

Sterilisasi Eksplan Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) melalui Teknik *In Vitro* dengan Perlakuan Lama Perendaman dan konsentrasi Klorok

Sterilization of Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.)
through In Vitro Technique with Soaking Time Treatment
and Cloroc Concentration

Lukman¹⁾ dan Maryami²⁾

¹⁾Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Malikussaleh
Kampus Cot Teungku Nie, Reuleut, Muara Batu Aceh Utara 24355, Indonesia

²⁾Balai Penyuluhan Pertanian Aron, Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluhan Kabupaten Aceh Utara,
Provinsi Aceh
Email:

Diterima 5 Agustus 2014; Dipublikasi 1 September 2014

Abstrak

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui lama perendaman dan konsentrasi klorok terhadap sterilisasi eksplan pisang barangan melalui teknik in vitro. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh Lhokseumawe. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor yang diteliti yaitu konserntasi klorok dan lama perendaman eksplan dalam klorok yaitu: P1 = 5 menit perendaman dalam klorok, P2 = 10 menit perendaman dalam klorok, P3 = 15 menit perendaman dalam klorok, dan P4 = 20 menit perendaman dalam klorok. Faktor kedua yaitu Konsentrasi klorok (K) yang terdiri dari K1 = 10 % klorok, K2 = 20 % klorok dan K3 = 30 % klorok. Terdapat 12 perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 36 unit percobaan, dan setiap unit percobaan ditanam 3 eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama perendaman berkorelasi positif dengan konsentrasi klorok, semakin pekat larutan klorok yang digunakan dalam batas tertentu maka semakin singkat waktu untuk melakukan sterilisasi. Perendaman klorok pada konsentrasi 10 % waktu yang diperlukan adalah 20 menit, konsentrasi klorok 20 % waktu yang diperlukan 10 menit dan konsentrasi klorok 30 % waktu yang diperlukan perendaman 5 menit.

Kata kunci: pisang (*Musa paradisiaca* L.), sterilisasi, in vitro, perendaman

Abstract

The purpose of the study was to determine the immersion time and cloroc concentration of the sterilization explants pisang barangan (*Musa paradisiaca* L.), through in vitro techniques. This research was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Agriculture, Malikussaleh University, Lhokseumawe, Aceh Utara, Indonesia. Research arranged on a factorial completely randomized design. Factors studied were cloroc concentration and long soaking explants: 5 minutes immersion (P1), 10 minutes immersion in cloroc (P2), 15 minutes immersion in cloroc (P3), 20 minutes immersion in cloroc (P4), 20 minutes immersion in cloroc. The second factor is the cloroc concentration K1= 10% cloroc, K2 = 20% cloroc and K3 = 30% cloroc. There are 12 treatment was repeated 3 times so that there are 36 experimental units, and each unit of experiment 3 explants grown. The results showed that the soaking time was positively correlated with the cloroc concentration, the more concentrated cloroc used within a certain limit then the shorter the time for sterilization. Soaking in cloroc a concentration of 10% the time required is 20 minutes, the concentration cloroc 20% the time required 10 minutes and 30% concentration cloroc soaking time required is 5 minutes.

Keywords: pisang (*Musa paradisiaca* L.), sterilization, in vitro, and soaking

Pendahuluan

Pisang merupakan komoditas hortikultura yang produksinya menduduki tingkat kedua setelah jeruk. Pisang banyak dikonsumsi masyarakat, karena di dalam buah banyak mengandung karbohidrat, vitamin A, vitamin B6, vitamin C dan mineral seperti potasium dan fosfor. Indonesia merupakan salah satu Negara yang memiliki pisang yang beragam dan lebih dari 100 kultivar tersebar di berbagai wilayah. Pisang yang dibudidayakan sekarang adalah perkembangan dari 2 jenis liarnya yaitu *Musa acuminata* (AA) dan *M. balbisiana* (BB). Dalam pencatatan pasar dunia, kelompok pisang terkenal ialah yang mempunyai susunan gen tripel (AAB dan AAA), bersifat triploid, dan tidak berbiji (partenokarpi) (Sunarjono 2002).

Masalah yang sering terjadi dalam budidaya tanaman pisang antara lain: adanya serangan berbagai macam penyakit seperti layu fusarium, virus dan layu bakteri, sulitnya dilakukan persilangan secara konvensional karena sterilitas bunganya yang tinggi dan sukarnya memperoleh bibit dengan anakan atau bonggol dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat, masalah ini kemudian diatasi dengan mengupayakan genotipe baru yang berkualitas baik dengan pemuliaan tanaman melalui teknik kultur in vitro (kultur jaringan) dan rekayasa genetika.

Bibit merupakan faktor utama yang menentukan keberhasilan agribisnis pisang. Kendala pengadaan bibit unggul secara konvensional adalah sulit mendapatkan bibit yang berkualitas dalam jumlah besar dalam waktu singkat, salah satu keunggulan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan adalah sangat memungkinkan mendapatkan bahan tanaman dalam jumlah besar dalam waktu singkat (Priyono et al., 2000).

Kultur jaringan merupakan pengisolasian bagian tanaman seperti daun, mata tunas serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap). Bibit pisang yang bebas hama dan penyakit perlu dipersiapkan, salah satu caranya adalah perbanyakan dengan teknik in vitro. Keuntungan perbanyakan bibit pisang melalui teknik in vitro antara lain: menghasilkan bibit dalam jumlah banyak,

bermutu seragam dan dalam waktu yang relatif singkat, dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa tergantung musim, bibit bebas hama dan penyakit, kesehatan bibit lebih terjamin, tanaman asal kultur jaringan akan berbuah lebih awal, berkualitas dan seragam/serentak, pengiriman bibit hasil kultur lebih mudah karena volumenya relatif kecil sehingga menjadi lebih ekonomis (Anonymous, 2004).

Keberhasilan perbanyakan tanaman pisang melalui tehnik in vitro sangat tergantung pada eksplan yang steril dan alat-alat yang steril serta lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan eksplan. Sterilisasi eksplan dengan memakai sodium hipoklorit dengan nama dagangnya adalah klorok. Konsentrasi klorok untuk sterilisasi eksplan tergantung dari kelunakan eksplan (Anonymous, 2006).

Hasil penelitian sterilisasi dengan menggunakan klorok yang telah dilakukan menunjukkan persentase keberhasilan yang lebih tinggi, karena peranan klorok untuk sterilisasi eksplan sangat efektif. Keefektifitasan peranan klorok dalam sterilisasi suatu eksplan perlu dipelajari lebih lanjut sehingga kita akan mendapatkan suatu formulasi dalam takaran tertentu dan dalam batasan waktu tertentu yang cukup efektif untuk kegiatan sterilisasi. Penelitian yang dilakukan pada tahap ini adalah mendapatkan satu konsentrasi tertentu dan lama waktu perendaman dalam melakukan sterilisasi eksplan pisang barangan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi klorok dan lama perendaman terhadap sterilitas eksplan pisang barangan melalui teknik in vitro.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh Lhokseumawe. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah bonggol pisang barangan yang memiliki sisir sembilan, yang diambil dari Desa Meunasah Pante Kecamatan Syamtalira Aron Kabupaten Aceh Utara, bahan lain yang digunakan adalah klorok, Benlate, BAP dan NAA. Media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS Padat) yang telah dimodifikasi. Alat yang digunakan adalah Autoclave, timbangan analitik digital, Laminar Air Flow Cabinet, gelas ukur, Erlenmayer, botol kultur, pH meter, kompor, rak kultur, AC, Hotplate, pipet, oven magnetik stirer, kamera digital.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor yang diteliti yaitu lama perendaman eksplan (P) dan konsentrasi klorok (K). Lamanya perendaman (P) terdiri dari empat taraf yaitu: P1 (5 menit perendaman); P2 (10 menit perendaman); P3 (15 menit perendaman); P4 (20 menit perendaman). Konsentrasi klorok (K) terdiri dari 3 taraf yaitu: K1 (10%); K2 (20%); K3 (30%). Kombinasi perlakuan yang didapatkan sebanyak 12 dan masing-masing kombinasi dibuat dalam 3 ulangan, sehingga didapat 36 unit percobaan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan uji-F, Apabila terdapat perbedaan dilakukan uji lanjut Duncan pada taraf 5%.

Pembuatan media dilakukan dengan menggunakan metode Gunawan 1992. Inisiasi merupakan pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan yang diambil adalah bonggol anakan pisang barangan yang dipisahkan dari induknya, kemudian dibersihkan dari kotoran dan dengan menggunakan deterjen dicuci dengan air mengalir sampai bersih.

Eksplan yang sudah bersih dikesilkan sehingga tersisa $\pm 2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ dari pangkalnya, selanjutnya direndam dengan klorok. Lama perendaman dan konsentrasi klorok dilakukan sesuai perlakuan, setiap selesai perendaman eksplan dibilas dengan air steril/aquades sebanyak 5 kali, selanjutnya eksplan dikesilkan kembali hingga tersisa $\pm 1,5 \times 1,5 \text{ cm}$ agar dapat mengurangi tingkat kontaminasi.

Eksplan yang telah siap sterilisasi dikulturkan dalam media MS yang ditambahkan BAP dan NAA. Banyaknya eksplan yang ditanam untuk setiap media adalah sebanyak 3 tanaman. Eksplan yang sudah ditanam ditempatkan di ruang inkubasi pada suhu 21-25 oC, kelembaban (RH) 70% intensitas cahaya 1000 Luv dengan lamanya penyinaran 16 jam /hari.

Pengamatan meliputi persentase eksplan yang hidup/tumbuh, persentase eksplan yang tumbuh dihitung dengan persamaan berikut:

$$\frac{\text{Jumlah eksplan yang tumbuh}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

Persentase eksplan yang bertunas dihitung dengan persamaan berikut:

$$\frac{\text{Jumlah eksplan yang bertunas}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

Pengamatan dilakukan pada minggu pertama sampai minggu ke delapan setelah tanam.

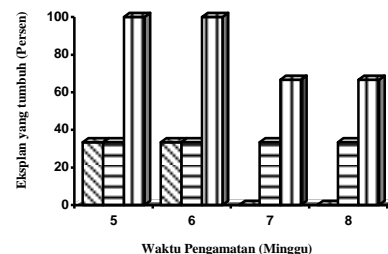
Hasil dan Pembahasan

Persentase Eksplan yang Tumbuh

Hasil pengamatan rata-rata persentase eksplan yang tumbuh umur 5 minggu setelah tanam akibat perlakuan lama perendaman dengan klorox terhadap pertumbuhan eksplan pisang barangan disajikan pada Gambar 1, 2, 3 dan 4.

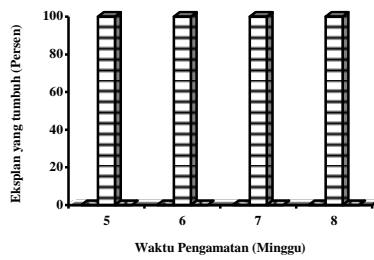
Gambar 1 memperlihatkan bahwa perlakuan A pada minggu kelima sampai minggu keenam eksplan dapat tumbuh 100 % dan pada minggu ketujuh dan kedelapan eksplan yang tumbuh mencapai 66,67 %. Hal ini merupakan hasil yang terbaik jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Gambar 2 terlihat bahwa perlakuan E mencapai 100 % merupakan hasil yang paling bagus dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Gambar 3 juga menjelaskan perlakuan yang paling baik adalah perlakuan G mencapai 66,67 % dibandingkan dengan perbandingan perlakuan H dan perlakuan I. Gambar 4 juga menjelaskan hampir seluruh eksplan dapat tumbuh dengan baik, kecuali perlakuan J umur 8 minggu setelah tanam. Keempat Gambar tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan E merupakan perlakuan yang terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya.



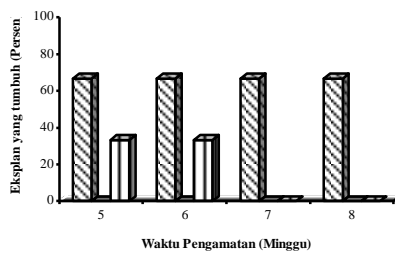
- 5 menit perendaman dalam 10 % klorok (A)
- 5 menit perendaman dalam 20 % klorok (B)
- 5 menit perendaman dalam 30 % klorok (C)

Gambar 1. Persentase eksplan yang tumbuh pada 5 menit perendaman dengan berbagai konsentrasi klorox (10%, 20%, dan 30%)



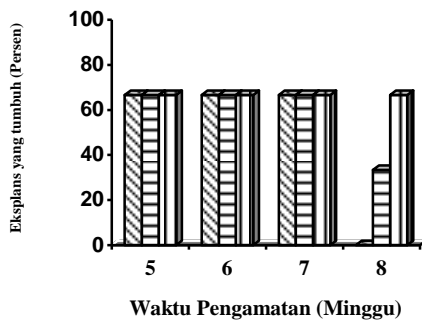
- 10 menit perendaman dalam 10 % klorok (D)
- 10 menit perendaman dalam 20 % klorok (E)
- 10 menit perendaman dalam 30 % klorok (F)

Gambar 2. Persentase eksplan yang tumbuh pada 10 menit perendaman dengan berbagai konsentrasi klorox (10%, 20%, dan 30%)



- 15 menit perendaman dalam 10 % klorok (G)
- 15 menit perendaman dalam 20 % klorok (H)
- 15 menit perendaman dalam 30 % klorok (I)

Gambar 3. Persentase eksplan yang tumbuh pada 15 menit perendaman dengan berbagai konsentrasi klorox (10%, 20%, dan 30%)



- 20 menit perendaman dalam 10 % klorok (J)
- 20 menit perendaman dalam 20 % klorok (K)
- 20 menit perendaman dalam 30 % klorok (L)

Gambar 4. Persentase eksplan yang tumbuh pada 20 menit perendaman dengan berbagai konsentrasi klorox (10 %, 20 %, dan 30 %)

Data tersebut terlihat bahwa penggunaan bahan sterilisasi sedikit tidak dapat mensterilkan eksplan dengan baik. Penggunaan bahan sterilisasi pada konsentrasi yang tinggi dapat mensterilkan eksplan dari mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan cendawan, akan tetapi penggunaan bahan sterilisasi pada konsentrasi

tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan (Gambar 1).

Eksplan dapat tumbuh dengan baik jika jaringan tidak rusak dan tidak terganggu oleh mikroorganisme. Penggunaan klorok pada konsentrasi 20 g/l dan lama perendaman 10 menit merupakan hasil yang terbaik untuk sterilisasi eksplan pisang barangan.

Respon perubahan eksplan bonggol pisang setelah dikulturkan dapat dikatakan cukup cepat. Pertumbuhan awal dari setiap eksplan yang ditanam, terjaid perubahan dari putih kekuningan menjadi coklat pada bagian bekas pemotongan dan menjadi kehijauan pada bagian yang tidak mengalami pelukaan. Pengamatan umur 1 minggu setelah kultur, eksplan membengkak, pada ujungnya tumbuh tunas, dan setelah beberapa minggu kemudian tunas membentuk organ yang sempurna.

Perlakuan E pertumbuhan eksplan terus berlangsung, diduga bahwa konsentrasi klorok yang direndam selama 10 menit dapat mematikan bakteri dan virus yang ada dalam eksplan pisang. Sterilisasi adalah perlakuan yang dilakukan untuk membuat steril dan bebas terkontaminasi dari bakteri dan virus serta patogen baik yang ada di luar eksplan maupun di dalam eksplan, sehingga perbanyak tanaman secara teknik in vitro berhasil. Tingkat kepekatan bahan sterilan dan lama waktu perendaman untuk setiap eksplan berbeda-beda, tergantung dari kelunakan eksplan, sehingga konsentrasi bahan sterilan yang digunakan untuk tanaman anrek belum tentu cocok digunakan untuk sterilisasi tanaman pisang (Anonymous, 2006). Kontaminasi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, dan kecoklatan karena pengaruh senyawa fenolik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Selain faktor sterilisasi pemilihan bagian tanaman sebagai calon eksplan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan planlet. Hendaryono dan Wijayani (1994) menjelaskan bahwa bagian tanaman yang mempunyai sel aktif membelah, yaitu sel meristem yang banyak mengandung hormon akan dapat berdeferensiasi dan berkembang serta dapat melanjutkan pertumbuhan dengan cepat.

Persentase Eksplan yang Bertunas

Eksplan yang bertunas tidak didapatkan dalam pengamatan ini meskipun sebahagian eksplan sudah ada yang tumbuh dan telah membentuk organ yang sempurna. Diduga

bahwa pada kondisi seperti ini eksplan masih membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pertumbuhan organ lain seperti batang dan daun. Hal lain juga dapat dijelaskan bahwa planlet tersebut perlu dilakukan sub kultur pada media baru yang diberi hormon multiplikasi petunasan, sehingga planlet akan dapat membentuk tunas dalam jumlah yang banyak.

Media yang digunakan dalam percobaan ini juga telah diberikan dua jenis hormon yang berbeda yaitu IAA (hormon dari kelompok auksin) dan BAP yaitu kelompok hormon dari sitokinin. Kita ketahui bahwa salah satu hormon yang sering digunakan untuk pertumbuhan tunas adalah BAP, namun dalam percobaan ini kita belum mendapatkan hasil yaitu terbentuknya tunas seperti yang diharapkan, juga dapat diduga bahwa penggunaan BAP dan IAA pada konsentrasi 2 ppm tidak sesuai untuk multiplikasi tunas pada tanaman pisang barangan. Teori tentang keseimbangan hormon auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan menjelaskan bawah morfogenesis dari eksplan selalu tergantung pada interaksi antara auksin dan sitokinin. Wattimena et al. 1992 menjelaskan bahwa prinsip keseimbangan auksin dan sitokinin tetap diperlukan dalam suatu kultur jaringan. Lebih lanjut menjelaskan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yaitu dalam proses pembentukan tunas adventif selain membutuhkan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi juga diperlukan auksin dalam konsentrasi yang rendah.

Wattimena et al. 1992 melaporkan bahwa penggunaan 2ip dapat memicu pertumbuhan tunas asparagus plumulus dari pada penggunaan kinetin dan BAP, akan tetapi dalam kultur jaringan untuk proliferasi tunas lebih baik menggunakan kinetin dan BAP terlebih dahulu karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya terjangkau, akan tetapi jika penggunaan BAP planlet juga belum merespon maka perlu diuji dengan pemberian 2ip dan zeatin.

Kesimpulan

Lama perendaman berkorelasi positif dengan konsentrasi klorok, semakin pekat larutan klorok yang digunakan dalam batas tertentu maka semakin singkat waktu yang diperlukan untuk melakukan sterilisasi eksplan pisang barangan. Perendaman klorok pada konsentrasi 10%, waktu yang diperlukan adalah 20 menit, konsentrasi klorok 20 % waktu yang diperlukan 10 menit dan konsentrasi klorok 30 % waktu yang diperlukan perendaman 5 menit.

Lama perendaman selama 10 menit dan konsentrasi klorok 20 % (perlakuan E) merupakan kombinasi perlakuan terbaik dalam meningkatkan persentase eksplan yang tidak terkontaminasi dan persentase eksplan yang tumbuh.

Daftar Pustaka

- Anonymous. 2004. Budi Daya Pisang Asal Kultur Jaringan. Dinas Pertanian dan Perkebunan. Pemerintah Propinsi DKI, Jakarta.
- Anonymous. 2006 Perbanyak Bilbit Pisang Secara Kultur Jaringan. [Http://www.dki.go.id](http://www.dki.go.id)
- Gunawan L. W. 1992 Teknik Kultur Jaringan Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antara Universitas Bioteknologi. IPB.
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayani 1994. Teknik Kultur Jaringan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif – Modrn. Kanisius. Yogyakarta.
- Priyono D. Suhandi dan Matsaleh. 2000. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh I AA dan z- IP Pada Kultur Jaringan Bakal Buah Pisang. Jurnal Hortikultura.
- Sunarjono. 2002. Budi Daya Pisang dan Bibit Kultur Jaringan, Penebar Swadaya . Jakarta.
- Wattimena GA, Gunawan LW, Mattjik NA, Syamsudin E, Wiendi NM, dan Ernawati A. 1992. Bioteknologi Tanaman, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Petanian Bogor, Bogor.