

**KAJIAN PENAMBAHAN KINETIN DAN 2,4-D TERHADAP
PERTUMBUHAN KULTUR JARINGAN TANAMAN
PISANG BARANGAN (*Musa Paradisiaca* L.) PADA
FASE SUBKULTUR**

SKRIPSI

Oleh

AMALIA WULANNANDA



**PROGRAM STUDI S1 AGROEKOTEKNOLOGI
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
S E M A R A N G
2 0 2 2**

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pisang merupakan salah satu buah yang sangat populer di kalangan masyarakat Indonesia. Tanaman pisang awalnya berasal dari Asia Tenggara dan sejak itu menyebar ke seluruh dunia. Kultivar tanaman pisang yang sering dibudidayakan di Indonesia diantaranya yaitu raja, kepok, mas, dan ambon. Salah satu jenis pisang yang berpotensi untuk dibudidayakan adalah pisang barangan yang berasal dari Sumatera Utara. Budidaya pisang barangan di sentra pertanian pisang yaitu Nias Utara masih secara tradisiomal yaitu mengandalkan pasokan bibit/anakan yang sangat terbatas. Menurut Rugayah *et al.* (2012) tanaman pisang hanya menghasilkan 5-10 anakan dalam satu tahun. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pasokan bibit pisang barangan yaitu perbanyakan dengan metode kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman dengan menggunakan media aseptik yang direkayasa untuk menyediakan nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan maupun perkembangan tanaman. Kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan berbagai bibit unggul. Keunggulan perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan yaitu dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah besar dengan jangka waktu yang relatif singkat, bebas patogen, dapat dilakukan sepanjang tahun tidak tergantung musim, dan tidak membutuhkan tempat yang luas (Heriansyah *et al.*, 2014).

Tunas pada eksplan pisang dapat diinduksi dengan penambahan hormon eksogen sitokinin dan auksin dalam konsentrasi tertentu (Sadat *et al.*, 2018). Kegiatan subkultur pada eksplan pisang dapat dilakukan sebanyak 6-7 kali selama proses perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan berlangsung. Subkultur eksplan dilakukan setiap 4 minggu sekali dengan cara membelah eksplan menjadi beberapa bagian dan memindahkannya ke media baru (Supriyati, 2010). Subkultur fase ke-1 sampai ke-5 akan berfokus pada pembentukan dan pertumbuhan tunas sehingga dapat dijadikan bahan eksplan untuk subkultur selanjutnya. Tunas dapat terbentuk dan tumbuh secara optimal pada 8 MST di media yang sudah termodifikasi dengan tambahan ZPT (Rodinah dan Nisa, 2018).

Zat pengatur tumbuh eksogen pada media kultur memiliki efek mendalam pada pertumbuhan dan perkembangan planlet. Konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen disesuaikan dengan tipe organ atau planlet, metode kultur jaringan dan tingkat kultur jaringan (Roostika *et al.*, 2018). Kinetin merupakan kelompok sitokinin yang mempunyai fungsi untuk mengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Kandungan sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan auksin pada media mendukung pertumbuhan tunas dan menekan pertumbuhan akar (Latunra *et al.*, 2017). 2,4-D merupakan golongan auksin yang bersifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman sehingga kerja hormon tersebut akan optimal (Rosmaina *et al.*, 2015).

Penambahan kinetin 5 ppm pada media MS (*Murashige and Skoog*) meningkatkan rata-rata tinggi pada 3 varietas pisang yaitu pisang raja nangka, kepok dan mas. Pemberian kinetin 5,5 ppm memiliki rata-rata jumlah tunas

tertinggi pada ketiga varietas tersebut. (Avivi *et al.*, 2013). Interaksi BAP (Benzyl Amino Purin) dengan konsentrasi 2,5 mg/L dan kinetin 5 mg/l berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada eksplan barangan (Shinta *et al.*, 2018). Media yang diberi tambahan NAA (Naphtalene Acetic Acid) 1 ppm dan kinetin 5 ppm dapat menunjukkan pertumbuhan akar dan tunas yang tinggi pada eksplan dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi NAA yang lebih tinggi. Kandungan auksin yang terlalu tinggi atau tidak seimbang dengan sitokinin dapat menyebabkan eksplan berubah menjadi berwarna kecoklatan atau *browning* (Luthfia *et al.*, 2019).

1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini adalah mengkaji pengaruh perbedaan konsentrasi kinetin dan 2,4-D terhadap pertumbuhan kultur jaringan tanaman pisang barangan pada tahap subkultur. Manfaat penelitian ini adalah mengetahui kombinasi kinetin dan 2,4-D yang optimal dalam pertumbuhan kultur jaringan tanaman pisang barangan pada tahap subkultur.

1.3. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian kinetin 5 mg/l dan 2,4-D 0,5 mg/l mampu menghasilkan pertumbuhan kultur jaringan pisang barangan pada tahap subkultur terbaik dari perlakuan lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Pisang Barangan (*Musa parasidiaca* L.)

Pisang merupakan salah satu tanaman buah yang sangat diminati oleh masyarakat Indonesia. Tanaman pisang berasal dari Asia Tenggara dan kemudian menyebar ke seluruh dunia. Kultivar tanaman pisang yang sering dibudidayakan di Indonesia diantaranya yaitu raja, kepok, mas, dan ambon. Salah satu tanaman pisang yang memiliki potensi untuk dibudidayakan yaitu pisang barangan. Klasifikasi tanaman pisang menurut USDA (2021) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberales

Famili : Musaceae

Genus : Musa

Spesies : *Musa parasidiaca* L.

Tanaman pisang barangan memiliki morfologi seperti pisang pada umumnya dengan beberapa ciri khusus. Pisang barangan mempunyai akar rimpang dan berpangkal pada umbi batang. Panjang akar dapat mencapai 4-5 meter. Daun tanaman pisang barangan tegak, berwarna hijau dengan lapisan lilin pada permukaannya, berbentuk lonjong dan pangkal daun meruncing, dan tepi daun bergaris coklat kemerahan. Jumlah daun dapat mencapai 25-50 helai, dengan daun

fungsional berjumlah 10-15 pada saat tanaman muncul bunga. Batang semu memiliki warna hijau kekuningan serta getah yang pucat. Tinggi batang semu berkisar 3,5 – 7,5 meter (Blandina *et al*, 2019). Buah pisang barangan sangat mudah dikupas, berwarna kuning kemerahan dengan bintik-bintik coklat, saat matang, tekstur daging buah lembut dan berwarna agak oranye. Satu tandan terdiri dari 8 – 12 sisir, dan setiap sisir terdiri dari 12 – 20 buah. Keunggulan pisang barangan yaitu memiliki rasa yang enak, daging yang tebal serta lunak, dan beraroma harum. Karakter tersebut sangat digemari dan disukai oleh masyarakat (Matondang *et al.*, 2014).

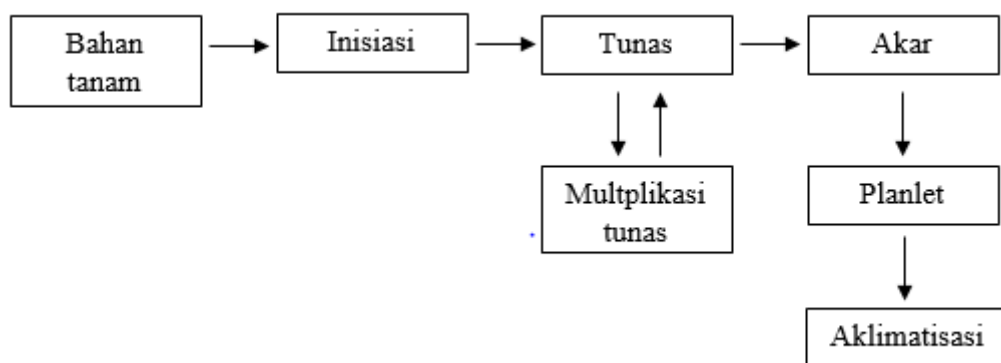
Perbanyakan tanaman pisang umumnya secara vegetatif konvensional yang memerlukan waktu relatif lebih lama yaitu 1 – 1,5 tahun untuk mendapatkan 1 – 10 anakan. Perbanyakan secara vegetatif juga menyebabkan tanaman mudah terinfeksi penyakit (Suhartanto dan Gunawan, 2012). Upaya dalam menyediakan bibit yang unggul salah satunya melalui kultur jaringan. Keunggulan perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan yaitu diperoleh tanaman yang seragam dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif lebih singkat, serta tidak dipengaruhi oleh musim (Sandra, 2013).

2.2. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan menggunakan media steril. Metode kultur jaringan dilakukan dengan mengambil jaringan pada tanaman induk dan diberi nutrisi serta zat pengatur tumbuh yang tepat sehingga dapat menjadi tanaman yang lengkap

(Yustisia *et al.*, 2018). Kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan berbagai bibit unggul. Keunggulan perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan yaitu dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah besar dengan jangka waktu yang relatif singkat, bebas patogen, dapat dilakukan sepanjang tahun tidak tergantung musim, dan tidak membutuhkan tempat yang luas (Heriansyah *et al.*, 2014).

Perbanyakan tanaman pisang barangan dengan kultur jaringan memiliki beberapa tahap yaitu inisiasi eksplan, subkultur, inisiasi akar dan aklimatisasi.



Ilustrasi 1. Skema Perbanyakan Tanaman Pisang Barangan dengan Kultur Jaringan

Inisiasi adalah tahapan penting dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media inisiasi sangat mempengaruhi hasil tumbuh eksplan. Konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen disesuaikan dengan tipe organ atau planlet, metode dan tingkat kultur jaringan (Roostika *et al.*, 2018). Jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen yang digunakan akan mempengaruhi organ tumbuhan yang akan diinduksi. ZPT auksin yang sering digunakan dalam memacu proses induksi kalus yaitu 2,4-

D. Penambahan auksin 2,4-D pada taraf tertentu secara nyata dapat meningkatkan ukuran kalus yang terbentuk (Mayang *et al.*, 2020).

Tahap subkultur atau multiplikasi bertujuan untuk memperbanyak individu-individu sehingga diperlukan media yang sesuai. Penambahan ZPT eksogen sitokinin mampu mengendalikan dominansi apikal sehingga fokus pada multiplikasi tunas (Praseptiana *et al.*, 2017). Akar adalah organ yang sangat penting bagi tumbuhan. Eksplan yang sudah berhasil diinisiasi tunas, umumnya belum memiliki akar. Inisiasi akar juga merupakan tahap penting dalam kultur jaringan dan dilakukan pada tahap subkultur terakhir (Yunita *et al.*, 2019). Tahap inisiasi akar menggunakan auksin sebagai ZPT eksogen. Zat pengatur Tumbuh (ZPT) eksogen auksin berperan untuk meningkatkan jumlah akar pada eksplan. Penambahan auksin eksogen akan merangsang sel tumbuhan tertentu untuk menghasilkan etilen. Sintesis etilen tersebut dapat menghambat pertumbuhan daun eksplan dan merangsang pertumbuhan akar (Samudera, 2019).

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor. Kemampuan materi tanaman yang diisolasi untuk tumbuh, penggunaan media serta zat pengatur tumbuh yang tepat dan sesuai, serta kondisi lingkungan merupakan faktor penting dalam kultur jaringan (Kartika dan Supriyanto, 2019). Perbanyak tanaman dengan metode kultur jaringan membutuhkan lingkungan yang aseptik agar terhindar dari kontaminasi. Lingkungan aseptik adalah lingkungan yang steril dan bebas dari mikroorganisme (Samanhudi *et al.*, 2020).

2.3. Subkultur

Subkultur merupakan proses atau kegiatan pindah tanam eksplan dari media lama ke media baru dalam rangka mendapatkan bibit yang banyak dalam jangka waktu tertentu. Pemindahan eksplan pada media baru bertujuan agar eksplan mendapatkan nutrisi untuk mempercepat pertumbuhan dan perkembangan sel (Karyanti *et al.*, 2014). Subkultur juga dapat dijadikan faktor untuk menentukan kemampuan multiplikasi suatu eksplan (Minarsih *et al.*, 2016). Tanaman yang diperbanyak dengan metode kultur jaringan mempunyai tingkat kemampuan subkultur yang berbeda-beda. Kemampuan multiplikasi akan menurun dan morfologi anakan berubah akibat adanya variasi genetik atau penurunan status fisiologis (Azizi *et al.*, 2017).

Kegiatan subkultur pada eksplan pisang dapat dilakukan sebanyak 6 – 7 kali. Subkultur dilakukan setiap 4 – 6 minggu sekali dengan cara membelah eksplan menjadi beberapa bagian dan dipindahkan ke media baru (Supriyati, 2010). Tujuan dari pemotongan eksplan yaitu selain memisahkan antar individu, juga untuk pelukaan pada eksplan. Luka irisan yang terdapat pada eksplan akan mempercepat difusi nutrisi untuk masuk kedalam jaringan tanaman dan menstimulasi pembelahan sel terutama pada area sekitar pelukaan (Prayanadipta dan Soegianto, 2020).

Fase subkultur ke-1 sampai ke-6 akan berfokus pada pembentukan dan pertumbuhan tunas sehingga dapat dijadikan sebagai bahan eksplan untuk subkultur selanjutnya. Tunas pada eksplan dapat terbentuk dan tumbuh secara optimal pada 8 MSS (Minggu Setelah Subkultur) di media yang sudah dimodifikasi dengan menambahkan zat pengatur tumbuh eksogen (Rodinah dan Nisa, 2018). Tunas pada

eksplan mulai muncul ± 5 HSS (Hari Setelah Subkultur). Jumlah tunas terbanyak akan terdapat pada 6 MSS (Minggu Setelah Subkultur) yang dipengaruhi oleh penambahan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada media subkultur (Rodinah *et al.*, 2018).

Jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan mempengaruhi tinggi tanaman. Pemanjangan tunas akan terhambat apabila banyak tunas yang terbentuk karena energi akan digunakan untuk pembentukan calon tunas lainnya (Elma *et al.*, 2017). Keberhasilan subkultur dipengaruhi oleh media yang digunakan. Penambahan zat pengatur tumbuh yang terbatas akan menghambat pertumbuhan sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat meracuni tanaman (Budi, 2018).

2.4. Sitokinin

Kinetin adalah golongan sitokinin yang mempunyai fungsi untuk mengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Kandungan sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan auksin pada media akan membantu pertumbuhan tunas dan menekan pertumbuhan akar. Sitokinin dan auksin akan berinteraksi memberikan pengaruh terhadap diferensiasi jaringan pada tanaman (Latunra *et al.*, 2017). Kinetin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang mempunyai aktifitas tinggi dalam proses pembelahan sel. Penggunaan Kinetin diharapkan mampu menginduksi tunas pada eksplan dan memacu pertumbuhannya (Melisa, 2018).

Pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh harus disesuaikan agar tidak menghambat pertumbuhan tanaman. Kombinasi perlakuan NAA konsentrasi 0,4 mg/l, 0,8 mg/l, dan 1,2 mg/l dengan kinetin dengan konsentrasi 6 mg/l dan 9 mg/l

menyebabkan tunas tidak muncul pada eksplan 3 kultivar pisang yaitu pisang kepok, pisang uli/mauli, dan pisang raja. Penyebab tidak tumbuhnya tunas pada eksplan adalah kombinasi konsentrasi yang kurang tepat dengan konsentrasi NAA yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi kinetin (Nisa dan Rodinah, 2018). Konsentrasi Kinetin tertentu dapat mempengaruhi jumlah serta tinggi tunas pada eksplan. Interaksi konsentrasi BAP 2,5 mg/l dan kinetin 5 mg/l mampu mempercepat waktu munculnya tunas dan 5 mg/l kinetin memiliki tinggi tunas yang tertinggi (Shinta *et al.*, 2018).

2.5. Auksin

Zat pengatur tumbuh ditambahkan pada media kultur disesuaikan dengan tipe organ atau planlet, metode kultur, dan tingkat kultur jaringan. Auksin yang ditambahkan pada media akan membantu dalam pembelahan sel. Jenis auksin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah IAA (*Indole Acetic Acid*), 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*) dan NAA (*Naphtalene Acetic Acid*). 2,4-D merupakan golongan auksin yang bersifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman sehingga kerja hormon tersebut akan optimal (Rosmaina *et al.*, 2015). ZPT auksin dapat merangsang pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman. 2,4-D merupakan salah satu jenis auksin yang biasa ditambahkan pada media kultur jaringan. Luka irisan yang terdapat pada eksplan mempercepat difusi 2,4-D ke dalam jaringan tanaman yaitu dengan membantu auksin endogen untuk menstimulasi pembelahan sel pada tanaman (Pranayadipta dan Soegianto, 2020).

Konsentrasi 2,4-D 2 ppm dan BAP 3 ppm yang ditambahkan pada media MS dapat mempercepat induksi kalus pisang barangan. Kalus mulai muncul pada minggu ke-6, lebih cepat dari perlakuan lainnya (Latunra *et al.*, 2017).

Penambahan ZPT auksin eksogen yang seimbang dengan sitokinin dapat memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap pembentukan tunas pada eksplan pisang. Pengaruh auksin juga memberikan efek sinergis terhadap pertumbuhan eksplan pisang dalam pemanjangan sel tunas (Budi, 2020). Pembentukan tunas pada eksplan tanaman pisang curup meningkat dengan penambahan auksin IBA, karena auksin dapat mendorong perbesaran sel. Penambahan auksin eksogen juga berfungsi untuk memacu auksin endogen yang ada pada eksplan (Marlin *et al.*, 2008).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September – Desember 2021 di Ruang Kultur Jaringan, Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan meliputi bahan dan alat. Bahan yang digunakan yaitu planlet pisang barangan sub kultur ke-3 berasal dari Kebun Benih Hortikultura Salaman, di bawah pengawasan Balai Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBTPH) Wilayah Surakarta, Dinas Pertanian Tanaman Pangan Provinsi Jawa Tengah, larutan stok media MS (*Murashige and Skoog*), vitamin, myo-inositol, gula, agar, alkohol 70%, alkohol 96%, hormon kinetin, hormon 2,4-D, aquades, formalin, HCl 1N, dan NaOH 1N. Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu botol kultur, scalpel, auktoklaf, timbangan analitik, *stirrer*, mikropipet, pipet, bunsen, plastik, karet, *hot plate stirrer*, penggaris, gawai, dan alat tulis.

3.2. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi beberapa tahap yaitu penentuan rancangan percobaan, pelaksanaan penelitian, pengamatan parameter dan analisis data.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor perlakuan (4×4) dengan 3 kali ulangan sehingga terdapat 48 satuan percobaan. Faktor perlakuan adalah sebagai berikut :

Faktor perlakuan yang pertama yaitu 4 taraf konsentrasi kinetin, yaitu :

K0 : 0 mg/l

K1 : 2,5 mg/l

K2 : 5 mg/l

K3 : 7,5 mg/l

Faktor perlakuan yang kedua yaitu 4 taraf konsentrasi 2,4-D, yaitu :

D0 : 0 mg/l

D1 : 0,5 mg/l

D2 : 1 mg/l

D3 : 1,5 mg/l

3.2.2. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilaksanakan dengan beberapa tahap yaitu sterilisasi, pembuatan media, penanaman eksplan, dan pengamatan (Lampiran 1). Sterilisasi ruang dilakukan dengan pembersihan ruang persiapan, ruang kultur dan ruang transfer dengan cara disapu dan dipel menggunakan larutan chlorox dan surfaktan. Ruangan yang sudah dibersihkan kemudian disemprot dengan alkohol 70%. Enkas disterilisasikan dengan alkohol 96% yang disemprot pada seluruh permukaan.

Sterilisasi larutan formalin sesaat sebelum ruangan transfer dan enkas digunakan dapat mengurangi kontaminasi pada kultur.

Pembuatan larutan stok media MS dimulai dengan menimbang bahan media *Murashige and Skoog* untuk dibuat larutan stok (Lampiran 2). Pembuatan larutan stok hormon dimulai dengan menimbang hormon kinetin dan 2,4-D dalam konsentrasi 100 mg/l. Bahan-bahan pembuat media akan dilarutkan dengan akuades sesuai dengan kebutuhan. Larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Larutan dimasukkan kedalam botol yang ditutup dengan aluminium dan diberi label. Larutan stok disimpan didalam kulkas. Pembuatan media dimulai dengan memasukkan larutan stok yang telah dibuat dan diambil sesuai dengan volume yang diperlukan (Lampiran 3.), stok kinetin sesuai konsentrasi perlakuan (0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l, dan 7,5 mg/l) (Lampiran 4.) dan stok 2,4-D sesuai konsentrasi perlakuan (0 mg/l, 0,5 mg/l, 1,5 mg/l) (Lampiran 5.) ke erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuades. Media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Tingkat keasaman media sebesar 5,8 diukur menggunakan pH meter. Apabila pH terlalu asam (dibawah 5,8) maka ditambah NaOH 0,1 N dan apabila pH terlalu basa (diatas 5,8) maka ditambah HCl 0,1 N. Kemudian larutan ditara dengan menambahkan akuades sesuai volume yang akan dibuat. Media ditambah bubuk agar sebanyak 8 g/l dan dipanaskan dengan *hot plate stirrer* hingga mendidih. Media yang sudah siap dimasukkan ke dalam botol kultur dengan volume 25 ml per botol (Ilustrasi 2.). Kemudian mulut botol kultur ditutup dengan aluminium foil dan media disterilisasikan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Media kemudian diletakkan di rak kultur.



Ilustrasi 2. Media Kultur

Sterilisasi berupa botol kultur dilakukan dengan melakukan perendaman pada larutan chlorox selama 24 jam kemudian dicuci menggunakan sabun dan dibilas dengan air bersih mengalir. Botol yang sudah bersih kemudian dikering anginkan. Alat disterilisasi dengan menggunakan oven. Cawan petri, *scalpel*, dan pinset dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 120°C selama 2 jam. Alat penanaman sebelum digunakan perlu disterilisasi kembali dengan dimasukkan dalam alkohol 96% dan dibakar di atas api bunsen setiap akan melakukan *transplanting*.

Penanaman eksplan pisang barangan dilakukan dalam enkas yang telah disterilisasikan. Botol yang berisi bahan eksplan dan media perlakuan dimasukkan ke dalam enkas yang telah disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Eksplan kemudian dikeluarkan dari botol lalu direndam pada aquades steril. Eksplan yang sudah dikeluarkan lalu dipotong ujungnya. Potongan eksplan kemudian ditanam pada botol kultur yang sudah terisi media perlakuan. Satu botol media perlakuan berisi 1 buah eksplan (Ilustrasi 3).



Eksplan pisang barangan sebelum ditanam di media perlakuan



Eksplan pisang barangan pada media perlakuan

Ilustrasi 3. Sumber Eksplan Pisang Barangan dan Hasil Subkultur

Leher botol diolesi dengan *chlorox* dan dipanaskan pada bunsen. Botol kultur ditutup dengan plastik, dan kemudian diikat dengan menggunakan karet. Botol kultur yang telah ditanam eksplan diberi label sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Kultur ditempatkan di ruang terang dengan suhu 21°C dan pada tempat kultur diletakkan formalin yang telah ditempatkan pada wadah atau botol dalam keadaan tanpa tutup, wadah yang berisi formalin 20% dapat ditutup terlebih dahulu sebelum pelaksanaan pengamatan untuk meminimalisir kontaminasi.

Eksplan yang sudah ditanam kemudian diletakkan pada rak kultur dan diinkubasi sesuai dengan layout yang telah ditentukan (Ilustrasi 4.).

K1D1U2	K0D2U3	K1D2U2	K0D2U2	K0D3U1	K2D3U1
K3D0U2	K3D1U3	K1D1U1	K3D0U1	K1D2U3	K0D3U2
K1D3U2	K3D1U1	K3D1U2	K1D0U3	K2D0U1	K1D1U3
K2D2U2	K2D3U2	K0D0U2	K1D0U2	K3D3U3	K3D2U2

K2D0U2	K1D3U1	K1D3U3	K2D1U3	K3D2U1	K2D1U2
K2D0U3	K1D2U1	K0D2U1	K2D1U3	K2D2U3	K2D1U2
K0D0U1	K3D2U3	K3D3U1	K2D1U3	K1D0U1	K2D1U2
K2D3U3	K0D1U3	K2D2U1	K2D1U3	K0D3U3	K2D1U2

Ilustrasi 4. Layout Penelitian

3.2.3. Parameter Pengamatan

Pengamatan pada eksplan dilakukan setiap hari setelah subkultur dan dilanjutkan secara berkala pada setiap minggunya. Variabel-variabel yang diamati terdiri dari :

1. Waktu munculnya tunas

Waktu munculnya tunas pertama dicatat pada hari tunas berukuran sekitar 0,5 cm muncul pada eksplan.

2. Jumlah tunas

Jumlah tunas yang ada pada eksplan dihitung pada akhir pengamatan (8 MST)

3. Tinggi tunas

Tinggi tunas diukur dari dasar media sampai titik tumbuh eksplan. Parameter diukur pada akhir pengamatan (8 MST).

4. Jumlah akar

Jumlah akar yang terbentuk dihitung pada akhir pengamatan (8 MST).

5. Jumlah daun

Jumlah daun yang terbentuk pada eksplan dihitung pada akhir pengamatan (8 MST).

6. Persentase kemunculan tunas

Persentase terbentuknya tunas diukur pada akhir pengamatan. Dinyatakan dalam persen (%) yang dihitung menggunakan rumus :

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

7. Persentase keberhasilan kultur

Persentase keberhasilan kultur dihitung pada akhir pengamatan (8 MST).

Pengamatan dengan mengamati munculnya kontaminan pada botol kultur baik jamur maupun bakteri dengan rumus :

$$\text{Persentase keberhasilan kultur} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang tidak kontaminasi}}{\text{jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%$$

3.3. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan *Analysis Of Variance* (ANOVA) dan pada perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter yang diamati maka dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Model matematis yang digunakan di analisis data dalam penelitian ini yaitu :

$$Y_{ijk} = \mu + K_i + D_j + (KD)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Pertumbuhan kultur jaringan pisang yang memperoleh kombinasi perlakuan konsentrasi Kinetin ke-i dan 2,4-D ke-j, dan ulangan ke-k

μ : rata-rata umum

i : perlakuan konsentrasi Kinetin (0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l, 7,5 mg/l)

j : perlakuan konsentrasi 2,4-D (0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l)

K_i : pengaruh konsentrasi Kinetin ke-i

D_j : pengaruh konsentrasi 2,4-D ke-j

$(KD)_{ij}$: pengaruh konsentrasi Kinetin ke-i dan konsentrasi 2,4-D ke-j

ε_{ijk} : pengaruh acak dari satuan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij.

Hipotesis statistik yang diuji adalah:

Pengaruh interaksi K x D

$$H_0 : (KD)_{ij} = 0$$

(tidak ada pengaruh interaksi konsentrasi Kinetin dan konsentrasi 2,4-D terhadap pertumbuhan kultur jaringan pisang yang diamati)

$$H_1 : \text{minimal ada sepasang } (i,j) \text{ sehingga } (KD)_{ij} \neq 0$$

(ada pengaruh interaksi konsentrasi Kinetin dan konsentrasi 2,4-D terhadap pertumbuhan kultur jaringan pisang yang diamati)

Pengaruh utama faktor K

$$H_0 : K_1 = K_2 = K_3 = K_4 = 0$$

(tidak ada perbedaan pertumbuhan kultur jaringan pisang diantara taraf faktor konsentrasi Kinetin yang dicobakan)

$$H_1 : \text{minimal ada satu } i \text{ sehingga } K_i \neq 0$$

(ada perbedaan pertumbuhan kultur jaringan pisang diantara taraf faktor konsentrasi Kinetin yang dicobakan)

Pengaruh utama faktor D

$$H_0 : D_0 = D_1 = D_2 = D_3 = D_4 = 0$$

(tidak ada perbedaan pertumbuhan kultur jaringan pisang diantara taraf faktor konsentrasi 2,4-D yang dicobakan)

$$H_1 : \text{minimal ada satu } j \text{ sehingga } D_j \neq 0$$

(ada perbedaan pertumbuhan kultur jaringan pisang diantara taraf faktor konsentrasi 2,4-D yang dicobakan)