

Kultur Embrio Pisang Liar *Musa acuminata* ssp. *sumatrana* yang Langka (Embryo Culture of Endangered Wild Banana *Musa acuminata* ssp. *sumatrana*)

Ika Roostika¹⁾, Agus Sutanto²⁾, Edison²⁾ dan Nurwita Dewi¹⁾

¹⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian,
Jln. Tentara Pelajar No. 3A Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16111

²⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jln. Raya Solok-Aripan km.8, Solok,
Sumatera Barat, Indonesia 27301
E-mail: ikatambunan@yahoo.com

Diterima: 11 April 2018; direvisi: 5 Juni 2018; disetujui: 1 Agustus 2018

ABSTRAK. *Musa acuminata* ssp. *sumatrana* adalah pisang liar yang langka dan perlu dilestarikan. Teknik kultur *in vitro* dapat diterapkan untuk melestarikannya. Penerapan teknik konservasi secara *in vitro* memerlukan penguasaan metode regenerasi, termasuk formulasi media tumbuh. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh BA, TDZ, dan PVP terhadap daya hidup dan regenerasi embrio *M. acuminata* ssp. *sumatrana*. Rancangan percobaan disusun secara faktorial dalam lingkungan rancangan acak lengkap dengan empat ulangan. Faktor pertama adalah BA (0, 1, 3, dan 5 mg/L), faktor kedua adalah TDZ (0 dan 0,1 mg/L) dan faktor ketiga adalah PVP (100 dan 300 mg/L). Peubah yang diamati adalah persentase daya hidup, persentase daya tumbuh, persentase pembentukan akar, jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan terdapat interaksi yang nyata antara taraf BA, TDZ, dan PVP terhadap seluruh peubah yang diamati. Kombinasi perlakuan BA 5 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L dan PVP 300 mg/L menghasilkan persentase hidup, persentase tumbuh, jumlah tunas, dan jumlah daun yang paling tinggi, berturut-turut 100% daya hidup, 100% daya tumbuh, lima tunas/eksplan, dan 15 daun/tunas. Media tersebut dapat diterapkan untuk perbanyakan *in vitro* *M. acuminata* ssp. *sumatrana* dalam penyediaan materi untuk konservasi *in vitro*.

Kata kunci: *Musa acuminata* ssp. *sumatrana*; Pisang liar langka; Regenerasi embrio

ABSTRACT. *Musa acuminata* ssp. *sumatrana* is an endangered wild banana species that should be conserved. The *in vitro* culture can be applied for conserving wild banana accessions. The establishment of regeneration method, including the use of growth medium, is required in the application of *in vitro* conservation. The influence of BA, TDZ, and PVP to the survival and growth rate of embryos of *M. acuminata* ssp. *sumatrana* will be discussed in this study. The factorial in completely randomized design with four replications was used in this study. The first factor was BA (0, 1, 3, and 5 mg/L), the second factor was TDZ (0 and 0.1 mg/L), and the third factor was PVP (100 and 300 mg/L). Variables observed were the percentage of survival rate, the percentage of growth rate, the percentage of root formation, number of shoot, root, and leaf. The result a significant interaction between the concentration of BA, TDZ, and PVP to all observed variables. The combined treatment between 5 mg/L BA, 0.1 mg/L TDZ, and 300 mg/L PVP provided the highest survival rate (100%), growth rate (100%), shoot multiplication (five shoots/explant), and number of leaf (15 leaves/shoot). This medium can be applied for micropropagation of *M. acuminata* ssp. *sumatrana* in supplying plant materials for *in vitro* conservation.

Keywords: *Musa acuminata* ssp. *sumatrana*; Endangered wild banana; Embryo regeneration

Indonesia merupakan salah satu pusat keragaman genetik tanaman pisang. Beberapa macam pisang liar yang tumbuh di Indonesia, antara lain *Musa acuminata* ssp. *sumatrana*, *halabanensis*, *breviformis*, *microcarpa*, *zebrina*, *tomentosa*, *M. balbisiana* cv. Kluthuk Wulung dan Kluthuk Awu, juga *M. ornata*, *M. troglodytarum*, dan *M. borneensis* (Hapsari 2014). Pisang liar dapat dimanfaatkan sebagai tetua dalam persilangan untuk pembentukan hibrida karena merupakan sumber ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, sebagaimana dilaporkan oleh Javed, Chai & Othman (2004) bahwa *M. acuminata* bersifat tahan terhadap penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ras 4 atau *tropical race 4* (TR4).

Musa acuminata ssp. *sumatrana* memiliki habitat yang sangat terbatas di Pulau Sumatera. Konservasi *ex situ* (di luar habitatnya) merupakan alternatif teknologi yang dapat diterapkan, tetapi pisang tersebut sulit menghasilkan biji di luar habitatnya. Konservasi bahan tanaman berupa biji memiliki kelebihan daripada yang klonal karena keragaman genetik yang dimiliki akan mirip dengan keragaman sesungguhnya pada populasi tanaman di alam atau habitatnya (Panis 2009). Oleh karena itu, perlu dilakukan konservasi pisang liar (MusaNet 2016), khususnya *M. acuminata* ssp. *sumatrana* secara *in vitro*. Konservasi secara *in vitro* sesuai diterapkan pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif atau yang memiliki benih bersifat rekalsitran (Panis 2009). Konservasi tersebut memiliki

keunggulan, antara lain lebih hemat dari segi biaya, tenaga, waktu dan risiko kepunahan karena pengaruh cekaman lingkungan biotik dan abiotik serta memudahkan dalam pertukaran plasma nutfah (Tripathi, Tripathi & Vroh-Bi 2007).

Dalam upaya penerapan teknik konservasi *in vitro*, metode kultur embrio *M. acuminata* ssp. *sumatrana* perlu dikuasai terlebih dahulu. Kultur embrio adalah teknik mengisolasi dan menumbuhkan embrio muda dan embrio masak secara *in vitro* dengan tujuan memperoleh tanaman viabel (Fathi & Jahani 2012; Sahijram *et al.* 2013). Teknik tersebut telah berhasil diterapkan pada anggur (Valdez 2005), tanaman kacang hijau (Kosmiatin & Mariska 2005), kelapa kopyor (Sukendah *et al.* 2008), mangga (Pérez-Hernández & Grajal-Martin 2011) dan sawit (Alves *et al.* 2011). Teknik kultur embrio pisang liar telah dilaporkan oleh (Burgos-Hernández *et al.* 2014). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kegagalan perkecambahan benih pisang liar dipengaruhi oleh perbedaan tingkat dormansi benih. Aplikasi skarifikasi benih secara kimiawi dengan H_2SO_4 bahkan menurunkan persentase perkecambahan benih pisang *M. ornata* hingga hanya 4%. Oleh karena itu, teknik kultur embrio menjadi teknologi alternatif yang sesuai diterapkan untuk penyediaan materi tanaman dalam upaya konservasi pisang liar.

Keuntungan dari teknik kultur embrio adalah rasio perkecambahan lebih tinggi daripada penaburan benih, menghemat waktu karena kecepatan tumbuh biakan embrio lebih tinggi, dapat memulihkan kesehatan tanaman, memfasilitasi pembentukan hibrida dan manajemen konservasi karena biakan embrio dapat disimpan secara *in vitro* sebelum penggunaan yang lebih luas, serta dapat digunakan untuk merakit varietas pisang tahan penyakit penting (Bakry 2008; Rashid *et al.* 2013). Teknik tersebut bahkan menjadi salah satu tahapan penting dalam memproduksi tanaman pisang hasil pemuliaan secara superdomestikasi (Heslop-Harrison 2011). Superdomestikasi melibatkan interaksi antara pemulia dan peneliti genomik dalam mendesain karakteristik tanaman yang diharapkan, dengan mempertimbangkan teknik memproduksi kultivar ideal, menemukan dan mengevaluasi gen yang bertanggung jawab terhadap karakter tersebut dan memindahkannya ke kultivar yang baru (Heslop-Harrison 2011).

Teknik kultur embrio pisang liar yang dilakukan oleh (Bakry 2008) memiliki dua tahap penanaman, yaitu perkecambahan dan pemeliharaan. Pada kultur embrio pisang *M. acuminata* ssp. *malaccensis*, selubung benih menjadi penghambat utama perkecambahan (Rashid *et al.* 2013). Melalui teknik kultur embrio, tingkat perkecambahan *in vitro* mencapai 63%

(Rashid *et al.* 2013) dan 88,5% (Vineesh *et al.* 2015). Hasil penelitian Arinaitwe *et al.* (2000) menunjukkan bahwa di antara sitokinin yang digunakan dalam mikropropagasi tanaman pisang, penggunaan *benzyl adenine* (BA) dan *thidiazuron* (TDZ) menyebabkan respon multiplikasi tunas yang lebih tinggi daripada kinetin, 2-isopentenyladenine (2-iP) dan zeatin.

Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh formulasi media terhadap daya hidup dan regenerasi embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* untuk mendukung upaya konservasi *in vitro*. Diduga bahwa kombinasi perlakuan BA, TDZ, dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) memengaruhi perkecambahan dan multiplikasi tunas yang tumbuh dari embrio pisang liar *M. acuminata* ssp. *sumatrana*.

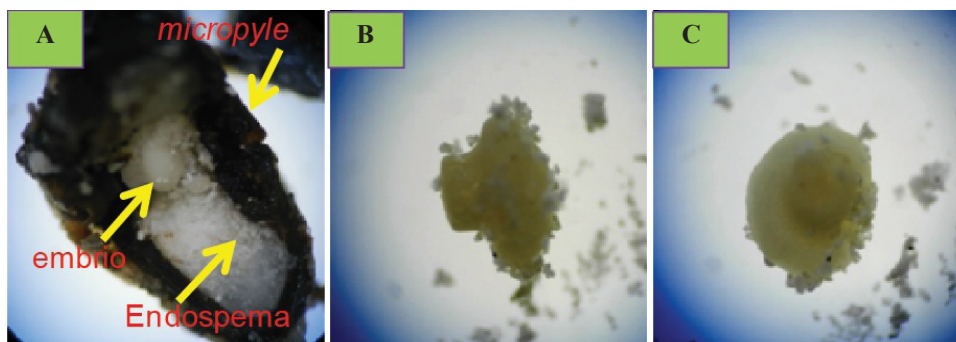
BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan November 2013 hingga Juni 2014 di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian di Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah pisang liar *M. acuminata* ssp. *sumatrana* yang berasal dari Sumatera Barat. Buah yang sudah tua atau sudah berkembang maksimal tetapi belum matang digunakan untuk mendapatkan biji. Daging buah yang masih mentah bersifat tidak lengket pada biji, sedangkan daging buah yang matang bersifat lengket dan licin.

Rancangan percobaan disusun secara faktorial dalam lingkungan rancangan acak lengkap dengan empat ulangan. Faktor pertama adalah BA (0, 1, 3, dan 5 mg/L), faktor kedua adalah TDZ (0 dan 0,1 mg/L), dan faktor ketiga adalah PVP (100 dan 300 mg/L).

Sebanyak dua embrio ditanam dalam setiap botol. Buah pisang disterilisasi dengan alkohol 96% selama 5 menit. Selanjutnya, buah dikupas dalam kondisi steril di dalam *laminair air flow cabinet* (LAF) dan biji-bijinya diisolasi (dipisahkan dari daging buahnya). Isolasi biji dilakukan secara hati-hati supaya biji tetap utuh dan embrio tidak terluka. Kulit biji dipotong secara bersilang dan diarahkan ke daerah yang dekat dengan *micropyle*, tidak mengenai atau merusak daerah *micropyle* tersebut. Selanjutnya, dilakukan isolasi embrio di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 50–200 kali. Di bawah mikroskop tampak bahwa embrio persis berada di bawah *micropyle* (Gambar 1A). Embrio dipisahkan dari endospermanya secara hati-hati dengan menggunakan *scalpel*. Embrio



Gambar 1. Anatomi benih pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana*: bagian dalam benih yang mengandung *micropyle*, embrio dan endosperma (A), penampang embrio dari samping (B) dan penampang embrio dari atas (C) [*Anatomy of banana seed of M. acuminata* ssp. *sumatrana*: inner part of seed containing of *micropyle*, embryo and endosperm (A), embryo structure from side view (B) and embryo structure from upper view (C)]

yang dipilih untuk diisolasi adalah embrio yang berwarna putih susu kekuningan dengan endosperma berwarna putih dan strukturnya berbentuk butiran-butiran kecil, sedangkan embrio yang sudah cokelat atau yang endospermanya sudah rusak, tidak dijadikan sebagai sampel. Embrio yang berhasil diisolasi dengan lengkap akan memiliki bentuk yang menyerupai gangsing (Gambar 1 B dan C). Embrio-embrio diletakkan dan dikumpulkan dalam cawan petri yang berisi kapas yang dilembabkan dengan air steril. Isolasi embrio pisang memerlukan waktu yang cukup lama sehingga kondisi lembab sangat diperlukan supaya embrio tidak mengalami dehidrasi. Media tanam adalah media MS (Murashige & Skoog 1962) dengan penambahan sitokinin BA dan TDZ serta antioksidan PVP. Embrio diinkubasikan dalam kondisi gelap selama 1 bulan, kemudian inkubasi biakan dilakukan dengan mengalihkan biakan ke kondisi terang dengan fotoperiodisitas 16 jam dan intensitas cahaya 1.000 lux pada suhu $20\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Peubah yang diamati adalah persentase embrio yang hidup, persentase embrio yang tumbuh, persentase embrio yang berakar, jumlah tunas yang terbentuk dari setiap embrio, jumlah daun yang terbentuk pada setiap tunas, dan jumlah akar yang terbentuk pada setiap tunas. Persentase embrio hidup, tumbuh, berakar, dan bertunas dihitung dengan cara membagi jumlah embrio yang hidup, tumbuh, dan berakar dengan jumlah total embrio yang ditanam, dikalikan 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Biji dan Pertumbuhan Awal Embrio

Hasil pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bahwa sekitar 10% embrio tidak memenuhi kriteria untuk dikulturkan karena memiliki warna cokelat

dan bentuk yang sudah berubah, atau endosperma yang tidak mengandung pati yang berbentuk butiran putih. Embrio yang ideal adalah yang berwarna putih kekuningan, dengan bentuk yang teratur dan memiliki endosperma berupa butiran pati yang berwarna putih. Keberhasilan kultur embrio pisang dipengaruhi oleh tahap perkembangan biji yang normal atau tingkat kematangan embrio dan formulasi media yang digunakan (Fathi & Jahani 2012). Uma *et al.* (2011) melaporkan bahwa embrio yang belum matang menyebabkan kegagalan pertumbuhan embrio. Belum matangnya embrio tersebut ditandai dengan endosperma yang transparan dan cair. Selain itu, persentase perkecambahan embrio yang rendah berasal dari buah pisang yang belum masak atau yang terlalu masak (Dayarani *et al.* 2014; Baruddin & Kayat 2015).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* memiliki respon *in vitro* yang cukup lama, yaitu sekitar 1 bulan setelah tanam. Hal tersebut diduga disebabkan oleh kecilnya ukuran embrio dan cukup lamanya waktu yang diperlukan untuk mengisolasi embrio di bawah mikroskop sehingga embrio mengalami desikasi akibat aliran udara di dalam *laminair air flow cabinet*. Gonçalves *et al.* (2012) menjelaskan bahwa eksplan yang berukuran kecil bersifat lebih sensitif terhadap desikasi, pelukaan selama isolasi, dan oksidasi senyawa fenol. Namun demikian, teknik kultur embrio dilaporkan lebih efektif dibandingkan dengan perkecambahan *in vivo*. Tingkat perkecambahan *in vitro* *M. acuminata* ssp. *malaccensis* mencapai 63% (Rashid *et al.* & Kayat 2013) dan 88,5% (Vineesh *et al.* 2015), sedangkan tingkat perkecambahan *in vivo* hanya mencapai 3% atau dengan persentase yang tidak menentu.

Pertumbuhan embrio diawali dengan munculnya struktur yang transparan berbentuk setengah lingkaran (Gambar 2A). Pertumbuhan embrio dilanjutkan dengan

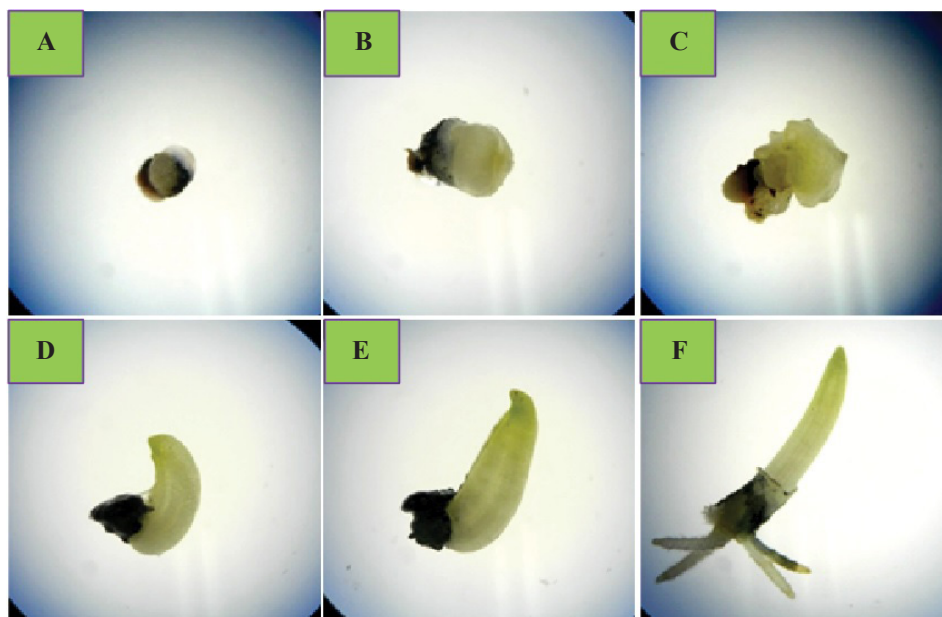
elongasi tunas (Gambar 2B-D) dan pembentukan akar (Gambar 2E). Pada penelitian ini, tidak dijumpai pembentukan kalus yang tumbuh dari embrio yang dikulturkan sebagaimana dilaporkan oleh Chimsa (2003). Uma *et al.* (2011) menjumpai pembentukan kalus dari embrio pisang liar yang masih muda, sedangkan embrio yang sudah matang tidak menghasilkan kalus. Ini mengindikasikan bahwa embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* yang digunakan dalam penelitian ini adalah embrio-embrio yang sudah matang sehingga ideal untuk digunakan sebagai sampel.

Hasil pengamatan lebih lanjut menunjukkan bahwa embrio dapat bertahan hidup dan tumbuh pada media dasar MS dengan atau tanpa penambahan BA, TDZ, dan PVP. PVP merupakan antioksidan yang umum digunakan untuk menekan pencokelatan, misalnya pada biakan tebu dan jati (Roostika *et al.* 2015; Sari, Ratnasari & Isnawati 2013). Pada penelitian ini, pencokelatan hanya terjadi pada awal periode inkubasi dan dapat diatasi dengan penggunaan PVP. Pencokelatan pada jaringan tanaman terjadi sebagai akibat dari akumulasi senyawa quinon yang dihasilkan dari reaksi oksidasi senyawa monofenol atau ortodifenol oleh enzim polifenol oksidase. Menurut Yoruk & Marshall (2003), senyawa tersebut muncul ketika jaringan tanaman mengalami stress, misalnya karena luka dan dehidrasi (Sari, Ratnasari & Isnawati 2013). Jika pencokelatan terjadi sangat parah maka jaringan tanaman akan mengalami kematian (Roostika *et al.* 2015).

Pengamatan terhadap pertumbuhan embrio menunjukkan bahwa tunas dari embrio yang ditanam pada media yang mengandung BA pada konsentrasi yang relatif tinggi (3 dan 5 mg/L) dapat langsung bermultiplikasi sebagaimana dilaporkan oleh Rashid *et al.* (2013). Embrio tersebut mengandung beberapa titik tumbuh atau calon tunas (Gambar 2C). Hal tersebut mengindikasikan terjadinya proliferasi tunas pada embrio yang distimulasi oleh adanya sitokinin di dalam media tumbuh, seperti BA dan senyawa lainnya yang aktivitas fisiologisnya menyerupai sitokinin, yaitu TDZ. Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berperan utama dalam pembelahan sel atau sitokinesis. Secara fisiologis, pemberian sitokinin dapat menyebabkan pertumbuhan dan multiplikasi tunas. Penggunaan media yang mengandung BA juga dilakukan oleh Bakry (2008), Uma *et al.* (2011) dan Dayarani *et al.* (2014) untuk meregenerasikan embrio pisang, sedangkan Chimsa (2003) menggunakan *indole acetic acid* (IAA) tetapi pada beberapa kasus embrio juga dapat beregenerasi pada media MS yang tidak mengandung ZPT. Hal tersebut diduga terkait dengan simpanan cadangan makanan dalam jumlah yang cukup dalam jaringan embrio yang sudah matang (Uma *et al.* 2011).

Pengaruh BA, TDZ, dan PVP Terhadap Pertumbuhan Embrio

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya interaksi yang nyata antara taraf BA, TDZ, dan PVP terhadap seluruh peubah yang diamati, yaitu persentase



Gambar 2. Pertumbuhan embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana*: inisiasi tunas (A), elongasi tunas (B-E) dan pembentukan akar (F) [*The growth of banana embryo of M. acuminata* ssp. *sumatrana*: shoot initiation (A), shoot elongation (B-E), and root formation (F)]

hidup, persentase tumbuh, persentase berakar, jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar yang terbentuk.

Daya hidup dan daya tumbuh eksplan berkisar 0-100% (Tabel 1 dan 2), dengan nilai tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan BA 1 mg/L dengan PVP 100 mg/L, BA 3 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L, dan PVP 100 mg/L atau BA 5 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L dan PVP 100 mg/L. Pada ketiga macam media tersebut, seluruh embrio (100%) mampu bertahan hidup dan tumbuh (Tabel 1).

Dari seluruh kombinasi perlakuan yang diujikan, hanya perlakuan BA 1 mg/L yang ditambah dengan PVP 100 mg/L yang menghasilkan persentase perakaran yang tertinggi hingga 100% (Tabel 3) dan jumlah akar yang terbanyak hingga 8,25 akar/eksplan (Tabel 4). Sebaliknya, kombinasi perlakuan BA 5 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L dan PVP 100 mg/L sama sekali tidak menginduksi perakaran (Tabel 4) dan menyebabkan jumlah tunas dan daun yang paling banyak, berturut-turut adalah lima tunas/eksplan dan 15 daun/eksplan (Tabel 5 dan 6). Hasil yang serupa dilaporkan oleh Baruddin & Kayat (2015), tetapi penggunaan BA 2 mg/L menyebabkan proliferasi

tunas pisang *M. acuminata* ssp. *malaccensis* yang lebih rendah, yaitu sebanyak dua tunas/eksplan setelah subkultur satu kali.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa akar masih dapat terbentuk pada perlakuan BA dengan taraf yang rendah, yaitu 1 mg/L (Tabel 4). Pada umumnya, akar terinduksi oleh zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin, tetapi morfogenesis akar ditentukan oleh rasio auksin dan sitokinin yang tinggi di dalam jaringan tanaman. Hal tersebut mengindikasikan bahwa taraf auksin endogen masih lebih tinggi daripada sitokinin, walaupun media mengandung BA 1 mg/L. Kejadian sebaliknya terjadi ketika media mengandung BA 5 mg/L dan TDZ 0,1 mg/L, akar tidak terbentuk namun tunas banyak terbentuk, yaitu 5 mg/L (Tabel 5 dan Gambar 3). Perlakuan tersebut diduga telah mengubah rasio auksin-sitokinin di dalam jaringan tanaman sehingga kandungan auksin endogen lebih rendah daripada sitokinin endogen. Hal tersebut menyebabkan morfogenesis mengarah pada pembentukan tajuk, yaitu tunas dan daun.

Secara umum dapat dikatakan bahwa media yang mengandung BA 5 mg/L, TDZ 0,1 mg/L, dan PVP

Tabel 1. Pengaruh kombinasi perlakuan BA, TDZ, dan PVP terhadap daya hidup (%) embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP combinations to the survival rate (%) of banana embryos of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	66,7	16,7	50	50,0
1	100,0	12,5	33,3	50,0
3	25,0	83,3	100,0	25,0
5	16,7	16,7	66,7	100,0

Tabel 2. Pengaruh kombinasi perlakuan BA, TDZ, dan PVP terhadap daya tumbuh (%) embrio pisang *M. acuminata* ssp. *malaccensis* var. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP to the growth percentage (%) of banana embryos of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	66,7	0	50	50,0
1	100,0	12,5	33,3	50,0
3	0	83,3	100,0	25,0
5	16,7	16,7	66,7	100,0

Tabel 3. Pengaruh kombinasi BA, TDZ, dan PVP terhadap pembentukan akar dari embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP to the root formation of banana embryo of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

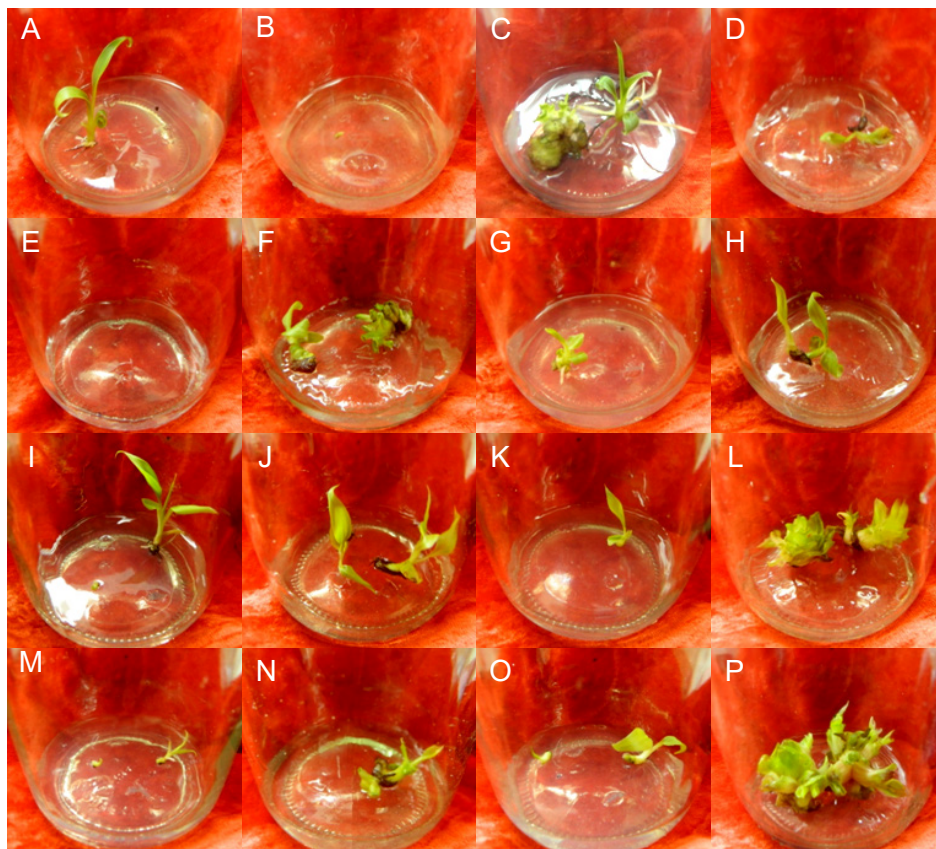
BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	66,7	0	33,3	50,0
1	100,0	12,5	33,3	0
3	0	66,7	50,0	0
5	16,7	16,7	0	0

Tabel 4. Pengaruh kombinasi BA, TDZ dan PVP terhadap jumlah akar dari akar yang terbentuk dari embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP to the root number of shoot derived from banana embryo of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	5,7	0	1,0	1,0
1	8,3	0,5	0,7	0
3	0	0,7	0,5	0
5	0,7	0	0	0

Tabel 5. Pengaruh kombinasi BA, TDZ dan PVP terhadap jumlah tunas yang terbentuk dari embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP to the shoot number of banana embryo of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

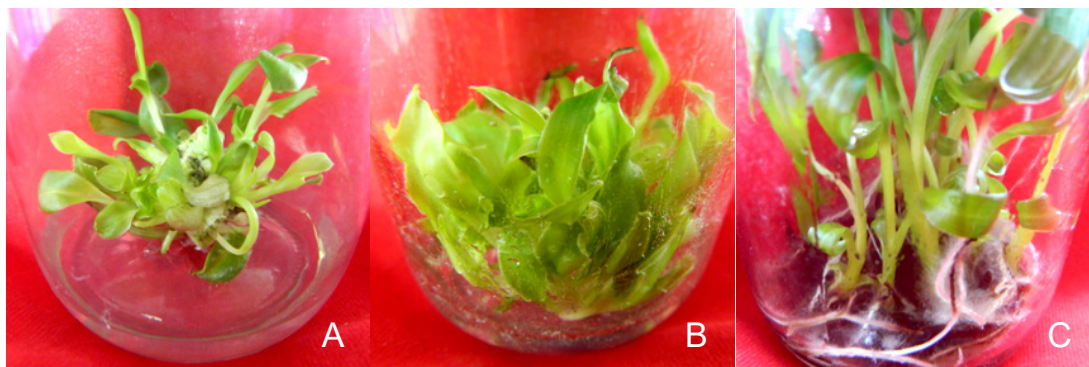
BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	1,0	0,3	0,7	0,7
1	1,8	0,3	0,7	1,7
3	0	2,7	1,0	1,5
5	0,3	0,7	0,8	5,0



Gambar 3. Penampilan biakan pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* yang ditumbuhkan pada 16 formulasi media, 4 BST: P100 (A), P300 (B), B1P100 (C), B1P300 (D), B3P100 (E), B3P300 (F), B5P100 (G), B5P300 (H), TDZ0,1P100 (I), TDZ0,1P300 (J), B1TDZ0,1P100 (K), B1TDZ0,1P300 (L), B3TDZ0,1P100 (M), B3TDZ0,1P300 (N), B5TDZ0,1P100 (O), dan B5TDZ0,1P300 (P) (*The performance of banana cultures of M. acuminata* ssp. *sumatrana* planted on 16 media formulations: P100 (A), P300 (B), B1P100 (C), B1P300 (D), B3P100 (E), B3P300 (F), B5P100 (G), B5P300 (H), TDZ0.1P100 (I), TDZ0.1P300 (J), B1TDZ0.1P100 (K), B1TDZ0.1P300 (L), B3TDZ0.1P100 (M), B3TDZ0.1P300 (N), B5TDZ0.1P100 (O), and B5TDZ0.1P300 (P))

Tabel 6. Pengaruh kombinasi BA, TDZ dan PVP terhadap jumlah daun yang terbentuk dari embrio pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* pada 6 BST (*The influence of combined treatment of BA, TDZ, and PVP to the shoot number of banana embryo of M. acuminata* ssp. *sumatrana* on 6 MAP)

BA (mg/L)	TDZ 0 mg/L		TDZ 0,1 mg/L	
	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L	PVP 100 mg/L	PVP 300 mg/L
0	2,5	0	1,5	1,7
1	4,3	0,5	1,3	6,5
3	0	3,67	1,8	4,0
5	2,0	1,67	1,2	15,0



Gambar 4. Tahapan pembentukan planlet pisang *M. acuminata* ssp. *sumatrana* dari media yang mengandung BA 5 mg/L + TDZ 0,1 mg/L + PVP 300 mg/L: proliferasi tunas (A), elongasi tunas (B) dan induksi akar menjadi planlet (C) [*The step of plantlet formation of M. acuminata* ssp. *sumatrana* planted on medium containing of 5 mg/L BA + 0,1 mg/L TDZ + 300 mg/L PVP: shoot proliferation (A), shoot elongation (B), and root induction into plantlet (C)]

300 mg/L merupakan kombinasi perlakuan yang terbaik untuk pembentukan tunas baru dengan tingkat multiplikasi tunas yang paling tinggi, yaitu lima tunas/eksplan. Perlakuan BA 1 mg/L dengan PVP 100 mg/L paling optimal untuk pembentukan planlet. Hal tersebut berkaitan dengan strategi penerapan kedua macam formulasi media tersebut. Jika ditujukan untuk konservasi *ex situ* di lapang maka formulasi media yang mengandung BA 1 mg/L dan PVP 100 mg/L lebih disarankan untuk digunakan supaya planlet yang terbentuk dapat segera diaklimatisasi dan dipindahkan ke lapang. Kombinasi perlakuan BA 5 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L dan PVP 300 mg/L lebih sesuai digunakan untuk penyiapan biakan induk dalam konservasi *ex situ*, yaitu dengan kultur *in vitro*. Materi tersebut dapat disimpan untuk konservasi jangka menengah melalui metode pertumbuhan minimal maupun untuk konservasi jangka panjang melalui metode kriopreservasi. Tahapan pembentukan planlet disajikan pada Gambar 4.

Kelebihan dari penelitian ini adalah proses regenerasi dilakukan secara bersamaan dengan tahap perkecambahan sehingga akan lebih menghemat waktu dan biaya. Hal tersebut berbeda dengan yang dilakukan oleh Bakry (2008) serta Baruddin & Kayat (2015), kedua tahapan tersebut dilakukan secara terpisah. Teknik kultur embrio pisang liar yang dilakukan

oleh Bakry (2008) memiliki dua tahap penanaman, yaitu perkecambahan dan pemeliharaan. Pada tahap perkecambahan digunakan hara makro dan mikro MS (Murashige & Skoog 1962), vitamin (Morel & Wetmore 1951), kasein hidrolisat 500 mg/L serta sukrosa 25 g/l yang dilengkapi dengan BA 1 mg/L dan IAA 0,4 mg/L untuk media perkecambahan, sedangkan media tanpa ZPT digunakan sebagai media pemeliharaan.

Penguasaan teknik regenerasi merupakan tahapan awal dalam konservasi *in vitro* tanaman langka. Untuk persiapan konservasi *in vitro* diperlukan sejumlah materi atau sumber eksplan yang memadai dan setelah biakan disimpan maka biakan harus dapat bergenerasi menjadi tanaman utuh kembali, sebelum diaklimatisasi dan dipindahkan ke lapang untuk konservasi *ex situ* maupun *in situ* melalui kegiatan restorasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Perkecambahan dan pertumbuhan embrio pisang liar *M. acuminata* ssp. *sumatrana* dipengaruhi oleh kombinasi perlakuan BA, TDZ, dan PVP. Kombinasi perlakuan BA 1 mg/L dan PVP 100 mg/L menghasilkan daya tumbuh, persentase perakaran dan jumlah akar yang

tinggi sehingga sesuai diterapkan untuk pembentukan planlet. Kombinasi perlakuan BA 5 mg/L dengan TDZ 0,1 mg/L dan PVP 300 mg/L menghasilkan daya tumbuh dan tingkat multiplikasi tunas yang tinggi (lima tunas/eksplan) sehingga sesuai diterapkan untuk perbanyak in vitro *M. acuminata* ssp. *sumatrana* dalam rangka penyediaan materi untuk konservasi in vitro dengan metode pertumbuhan minimal dan kriopreservasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. Asadi yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melakukan eksplorasi di Sumatera Barat. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Dea Lysnandar, MSi. dan Djoko Tamami yang sudah memberikan bantuan teknis dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alves, SAO, de Lemos, OF, dos Santos Filho, BG & da Silva, ALL 2011, 'In vitro embryo rescue of interspecific hybrids of oil palm (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*)', *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, vol. 2, no. 2.
- Arinaitwe, G, Rubaihayo, PR & Magambo, MJS 2000, 'Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars', *Scientia Horticulturae*, vol. 86, no. 1, pp. 13–21.
- Bakry, F 2008, 'Zygotic embryo rescue in bananas', *Fruits*, vol. 63, no. 2, pp. 111–115.
- Baruddin, NH & Kayat, F 2015, 'Development of Malaysian wild bananas seed progenies, *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* and *Musa gracilis*', *J. Trop. Resour. Sustain. Sci*, vol. 3, pp. 247–251.
- Burgos-Hernández, M, Castillo-Campos, G, Mata-Rosas, M, González, D, Vovides, AP & Murguía-González, J 2014, 'Seed germination of the wild banana *Musa ornata* (Musaceae)', *Seed Science and Technology*, vol. 42, no. 1, pp. 16–27.
- Chimsa, MD 2003, 'In vitro propagation of *Enset* (*Ensete ventricosum* (Welw.) Cheesman)', University of Natal, Pietermaritaburg, 130 p.
- Dayarani, M, Dhanarajan, MS, Arun, K, Uma, S & Narayani, P 2014, 'Embryo culture and embryo rescue studies in wild *Musa* spp. (*Musa ornata*)', *Journal of Applied Horticulture*, vol. 16, no. 2, pp. 126–130.
- Fathi, H & Jahani, U 2012, 'Review of embryo culture in fruit trees', *Ann Biol Res*, vol. 3, no. 9, pp. 4276–4281.
- Gonçalves, MC, Pinto, LR, Souza, SC & Landell, MGA 2012, 'Virus diseases of sugarcane, A constant challenge to sugarcane breeding in Brazil', *Functional Plant Science and Biotechnology*, vol. 6, no. 2, pp. 108–116.
- Hapsari, L 2014, 'Wild *Musa* species collection of Purwodadi Botanic Garden: Inventory and its morpho-taxonomic review', *Journal of Tropical Life Science*, vol. 4, no. 1, pp. 70–81.
- Harry, GI, & Ebong, UU, V 2010, 'In vitro rescue of zygotic embryos for the enhancement of hybrid plantain (*Musa*, AAB group) production', *Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment*, vol. 6, no. 3&4, pp. 8–13.
- Heslop-Harrison, JS 2011, 'Genomics, banana breeding and superdomestication', *Acta Horticulturae*, no. 897, pp. 55–62.
- Javed, MA, Chai, M & Othman, RY 2004, 'Study of resistance of *Musa acuminata* to *Fusarium oxysporum* using RAPD markers', *Biologia Plantarum*, vol. 48, no. 1, pp. 93–99.
- Sukendah, Sudarsono, Witjaksono & Khumaida 2008, 'Perbaikan teknik kultur embrio kelapa kopyor (*Cocos nucifera* L.) asal Sumenep Jawa Timur melalui penambahan bahan aditif dan pengujian periode subkultur', *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, vol. 36, no. 1, pp. 16–23.
- Kosmiatin, M & Mariska, I 2005, 'Kultur embrio dan pengandaan kromosom hasil persilangan kacang hijau dan kacang hitam', *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, vol. 10, no. 1, pp. 24–34.
- Morel G & Wetmore, RM 1951, 'Fern callus tissue culture', *Am J. Bot.*, no. 38, pp. 141–143
- Murashige, T & Skoog 1962, 'A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures', *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, pp. 473–497.
- MusaNet 2016, *A consultative document prepared by the global Musa genetic resources network (MusaNet)*, Bioversity International, 146 p.
- Panis, B 2009, *Cryopreservation of musa germplasm: Technical guidelines*, Bioversity International, 2nd edition, 49 p.
- Pérez-Hernández, JB & Grajal-Martin, MJ 2011, 'In vitro culture of immature zygotic mango embryos and plantlet development', *HortScience*, vol. 46, no. 11, pp. 1528–1532.
- Rashid, K, Mamat, M, Daran, ABM, Nezhadahmadi, A, Ruslan, F & Kayat, F 2013, 'Seed progeny population of wild banana *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* for Fusarium screening', *Life Science Journal*, vol. 10, no. 3, pp. 671–680.
- Roostika, I, Wati, RDPL, Sukmadjaja, D 2015, 'Pengaruh PVP dan DIECA terhadap regenerasi meristem tebu', *Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri*, vol.7, no. 1, pp. 9-14
- Sahijram, L, Soneji, JR, Naren, A & Rao, BM 2013, 'Hybrid embryo rescue: A non-conventional breeding strategy in horticultural crops', *Journal of Horticultural Science*, vol. 8, no. 1, pp. 1–20.
- Sari, N, Ratnasari, E & Isnawati 2013, 'Pengaruh penambahan berbagai kombinasi konsentrasi 2, 4-Diklorofenoksiasetat (2, 4-D) dan 6-Bensil Aminopurin (BAP) pada media MS terhadap Tekstur Dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. (F.))', *LenteraBio*, vol. 2, no. 1, pp. 69–73.
- Tripathi, L, Tripathi, JN & Vroh-Bi, I 2007, 'Bananas and plantains (*Musa* spp.): Transgenics and biotechnology', *Transgenic Plant Journal*, vol. 1, no. 1, pp. 185–201.
- Uma, S, Lakshmi, S, Saraswathi, MS, Akbar, A & Mustafa, MM 2011, 'Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp.)', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, vol. 105, no. 1, pp. 105–111.
- Valdez, JG 2005, 'Immature embryo rescue of grapevine (*Vitis vinifera* L.) after an extended period of seed trace culture', *Vitis*, vol. 44, no. 1, pp. 17–23.
- Vineesh, PS, Skaria, R, Mukunthakumar, S, Padmesh, P & Decruse, S 2015, 'Seed germination and cryostorage of *Musa acuminata* subsp. *burmannica* from Western Ghats', *South African Journal of Botany*, vol. 100, pp. 158–163.
- Yoruk, R & Marshall, MR 2003, 'Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review', *Journal of Food Biochemistry*, vol. 27, no. 5, pp. 361–422.