}	(-)

diferensiasinya menuju pembentukan tunas, tetapi tidak berpengaruh terhadap perpanjangan tunas.

Kedua media yang diteliti tidak memberikan perbedaan nyata terhadap jumlah daun pada tunas mikro yang terbentuk. Jumlah daun yang terbentuk hanya dipengaruhi oleh BAP yang ditambahkan. Peningkatan BAP sampai 15 μM cenderung menurunkan jumlah daun yang terbentuk pada tunas mikro. Pada Tabel 5 disajikan hasil Uji Beda Nyata Terkecil yang menunjukkan bahwa penambahan BAP menurunkan jumlah daun yang berbeda nyata dengan kontrol, kecuali pada perlakuan K_4 . Hasil analisis tersebut juga menunjukkan bahwa perlakuan 15 μM BAP menghasilkan daun paling sedikit (1,03 daun).

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kultur *in vitro* pisang raja dapat dilakukan pada media dasar MS maupun Gamborg (B5). Konsentrasi BAP terbaik untuk memacu induksi dan pertumbuhan tunas mikro pisang raja adalah 15 μM . Konsentrasi optimum BAP untuk mendukung saat muncul tunas adalah 16,59 μM dan untuk mendukung jumlah tunas adalah 14,88 μM .

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.

- Biondi, S. and T.A. Thorpe, 1981. *Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture*. Academic Press, Inc., New York.
- Bonga, J.M. and P. Von Anderkas. 1992. *In vitro Culture of Trees*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- 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.
- Mantell, S.H.; J.A. Matthews and R.A. Mc Kee. 1985. *Principles of Plant Biotechnology; An Introduction to Genetic Engineering in Plant*. Blackwell Scientific Publishing, London.
- Narayanaswamy, S. 1994. *Plant cell and tissue culture*. McGraw-hill Publisher Company Limited, New Delhi.
- 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.
- Preece, J.E. and Sutter E.G., 1993. Acclimation of micropropagated to the green house and field in *Micropropagation technology and application*. Deberg, P.C. and R.H. Zimmerman (eds.). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Rahman, M.Z.; K.M. Nasiruddin; 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.
- Thorpe, T.A., 1981. *Plant Tissue Culture: Methods and Application in Agriculture*. Academic Press, New York.
- Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips, 1981. *The Control of Growth and Differentiation in Plant*. Pergamon Press, Oxford.
- Wattimena, G.A., 1987. *Diktat Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Wilkins, M.B., 1989. *Advanced Plant Physiology*. Longway Scientific and Technology Compublisher in US with. U.S.A.

Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien*. Agromedia Pustaka, Jakarta.