

**Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata* Colla)
pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat**



**YULIYATI
G011201227**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

**Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata* Colla)
pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat**

**YULIYATI
G01 120 1227**



**DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGAM STUDI AGOTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata* Colla)
pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat**

**YULIYATI
G011201227**



UNIVERSITAS HASANUDDIN
Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Pertanian
pada
**Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar**

**DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGOTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata Colla*) pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat

Yang disusun dan diajukan oleh

YULIYATI
G011201227

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pertanian pada 03 Juli 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Pada
Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin, Dipl. Ing. Agr
NIP. 19601224 1986011 001

Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M. Sc
NIP. 19650316 1989032 002

Mengetahui:

Ketua Program Studi
Agroteknologi



Dr. Ir. Abd Haris B., M.Si.
NIP. 19670811 1994031 003

Ketua Departemen
Hama dan Penyakit Tumbuhan



Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M. Sc
NIP. 19650316 1989032 002

PERYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul “Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata Colla*) pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat” adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin, Dipl. Ing. dan Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M. Sc). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.



RIWAYAT HIDUP



Yuliyati adalah nama penulis skripsi ini. Lahir pada tanggal 08 Juli 2002, di Kota Bima Provinsi Nusa Tenggara Barat. Penulis merupakan Anak ke 5 dari 6 bersaudara, dari pasangan Yahya dan ST. Akna. Penulis pertama kali masuk pendidikan di TK RA Darul Hikmah Kota Bima pada tahun 2007 dan melanjutkan ke Sekolah Dasar MI Nurul Ilimi Kota Bima pada tahun 2008 dan tamat 2014 pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan ke MTS Negeri 01 Kota Bima dan tamat pada tahun 2017. Setelah tamat di MTS. penulis melanjutkan SMA ke MAN 02 Kota Bima dan tamat pada tahun 2020. Dan pada tahun yang sama penulis terdaftar sebagai Mahasiswa di Universitas Hasanuddin Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan tamat pada tahun 2024 melalui jalur SNMPTN.

Penulis aktif pada berbagai kegiatan akademik seperti menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Biokimia Tanaman pada tahun 2021 dan mata kuliah Bioteknologi Pertanian pada tahun 2022. Penulis aktif pada kegiatan kreativitas mahasiswa seperti PKM bidang riset esakta pada tahun 2021 dan PPK Ormawa bidang pemberdayaan masyarakat pada tahun 2023. Penulis juga aktif pada kegiatan magang seperti magang kultur jaringan anggrek pada tahun 2021 di Teaching industri UNHAS dan magang mandiri pada tahun 2023 di Foodscaping Indonesia-Bone. Terakhir penulis juga aktif pada kegiatan diluar kampus dengan mengikuti organisasi seperti organisasi daerah yaitu IWA MBOJO UNHAS MAKASSAR dan KMKB-MAKASSAR dan nasional seperti IMM Makassar.

Dengan berbagai tekad, dukungan dan motivasi serta semangat yang tinggi dalam mencari ilmu pengetahuan dan pengalaman untuk terus belajar dan belajar, hingga penulis mampu menyelesaikan seluruh kegiatan yang diikuti serta penulis mampu menyelesaikan penelitian dan tugas akhir penulis yaitu Skripsi ini. Banyak pelajaran dan pengajaran yang didapatkan tak terlupakan selama duduk dibangku kuliah.

Akhir kata penulis mengucapkan banyak terima kasih dan rasa syukur Alhamdulillah hingga saat ini masih mendapatkan dukungan dan semangat dari kedua orang tua dan keluarga serta dosen pembimbing Skripsi yang telah banyak membantu penulis dan memotivasi hingga terselesaikannya Skripsi ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, ridho dan hidayahnya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan skripsi sebagai bentuk tugas akhir dan syarat dalam menyelesaikan studi S1 dalam lingkup universitas pada program studi Agroteknologi, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Sholawat serta salam tak lupa kita panjatkan pada junjungan kita nabi Allah Muhammad Sallallahu Alaihi Wassalam.

Ucapan terimakasih banyak atas motivasi, dukungan, bimbingan serta doa dari semua pihak yang telah ikut serta membantu dalam penyelesaian tugas akhir skripsi ini, dengan ketulusan hati penulis sampaikan terimakasih kepada;

1. Kedua orang tua tercinta Bapak Yahya dan Ibu St. Akna yang senantiasa memberikan motivasi, dukungan dan semangat terutama doa yang selalu tercurahkan tanpa henti sehingga mendorong semangat penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini dan juga keluarga yaitu Kak Hawa, Kak Nur, Abang Irman, Kak Yani dan adik Irul yang ikut serta memberikan dukungan kepada penulis sehingga penulis bisa semangat dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi ini dan dapat memberikan hasil akhir terbaik pula kepada kedua orang tua dan keluarga tercinta.
2. Dosen pembimbing akademik sekaligus pembimbing pertama skripsi Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin, Dipl. Ing. Agr dan Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M. Sc sebagai pembimbing pendamping yang telah meluangkan banyak waktu untuk penulis serta memfasilitasi penulis dengan memberikan bimbingannya, ilmu, waktu luang dan masih banyak hal lainnya yang penulis dapat pelajari dan semoga apa yang diberikan kepada penulis ini dapat bernilai ibadah, Aamiin.
3. Para dosen penguji yang sempat meluangkan waktunya dalam membagikan ilmu dan pengetahuannya pada saat seminar proposal. Banyak saran, masukan dan tanggapan tersampaikan yang dapat membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini. Serta para dosen-dosen pengampu mata kuliah yang ikut serta membantu penulis dengan memberikan banyak ilmu dan pengetahuan kepada penulis.
4. Para staf laboratorium Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Bapak Ahmad Yani, Bapak Kamaruddin dan Bapak Ardan yang telah meluangkan waktunya dan membantu pada saat persiapan penelitian hingga berakhirnya penelitian, penulis sangat terbantu dan berterimakasih sehingga dapat menyelesaikan langkah demi langkah dalam penelitian.
5. Teman sekaligus sahabat dibangku kuliah Andi Tenri Esa yang selalu senantiasa menemani, memberikan semangat, mendukung dan membantu memberikan support penulis dalam berbagai hal baik pada masa-masa perkuliahan, masa praktikum yang sedikit merepotkan namun asyik hingga akhir dalam penyusunan tugas akhir. Semoga tetap seperti ini dan masih saling komunikasai hingga kedepannya nanti meskipun akan sibuk masing-masing pada dunia barunya.
6. Teman-teman eksis grub Santun, Laila, Ria, Rida, Amel, Mita, Hikmah, Sukma, Jijah, Nini, Narti yang ikut serta membantu penulis, memberikan supportnya dikala banyaknya kebingungan dalam menyelesaikan skripsi penulis dan membantu mengembalikan semangat penulis.
7. Pak Djahid beserta Laboratorium Family, keluarga dalam kampus teman-teman dan kakak-kakak yang memfasilitasi ilmu pengetahuan, menemani, mengajarkan dan membantu dalam setiap proses penelitian berlangsung. Teman-teman seperjuangan seminar proposal Gita dan Alfin dan teman-teman biotera tidak lupa juga teman-teman

Kultur jaringan Gaizka, Syifa, Ermin, Ditha, Kak Widya. Terimakasih telah bersedia membantu penulis.

8. Teman-teman kos Dwi, Tina, Nanda dan Elsa yang selalu memberikan support dan semangat serta bantuan kepada penulis dan menemani penulis, saling menasehati dikala jatuh dan bangkit kembali hingga akhir pengerjaan skripsi sehingga tugas akhir Skripsi dapat terselesaikan oleh penulis.
9. Teman-teman Hama dan Penyakit 2020 serta teman-teman HIDROGEN 2020 yang telah membuka ruang dalam memberikan rasa persaudaraan dan kekeluargaan pada awal perkuliahan hingga akhir yang tentunya penulis berterimakasih.
10. Support system sekaligus teman bertengkar setiap hari dari jauh.

Serta semua stakeholder yang turut serta dalam membantu penyelesaian pendidikan, penelitian, dan penyusunan tugas akhir skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis. Penulis menyampaikan sebanyak-banyaknya ucapan Terima Kasih untuk seluruh bantuan yang telah diberikan. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan digunakan sebaik-baiknya sebagai acuan pembelajaran bagi pembaca.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Penulis,

Yuliyati

ABSTRAK

YULIYATI. **Tingkat Pertumbuhan dan Kontaminasi Planlet Pisang Barangan (*Musa Acuminata Colla*) pada *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) dan Media Padat”** (Dibimbing oleh BAHARUDDIN dan TUTIK KUSWINANTI).

Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS) merupakan salah satu metode perbanyakan propagul berbasis *bioreactor* menggunakan sistem perendaman sesaat dan secara berkala sehingga sel tanaman mendapatkan cukup oksigen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan eksplan, tingkat persentase eksplan hidup, peluang kontaminan serta identifikasi kontaminasi pada kultur jaringan pisang barangan (*Musa acuminata Colla*) pada TIBS. Penelitian ini dilaksanakan beberapa tahap yaitu persiapan propagul dari eksplan hasil perbanyakan. Pembuatan media kultur jaringan dengan penambahan hormon Benzyl amino purin (BAP) dan antibakteri *Plant preservative mixture* (PPM), sterilisasi alat, penanaman propagul, pemeliharaan ruang kultur serta pengamatan dengan menghitung tingkat pertumbuhan tunas, persentase eksplan hidup, persentase eksplan terkontaminasi dan identifikasi. Kontaminan cendawan diisolasi pada media Potato dextrose agar (PDA). Pengamatan makroskopis dengan mengamati warna, tekstur pertumbuhan koloni, dan bentuk permukaan koloni. Secara mikroskopis dilihat dari bentuk hifa dan spora yang dihasilkan. Kontaminan bakteri diisolasi pada media Natrium agar (NA). Pengamatan makroskopis dengan mengamati warna, tekstur pertumbuhan koloni, dan bentuk permukaan koloni dan secara fisiologis dengan uji Gram, uji katase serta uji oksidasi fermentatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada TIBS, persentase eksplan hidup tanpa kontaminan adalah sebesar 60%. Dari eksplan awal yang berjumlah 50 tunas diperoleh 321 tunas pada eksplan akhir, sedangkan pada media padat persentase eksplan hidup tanpa kontaminan adalah sebesar 100%. Eksplan awal juga berjumlah 50 tunas dan eksplan akhir berjumlah 323 tunas. Persentase eksplan yang terkontaminasi pada media cair TIBS adalah 40% dan 0% pada media padat. Berdasarkan identifikasi makroskopis dan mikroskopis, mikroorganisme kontaminan ditemukan pada penelitian ini adalah bakteri Gram positif yaitu bakteri *Bacillus* sp. dan *Streptomyces* sp., sedangkan dari kelompok cendawan adalah *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp.

Kata Kunci: Kultur jaringan, *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.

ABSTRACT

YULIYATI. "Growth and Contamination Levels of Barangan (*Musa acuminata* Colla) Plantlets in the *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS) and Solid Media" (Supervised by BAHARUDDIN and TUTIK KUSWINANTI).

Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS) is a bioreactor-based propagule propagation method using a temporary and periodic immersion system so that plant cells get enough oxygen. This research aims to determine the speed of explant growth, the percentage level of live explants, the chance of contamination and identification of contamination in tissue culture of Barangan banana (*Musa acuminata* Colla) on TIBS. This research was carried out in several stages, namely preparation of propagules from explants resulting from propagation. Making tissue culture media with the addition of the hormone Benzyl amino purine (BAP) and antibacterial *Plant Preservative Mixture* (PPM), sterilizing tools, planting propagules, maintaining the culture room and observing by calculating the shoot growth rate, percentage of live explants, percentage of contaminated explants and identification. Fungal contaminants were isolated on Potato dextrose agar (PDA) media. Macroscopic observation by observing the color, texture of colony growth, and surface shape of the colony. Microscopically, it can be seen from the shape of the hyphae and spores produced. Bacterial contaminants were isolated on sodium agar (NA) media. Macroscopic observation by observing the color, texture of colony growth and surface shape of the colony and physiologically using the Gram test, catase test and fermentative oxidation test. The results showed that in TIBS, the percentage of live explants without contaminants was 60%. From the initial explants totaling 50 shoots, 321 shoots were obtained in the final explants, while on solid media the percentage of live explants without contaminants was 100%. The initial explants also numbered 50 shoots and the final explants totaled 323 shoots. The percentage of contaminated explants on TIBS liquid media was 40% and 0% on solid media. Based on macroscopic and microscopic identification, the contaminating microorganisms found in this study were Gram positive bacteria, namely *Bacillus* sp. and *Streptomyces* sp., while from the fungus group is *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp.

Keywords: Tissue culture, *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	v
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan Penelitian	3
1.3 Hipotesis Penelitian	3
1.4 Landasan Teori	3
1.4.1 Pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla.).....	3
1.4.2 Morfologi Tanaman Pisang	4
1.4.3 Perbanyakkan Tanaman Pisang Secara Kultur Jaringan	4
1.4.4 Definisi Kultur Jaringan	5
1.4.5 Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS)	6
1.4.5 Zat Pengatur Tumbuh	6
1.4.6 Kontaminasi pada Kultur Jaringan	7
BAB II. METODE PENELITIAN	9
2.1 Tempat dan Waktu	9
2.2 Alat dan Bahan	9
2.3 Metode Penelitian	9

2.3.1	Persiapan Propagul	9
2.3.2	Persiapan Media Tanam	9
2.3.3	Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur	9
2.3.4	Penanaman	10
2.3.5	Pemeliharaan Eksplan Kultur	10
2.4	Parameter Pengamatan	10
2.4.1	Tingkat Pertumbuhan Tunas	10
2.4.2	Persentase Eksplan Hidup	10
2.4.3	Persentase Eksplan Terkontaminasi	11
2.4.4	Identifikasi Kontaminan	11
	a. Identifikasi Cendawan	11
	b. Identifikasi Bakteri	11
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN		13
3.1	Hasil	13
3.1.1	Persentase Eksplan Hidup	13
3.1.2	Tingkat Pertumbuhan Tunas	14
3.1.3	Persentase Eksplan Terkontaminasi	16
3.1.4	Identifikasi Kontaminasi	16
3.2	Pembahasan	21
BAB IV. PENUTUP		26
4.1	Kesimpulan	26
4.2	Saran	26
DAFTAR PUSTAKA		27
LAMPIRAN		31
	Lampiran Gambar	32
	Lampiran Tabel	35

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Persentase eksplan hidup pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat kultur jaringan pisang barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla)	13
2. Pertumbuhan tunas kultur jaringan pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) pada umur 14, 28 dan 32 MSD pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat	14
3. Rata-rata pertumbuhan tunas kultur jaringan pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) pada umur 14, 28 dan 32 MSD pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat	14
4. Rata-rata pertumbuhan tunas kultur jaringan pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) umur 14, 28 dan 32 MSD pada tahap inisiasi tunas	15
5. Persentase eksplan terkontaminasi pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat tunas kultur jaringan pisang barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla)	16
6. Hasil identifikasi secara makroskopis pada isolat bakteri kontaminan	17
7. Hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis pada	19

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Pertumbuhan planlet pisang barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) pada 14, 28 dan 32 masa setelah dikulturkan (MSD) pada <i>temporary immersion bioreactor system</i> (TIBS) (a) dan pada media padat (b).....	15
2. Pertumbuhan planlet pisang barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) pada 14, 28 dan 32 masa setelah dikulturkan (MSD) pada inisiasi induk tunas pisang.	15
3. Kultur jaringan pisang barangan yang mengalami kontaminasi media cair <i>Temporary immersion bioreactor system</i> (TIBS)	16
4. Isolat bakteri kontaminan pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS); a. isolat bakteri kontaminan, b. Hasil uji oksidasi-fermentatif perlakuan control (1), tanpa tutupan agar (2) dan dengan tutupan agar (3), c. uji gram (reaksi negatif-gram positif), d. uji katalase (reaksi bergelembung).....	17
5. Isolat bakteri kontaminan pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS); a. isolat bakteri kontaminan, b. Hasil uji oksidasi-fermentatif perlakuan control (1), tanpa tutupan agar (2) dan dengan tutupan agar (3), c. uji gram (reaksi negatif-gram positif), d. uji katalase (reaksi bergelembung)	18
6. Isolat cendawan kontaminan pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS); a) isolat cendawan kontaminan, b) karakteristik mikroskopik, 1: konidiofor; 2: konidia; 3: hifa; 4: sporangium	19
7. Isolat cendawan kontaminan pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS); a) Isolat cendawan kontaminan, b) karakteristik mikroskopik 1: percabangan konidiofor ; 2: konidiofor ; 3: fialid ; 4: konidia.	20

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Pembuatan media kultur jaringan; a) menimbang media MS 4,43 gram, b) menimbang gula 30 gram, c) mencampurkan bahan yang telah ditimbang dan air kedalam erlenmeyer sebanyak 1 liter, d) mengambil 4 ml larutan stok zat pengatur tumbuh BAP, e) mencampurkan larutan BAP kedalam erlenmeyer, f) mengambil larutan stok PPM, g) mencampurkan larutan PPM kedalam erlenmeyer, h) homogenkan semua bahan, i) pengecekan Ph (5,6-5,8) pada larutan media, j) penunangan agar-agar pada media, k) panasi sampai larutan media mendidih, l) penuangan media kedalam wadah gelas kultur	32
2. Penanaman kultur jaringan pisang barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla); a) penanaman kultur jaringan pisang barangan pada berbagai media, b) kultur jaringan pisang barangan pada media cair TIBS dan media padat	32
3. Pembuatan larutan stok dan pengujian oksidasi-fermentatif pada bakteri kontaminasi; a) media HL (hugh-leifshon), b) penuangan media HL dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml, c) larutan glukosa, d) persiapan alat dan bahan uji sekaligus pengujian oksidasi-fermentatif pada bakteri kontaminasi	33
4. Penuangan media NA dan PDA untuk isolasi bakteri maupun cendawan kontaminasi; a) penuangan media PDA, b) isolasi cendawan kontaminasi, c) penuangan media NA, d) isolasi bakteri kontaminasi	33
5. Isolasi bakteri kontaminan; a) sterilisasi pijar jarum ose, b) sterilisasi pijar bagian permukaan cawan berisi isolat bakteri, c) mengambil isolat menggunakan jarum ose, d) penggoresan isolat pada media NA, e) menutup cawan dan sterilisasi kembali bagian pinggir cawan, f) wrapping cawan berisi isolat bakteri	33
6. Uji gram dan uji katalase pada bakteri kontaminasi; a) persiapan alat dan bahan uji katalase dan uji gram, b) uji gram dan uji katalase bakteri kontaminasi, c) hasil uji gram dan uji katalase bakteri kontaminan pertama, d) hasil uji gram dan katalase bakteri kontaminan kedua	34
7. Rata-rata pertumbuhan tunas kultur jaringan pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) pada umur 14, 28 dan 32 MSD pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat	35
8. Persentase eksplan hidup pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat kultur jaringan Pisang Barangan	35
9. Persentase eksplan terkontaminasi pada media cair <i>Temporary Immersion Bioreactor System</i> (TIBS) dan media padat	36
10. Rata-rata pertumbuhan tunas kultur jaringan pisang Barangan (<i>Musa acuminata</i> Colla) umur 14, 28 dan 32 MSD pada tahap inisiasi tunas	36

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagai tanaman yang berasal dari Asia Tenggara, pisang dijadikan sebagai salah satu jenis buah kekayaan di Indonesia. Pisang termaksud dalam suku Musaceae yang dapat tumbuh di daerah tropis. Tanaman pisang dapat berbuah setiap tahunnya. Sentra primer keberagaman jenis pisang berada di Indonesia dengan lebih dari 32 jenis diantaranya yaitu pisang barangan, kepok, pisang susu, dan lain sebagainya. Tanaman pisang termaksud tanaman yang dapat ditemui di berbagai area seperti pekarangan, sawah, dan kebun (Ryan dan Pigai, 2020).

Pisang (*Musa* spp.) sebagai salah satu komoditas yang dibudidayakan di dataran Indonesia. Pisang termaksud komoditas komersial dengan berbagai manfaatnya, memiliki nilai gizi yang baik apabila mengonsumsinya sehingga dijadikan sebagai penopang ketahanan pangan dalam negeri. Indonesia merupakan negara tropis sehingga banyak tanaman yang dapat tumbuh dengan keadaan lingkungan yang mendukung, terutama pada tanaman pisang. Cara budidaya yang mudah dengan kondisi iklim dan lingkungan yang mendukung membuat tanaman pisang banyak dibudidayakan di setiap daerah dengan jenis pisang beragam (Nurhidayah, 2019).

Pisang cv barangan sangat berpeluang untuk dikembangkan dimana tanaman ini memiliki nilai komersial cukup tinggi. Terdapat banyak kandungan gizi baik vitamin maupun mineral yang terdapat pada pisang termaksud serotonin. Pisang diperbanyak secara konvensional bisa mempertahankan semua karakter induknya tetapi penyakit virus dapat ditularkan dari induk yang terinfeksi atau dari tanah yang terinfeksi di sekitar akar tanaman pisang. Alternatif perbanyakan konvensional pada perbanyakan tanaman dapat digantikan dengan perbanyakan secara *in vitro* yaitu kultur jaringan dimana cara ini dapat menghasilkan perbanyakan tanaman secara massal dan bebas gangguan penyakit. Keberhasilan pengembangan *in vitro* melalui kultur jaringan pada penambahan cairan tumbuh sebagai alternatif dapat mempengaruhi hasil kultur jaringan (Tuwo *et al.*, 2021).

Tercatat pada Badan Pusat Statistika (BPS) tahun 2022, dimana hasil produksi tanaman pisang mendapatkan hasil sebesar 9,60 juta ton yang dimana hasil ini mencapai hasil terbanyak pada tahun sebelumnya dengan perbandingan hasil mencapai 9,79%. Berdasarkan data menurut Badan Pusat Statistika (BPS) pada tahun sebelumnya hanya mencapai hasil produksi sebanyak 8,74 ton. Melihat hal tersebut, menunjukkan bahwa produksi pisang meningkat di Indonesia. Berdasarkan wilayahnya, Jawa Timur menjadi produsen pisang terbesar di Indonesia lantaran menghasilkan 2.626.582 ton pada 2022. Sementara kepulauan Riau tercatat sebagai provinsi yang paling sedikit memproduksi pisang pada 2022, yakni 3.049 ton. Berdasarkan agroklimat yang dilihat pada daerah Sulawesi Selatan, tercatat pada daerah ini memiliki potensi dalam pengembangan buah utamanya pisang. Sulawesi Selatan telah mengembangkan beberapa komoditas unggulan hortikultura salah satunya yaitu pisang pada tahun 2022 sebanyak 177.727 ton (Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan, 2022).

Peningkatan produksi pisang di Indonesia memerlukan sumber daya tambahan, cara yang dimaksud seperti dilakukannya penggunaan pisang perkebunan. Dalam Perkebunan pisang, penggunaan bibit pisang dalam jumlah besar serta memperhatikan kualitas buah yang baik. Cara perbanyakan bibit pisang tidak hanya menggunakan cara konvensional yang menggunakan bonggol maupun anakan pisang tetapi juga secara *in vitro* yaitu kultur jaringan. Perbanyakan konvensional yang dimana memakan waktu yang relatif lama, hasil tidak sama dengan indukan juga mudah terinfeksi mikroorganisme hingga hama pengganggu. Jika dibandingkan dalam penggunaan perbanyakan kultur jaringan yang mengandalkan teknologi

cepat menghasilkan anakan secara massal, sama dengan induknya dan kualitas bibit terjamin dari gangguan penyakit (Pagalla *et al.*, 2015).

Kultur jaringan dikenal sebagai salah satu perbanyakan dengan menggunakan metode pengisolasian eksplan pada tanaman yang digunakan, salah satu bagian daripada tanaman dilakukan dengan keadaan steril baik dalam persiapan maupun proses perbanyakan yang dilakukan pada ruang steril. Bagian tanaman yang sebelumnya diisolasi beberapa waktu dihitung setelah masa tanam dapat melakukan perbanyakan alami tunas-tunas hingga tumbuh menjadi tanaman sempurna. Faktor keberhasilan yang memengaruhi hal tersebut disebabkan oleh beberapa hal seperti: media tumbuh, keadaan lingkungan yang steril, eksplan yang digunakan, zat pengatur tumbuh (Tilaar, 2007). Pada teknik modern berupa penggunaan kultur jaringan ketersediaan bibit tanaman pisang terjamin. Pertumbuhan serta perbanyakan tidak terpengaruh iklim (Pagalla *et al.*, 2015).

Kultur *in vitro* sendiri adalah sistem yang digunakan sejak lama yang menandakan kemajuan teknologi pada bidang riset pertanian salah satunya yaitu dalam pengembangan *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS). Selain perbanyakan yang umum dilakukan menggunakan sistem semi-solid, juga telah dikembangkan *Temporary Immersion Bioreactor System* (TIBS). Teknologi ini menggabungkan keuntungan aerasi yang baik pada sistem semi-solid dan pemaparan nutrisi yang baik pada sistem perendaman berkelanjutan atau dikenal dengan sistem perendaman sementara atau sesaat secara berkala dan dengan waktu yang telah ditentukan. Salah satu keuntungan TIBS dibandingkan sistem lainnya adalah perubahan antara aerasi dan perendaman eksplan secara berkala dalam media cair yang meningkatkan pertukaran gas, suplai oksigen, dan mengurangi hiperhidrasi (Kunakhonnuruk *et al.*, 2019). Mikropropagasi pada beberapa tanaman menggunakan TIBS dilaporkan telah menghasilkan peningkatan pertumbuhan yang lebih tinggi, peningkatan produksi biomassa, dan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan sistem perbanyakan konvensional menggunakan medium semi-solid (Ulia, 2023). Jika dibandingkan dengan menggunakan suspensi sel, bioreactor memberikan hasil yang lebih konsisten karena dilengkapi dengan mekanisme gas atau penggojokan yang menjaga kondisi sel yang ditumbuhkan (Ismningsih *et al.*, 2022).

Cukup banyak masalah pembibitan dan perbanyakan pisang yang hampir setiap saat muncul. Salah satu mengatasi masalah tersebut dengan penggunaan perbanyakan modern yaitu kultur jaringan. Diketahui bahwa penggunaan kultur jaringan dihasilkan bibit berjumlah banyak dengan waktu singkat sehingga dapat mencapai perbanyakan skala besar (Baharuddin *et al.*, 2020). Cara perbanyakan kultur jaringan tidak hanya pada penggunaan media padat, namun juga terdapat perbanyakan yang dilakukan dengan media cair, salah satunya penggunaan temporary immersion bioreactor system (TIBS). Metode TIBS merupakan upaya perbanyakan bibit pisang yang dilakukan dengan pemanfaatan teknologi dan media cair didalamnya (Ernayunita, 2020).

Media yang umum digunakan dalam perbanyakan atau dikenal dengan subkultur ini adalah media dasar yaitu Murashige and Skoog. Tidak hanya penggunaan media, penambahan zat pengatur tumbuh berupa sitokinin, auksin dan giberelin dapat membantu merangsang pertumbuhan eksplan yang diperbanyak (Pagalla *et al.*, 2015). Namun tingkat kontaminasi pada perbanyakan kultur jaringan masih saja mengganggu dalam kegiatan, karenanya dapat dilakukan pencegahan terhadap gangguan mikroorganisme yang ada berupa kontrol dalam menggunakan alat dan bahan steril serta larutan *Plant Preservative Mixture* (PPM). PPM adalah biosida dimana sering digunakan pada kegiatan kultur jaringan termaksud kedalam golongan isotiazolon. PPM merupakan campuran dari metilisotiazolinon metilkloroisotiazolinon. PPM ini jika dibandingkan antibiotika lainnya, bahan ini dapat menjangkau spektrum yang luas dimana bahan ini biasana diberikan pada media sebelum diautoclaf serta tahan akan suhu

tinggi (Sinta dan Riyadi, 2014). PPM sebagai salah satu biosida yang digunakan guna menghambat mikroorganisme baik jamur, bakteri dan lainnya. Dosis yang digunakan yaitu $\frac{1}{2}$ ml per liter media (Hanida dan Rahayu, 2018).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilaksanakan penelitian mengenai tingkat pertumbuhan planlet Pisang Barangan (*Musa acuminata* Colla) pada *temporary immersion bioreactor system* (TIBS) dan tingkat kontaminasinya untuk mengetahui pertumbuhan planlet, persentase eksplan hidup, tingkat kontaminasi serta identifikasi kontaminan pada kultur jaringan pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) tersebut.

1.2 Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pertumbuhan planlet, persentase eksplan hidup, tingkat kontaminasi serta identifikasi kontaminan pada kultur jaringan pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) pada *temporary immersion bioreactor system* (TIBS).

Kegunaan dari penelitian ini yaitu sebagai bahan informasi dan pembelajaran dalam mengetahui tingkat pertumbuhan planlet Pisang Barangan (*Musa acuminata* Colla) pada *temporary immersion bioreactor system* (TIBS) dan tingkat kontaminasinya.

1.3 Hipotesis Penelitian

Terjadi peningkatan pertumbuhan pada *temporary immersion bioreactor system* (TIBS) dimana menghasilkan planlet kultur jaringan pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) yang relatif banyak.

1.4 Landasan Teori

1.4.1 Pisang Barangan (*Musa acuminata* Colla.)

Salah satu yang dibudidayakan di Indonesia adalah Pisang. Pisang merupakan tanaman komersial yang memiliki banyak manfaat serta nilai gizi yang baik apabila mengonsumsinya. Pisang menjadi tanaman pangan penopang dalam negeri. Indonesia merupakan negara tropis sehingga banyak tanaman yang dapat tumbuh dengan keadaan lingkungan yang mendukung, terutama pada tanaman pisang. Cara budidaya yang mudah dengan kondisi iklim dan lingkungan yang mendukung membuat tanaman pisang banyak dibudidayakan di setiap daerah dan dengan jenis pisang yang beragam. Jika dibandingkan pisang jenis lain yang dikembangkan di Indonesia, pisang barangan dengan karbohidrat tinggi mencapai sebesar 22 persen (Nurhidayah, 2019).

Banyaknya varietas pisang yang berhasil di budidayakan di Indonesia, salah satunya yaitu barangan yang dikenal sebagai pisang komersial yang memiliki nilai tinggi dalam lingkup masyarakat sehingga memiliki peluang besar pada perkembangannya dalam ruang budidaya. Karenanya minat daripada pisang barangan yang tinggi mencapai area perkotaan besar diantaranya sumatera hingga jakarta. Pada budidaya pisang yang dilakukan tidak semua memiliki kesamaan cara budidaya, seperti halnya pisang barangan. Pisang jenis ini menginginkan lingkungan serta perawatan yang intensif dilakukan dapat berimbas pada hasil produktivitas serta kualitas pada buah (Latunra *et al.*, 2017).

Pisang menjadi salah satu buah komersial yang berhasil dibudidayakan, tanaman ini tersebar hampir diseluruh dunia dengan keunggulannya yang mudah budidayakan. Memiliki rasa khas, enak dengan kandungan gizi yang baik seperti karbohidrat, vitamin dan mineral dengan harga yang dapat dijangkau. Selain dapat dikonsumsi biasa, pisang dapat juga digunakan sebagai bahan olahan berbagai macam makanan. Hal tersebut menjadikan pisang sebagai tanaman yang berpotensi tinggi dengan jangkauan daerah yang luas. Budidaya tanaman pisang ini dapat dilakukan di sembarang tempat seperti: area sawah, ladang, gunung, kebun hingga pekarangan rumah. Pisang barangan dikenal luas sebagai pisang meja,

kandungan yang dimiliki pisang ini menghasilkan buah yang memiliki rasa enak, aroma harum dengan daging buah yang memiliki keunikan rasa tersendiri (Latunra *et al.*, 2016).

Menurut Frebian (2017) dibawah ini merupakan klasifikasi pada pisang barangan yaitu:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa acuminata</i> Colla.

1.4.2 Morfologi Tanaman Pisang

Akar tanaman yang dimiliki pisang yaitu akar serabut. Akar serabut memiliki ketebalan 5 hingga 8 mm dan biasanya berkelompok berjumlah 4 di permukaan bonggol, akar yang sehat ditandai dengan warna putih segar (Frebian, 2017). Ketebalan pada akar utama tanaman ini mencapai hingga 5-8 mm, perkembangan akar sekunder dan tersier berbeda dengan akar utama yang memiliki panjang lebih dari kedua akar tersebut. Akar sekunder dari protoxilem pada ujung akar yang secara bertahap berkembang. Beberapa jarak di dasar akar selama pertumbuhan utamanya menghasilkan rambut akar yang berguna sebagai filter mineral dan air dalam tanah (Harahap, 2018).

Pisang memiliki ketinggian hingga ≥ 3 m, dengan batang normal berwarna hijau kekuningan. Batang tanaman pisang disebut batang semu yang berbeda dari tanaman lainnya, berbentuk lembaran saling tumpang tindih dengan daun-daun baru dan bagian tengah terdapat bunga. Ukurang batang pada kisaran tinggi 48 cm juga tabal batang 20 hingga 50 cm. Batang sejati pada pisang juga akan muncul yang nantinya tumbuh dan membentuk tandan setelah terbentuknya bunga. Daun pada tanaman pisang berjumlah lebih kurang 10-20 helai dengan beberapa tanaman memiliki jumlah daun pada siklus pertumbuhannya berjumlah 35-50 daun serta rata-rata berjumlah 40 daun umur 8 - 18 bulan masa pertumbuhan tanaman pisang (Pratama, 2020).

Bunga pada tanaman pisang berjumlah 12 - 20 per kluster dengan melingkar pada tangkai bunga. Bagian-bagian bunga yang dapat diketahui yaitu bunga jantan yang terletak pada ujung bunga, bunga betina yang terletak pada pangkal bunga, dan bunga lengkap. Pada ujung tandan yang terdapat pada bunga merupakan titik tumbuh yang nantinya akan berkembang menjadi bunga. Pada bunga jika ovarium yang berasal dari bunga betina terjadi perkembangan menjadi buah. Berbagai macam sistem buka daripada seludang bunga (bractea) seperti terjadi penggulungan bagian ujung bunga yang nantinya menuju kebelakang ujung bunga ada juga proses penggulungan dengan membukannya tanpa terjadi perubahan bentuk seludang pada bunga (Frebian, 2017).

1.4.3 Perbanyak Tanaman Pisang Secara Kultur Jaringan

Secara umum tehnik perbanyak tanaman terbagi kedalam beberapa metode seperti: metode vegetatif, metode ini menggunakan perbanyak dengan cara okulasi, cangkok, setek, kultur jaringan maupun penyambungan merundung. Metode lainnya yaitu dengan teknik memperbanyak dengan biji berbagai jenis tanaman yang ada atau dikenal dengan perbanyak generatif. Umumnya anakan atau bonggol pisang dipakai sebagai perbanyak. Dengan

metode yang tepat maka mampu menghasilkan banyak anakan tanaman selanjutnya yang dapat dikembangkan (Gultom *et al.*, 2023).

Budidaya pada tanaman pisang ini juga terbagi menjadi 2 cara yaitu secara konvensional dan modern menggunakan teknik kultur jaringan (*in vitro*). Budidaya tanaman pisang secara konvensional yang merupakan cara budidaya dengan hasil perbanyakan yang relatif sedikit dengan waktu yang cukup lama. Hasil anakan terkadang berbeda dengan indukannya atau tidak sama serta terjadi penurunan kualitas, rentan terhadap serangan hama maupun penyakit pada anakan yang di hasilkan. Teknik ini biasanya menggunakan cara penanaman bonggol, anakan (*sucker*) atau pembelahan bonggol pisang. Berbeda halnya dengan teknik perbanyakan menggunakan metode kultur jaringan, dimana pada tingkat produktivitas jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional dengan penggunaan waktu yang relatif lebih cepat juga dihasilkan anakan sesuai dengan induknya serta dapat menghasilkan anakan berkualitas tahan terhadap serangan penyakit (Putri, 2023).

Tujuan dari metode kultur jaringan adalah agar membantu meningkatkan jumlah tanaman yang sulit tumbuh secara turun-temurun. Diantara manfaat metode ini adalah memiliki karakteristik yang mirip dengan tanaman itu sendiri, dapat tumbuh dalam jumlah banyak tanpa membutuhkan area yang luas, dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dalam waktu singkat, lebih cenderung sehat dan memiliki mutu bibit yang lebih stabil, serta dapat menanam dan memperbanyak tanaman lebih jika dibandingkan penggunaan metode konvensional (Gultom *et al.*, 2023).

1.4.4 Definisi Kultur Jaringan

Kultur jaringan atau *tissue culture* diambil dari dua suku kata yaitu *culture* yang berarti kultur-budidaya dan *tissue* yang berarti jaringan, dapat diartikan sebagai kumpulan sel yang memiliki fungsi dan bentuk sama. Kultur jaringan diartikan sebagai teknik budidaya menggunakan jaringan suatu tanaman hingga dihasilkannya suatu tanaman dimana hasilnya sama seperti induk, meningkatkan keefektifan serta hasil produksi jaringan tanaman yang dikulturkan. Perbanyakan menggunakan teknik tersebut bisa dilakukan tanpa memperhatikan ruang tanam dan berpeluang besar sehingga hasil perbanyakan bibit didapatkan dalam waktu yang relatif singkat (Wulandari, 2018).

Kultur jaringan itu sendiri merupakan salah satu perbanyakan dengan pengambilan jaringan pada tanaman induk yang nantinya dikembangkan pada media yang sebelumnya telah diberikan nutrisi bagi jaringan tanaman agar dapat tumbuh. pertumbuhan tanaman pada teknik ini diharapkan menjadi tanaman lengkap yang berkualitas. Faktor-faktor dalam keberhasilan kultur jaringan yaitu tanaman mampu hidup pada media tumbuh yang disediakan, kondisi media yang digunakan, penggunaan serta penambahan zat pengatur tumbuh pada media pertumbuhan (Wulannanda *et al.*, 2023). Teknik kultur jaringan ini mampu menghasilkan jaringan tanaman dengan tingkat multiplikasi yang tinggi, secara genetik, anakan yang sama serta bahan tanamannya yang bebas hama dan penyakit. Keuntungan lainnya pada kultur jaringan dimana bibit yang dihasilkan dapat cepat tumbuh dan menghasilkan anakan dalam jumlah besar (Latunra *et al.*, 2016).

Media tumbuh dengan baik yang menjamin tumbuh dan berkembangnya jaringan tanaman yang dikulturkan. Terdapat banyak jenis media kultur jaringan yang menjadi media tumbuh jaringan tanaman seperti: Medium dasar *Murashige dan Skoog* dengan kandungan komponen lengkap yang dibutuhkan jaringan tumbuhan seperti unsur hara makro dan mikro, gula, asam amino, vitamin dan zat tumbuh tanaman, terdapat pula media *Vacin & Went* digunakan tanaman anggrek, B5 digunakan pada kedelai, *Woody Plant Medium by Loyd & McCown* digunakan bagi tanaman berkayu, medium Nitsch digunakan di serbuk sari juga kultur sel serta Schenk & Hildebrandt digunakan pada tanaman monokotil (Siregar, 2022).

1.4.5 *Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS)*

Sebagai perangkat atau sistem yang telah dipakai sejak lama yang menandakan kemajuan teknologi pada bidang riset pertanian salah satunya yaitu dalam pengembangan *Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS)*. Selain perbanyakan yang umum dilakukan menggunakan sistem semi-solid, juga telah dikembangkan *Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS)*. Teknologi ini menggabungkan keuntungan aerasi yang baik pada sistem semi-solid dan pemaparan nutrisi yang baik pada sistem perendaman berkelanjutan. Salah satu keuntungan TIBS dibandingkan sistem lainnya adalah perubahan antara aerasi dan perendaman eksplan secara berkala dalam media cair yang meningkatkan pertukaran gas, suplai oksigen dan mengurangi hiperhidrasi (Kunakhonnuruk et al., 2019). Mikropropagasi pada beberapa tanaman menggunakan TIBS dilaporkan telah menghasilkan peningkatan pertumbuhan yang lebih tinggi, peningkatan produksi biomassa, dan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan sistem perbanyakan konvensional menggunakan medium semi-solid (Ulfa, 2023).

Temporary Immersion Bioreactor System Application (TISB) adalah sejenis bioreaktor berbasis kultur dengan penggunaan media cair dalam memperbanyak jaringan tanaman skala besar. TIBS menggunakan wadah dengan komponen yaitu bagian wadah bawah merupakan penyangga dan wadah atas merupakan area tumbuh. Sistem TIBS diawali dengan proses penekanan wadah bawah oleh udara yang steril yang nantinya terjadi kenaikan media pada wadah bawah ke atas sehingga jaringan tanaman dapat tergenang oleh cairan media. Penggenangan jaringan tanaman oleh media diatur menggunakan *autonic double timer* sehingga lama dan waktu selesai penggenangan oleh media terjadi secara otomatis. TIBS sebagai bioreaktor dengan sistem merendam sementara secara berkala dan dengan waktu yang telah ditentukan, hal demikian membuat jaringan pada tanaman mendapatkan cukup oksigen serta waktu yang diatur secara otomatis. Berbeda halnya dengan media padat, penggunaan media cair sistem TIBS ini dapat menekan terjadinya kontaminasi media maupun jaringan yang ditumbuhkan (Ernayunita, 2020).

Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS) sebagai salah satu sistem yang memanfaatkan sistem perendaman dimana waktu dalam sistem ini telah ditentukan berdasarkan kebutuhan yang diinginkan oleh planlet yang nantinya akan dikulturkan. Akibatnya pada planlet, kalus dan lainnya yang dikulturkan setelah tergenang cairan akan kembali pada paparan udara yang terjadi secara otomatis dan dalam waktu yang ditentukan. Hal ini dapat membuat planlet yang dikulturkan mendapatkan cukup nutrisi dan udara yang memudahkan planlet berkembang (Sumaryono et al., 2018). Hasil perbanyakan menggunakan TIBS menghasilkan bibit berkualitas juga mampu memperbanyak dalam waktu yang cepat (Azahra, 2023).

Tidak hanya itu, prinsip sistem perendaman sesaat dimana planlet dengan cairan media tidak terjadi secara terus-menerus dalam perendaman. Adapun perlengkapan alat TIBS terdiri dari *media vessel* dan *culture vessel*. *Temporary Immersion Bioreactor System (TIBS)* ini cukup yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bagi eksplan tanaman. Pada sistem ini juga memiliki keunggulan dimana pada saat pertumbuhan sel tanaman yang dikulturkan dapat berkembang baik karena sistem yang dibuat merupakan sistem dengan perpaduan udara yang dapat mempertahankan keadaan tetap homogen (Isminingsih et al., 2022).

1.4.6 *Zat Pengatur Tumbuh*

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah jenis bahan penyusun media yang berfungsi sebagai perangsang dalam pertumbuhan planlet tanaman yang dikulturkan berupa pertumbuhan tunas maupun akar tanaman. Diantara jenis ZPT yang sering digunakan yaitu auksin dan sitokinin yang membantu merangsang pertumbuhan tunas tanaman pisang. Konsentrasi ZPT yang diberikan pada media akan sangat berpengaruh pada morfogenesis juga organogenesis yang

dikehendaki pada kegiatan kultur jaringan. Fungsi daripada Auksin pada tanaman dapat memberikan perpanjangan sel tanaman, pembentukan pada kalus juga akar serta mampu menghambat adanya tunas cabang pada ketiak daun. Perbedaan konsentrasi pemberian auksin sangat berpengaruh. Dosis auksin rendah memengaruhi munculnya akar adventif berbeda halnya pada dosis tinggi memengaruhi munculnya kalus. ZPT jenis sitokinin adalah jenis senyawa yang berfungsi dalam diferensiasi maupun pertumbuhan tanaman (Firliana, 2022).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat dibutuhkan, dimana adanya ZPT mampu merangsang pertumbuhan akar tanaman serta tunas. ZPT memiliki dosis dan ketentuan dalam penggunaannya dimana tidak semua jenis dapat digunakan dalam pertumbuhan jaringan tanaman melainkan penggunaan bergantung daripada fungsi dan tujuan masing-masing ketika proses penanaman aringan tanaman. Hasil daripada suatu metode perbanyakan kultur jaringan ini berpengaruh pada media kultur. Penggunaan ZPT juga merupakan komponen penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara *in vitro* (Ningsih *et al*, 2022).

Terdapat banyak jenis zat pengatur tumbuh (ZPT), namun beberapa jenis dapat digunakan dalam perbanyakan teknik kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan pada proses perbanyakan metode kultur jaringan seperti: *Indol Acetic Acid* (IAA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), *Benzyl Amino Purine* (BAP), dan *Indole 3-Butyric Acid* (IBA). *Benzyl Amino Purine* (BAP) merupakan ZPT yang berasal dari golongan sitokinin dimana kegunaan ZPT ini dapat sebagai penginduksi dalam pembentukan tunas adventif pada eksplan tanaman pisang. *Indol Acetic Acid* (IAA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), dan *Indole 3-Butyric Acid* (IBA) adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) dari jenis auksin, dimana dapat berpengaruh pada perkembangan sel sebagai perangsang pertumbuhan akar pada eksplan tanaman yang digunakan (Ningsih *et al.*, 2022).

1.4.7 Kontaminasi pada Kultur Jaringan

Kontaminasi pada kultur jaringan adalah suatu fenomena yang biasa terjadi pada proses kultur jaringan tanaman sebagai salah satu masalah terbesar yang dihadapi berasal dari gangguan mikroorganisme pada jaringan tanaman maupun media kultur jaringan. Media maupun eksplan terkontaminasi memiliki gejala berupa perubahan warna menjadi warna putih berlendir, biru maupun krem (Oratmangun *et al.*, 2017). Hal tersebut dapat terjadi akibat serangan mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan organisme lain yang mengganggu (Adihaningrum dan Rahayu, 2019). Permasalahan lainnya kultur jaringan seperti: pencoklatan perubahan warna cokelat atau hitam, tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan eksplan; vitrifikasi atau pertumbuhan tidak normal dan tanaman kerdil; Pertumbuhan dan perkembangan kurun waktu tertentu tidak mati namun juga tidak tumbuh; lingkungan mikro yaitu pengaturan suhu sangat menentukan optimalitas pertumbuhan, suhu rendah atau tinggi dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Yuliarti, 2010).

Kontaminasi pada bahan tanaman terjadi akibat adanya infeksi baik eksternal maupun internal. Upaya pencegahan dalam kontaminasi eksternal yang terjadi dilakukan dengan sterilisasi permukaan bahan tanaman. Berbeda halnya dengan infeksi yang terjadi pada infeksi internal yang dimana infeksi ini tidak dapat dilakukan hanya dengan sterilisasi permukaan saja. Mikroorganisme yang masuk kedalam media, botol kultur atau alat-alat tanam, ruang kerja dan kultur yang kotor (spora berterbangan dalam ruang kultur) dan kesalahan lain yang mengakibatkan kurang sterilitasnya area. Membuat kondisi aseptik dilakukan sterilisasi basah autoklaf, desinfektan atau lampu ultraviolet sehingga mikroba-mikroba pengganggu dapat dimatikan. Mikroorganisme kecil masuk dan menginfeksi dengan melepaskan senyawa beracun kedalam medium kultur yang dapat menyebabkan kematian jaringan dari luka pada eksplan karena kesalahan pemotongan . Oleh karena itu dalam inisiasi suatu kultur, sumber

kontaminasi penyebab kontaminasi harus segera diatasi guna meminimalisir/mengurangi terjadinya kontaminasi (Oratmangun *et al.*, 2017).

Mengurangi kontaminasi kultur jika pada induk tanaman pisang yaitu dengan tanaman dicuci bersih dan bagian yang tidak dikulturkan dibuang. tidak hanya pencucian namun penggosokan yang merata dan membuang daun mengingat kebanyakan daun tidak digunakan dalam kultur jaringan pisang (Yuliarti, 2010). Pada eksplan hasil perbanyakan dalam laboratorium yaitu dikakukan pemilihan eksplan yang baik nantinya akan digunakan. Eksplan yang tidak steril memudahkan mikroorganisme yang terbawa oleh eksplan tumbuh dengan cepat yang menguasai permukaan medium pada eksplan yang ditanam (Oratmangun *et al.*, 2017). Pada suatu media diatasi dengan penggunaan bahan tambahan yaitu menggunakan *Plant Preservative Mixture* (PPM). PPM merupakan preservative atau biosida spectrum luas yang memiliki kegunaan sebagai pencegah dan penurunan tingkat kontaminasi yang efektif bagi media kultur jaringan suatu tanaman (Adihaningrum dan Rahayu, 2019).

Kultur jaringan pisang barangan menunjukkan bahwa cendawan yang sering ditemukan pada penelitian yang dilakukan tersebut yaitu *Penicillium* sp, *Gliocladium* sp dan *Aperigillus* sp. Sedangkan pada bakteri kontaminan yang didapatkan dalam kultur jaringan yaitu *Erwinia* sp dan *Bacillus* sp. (Nurhidayah, 2019). Terdapat pula di penelitian lainnya dalam laboratorium mendapatkan pula bahwa jamur yang mengkontaminasi media dan eksplan tanaman pisang adalah jamur yang biasa ada di laboratorium seperti *Aspergillus* sp, *Monilla* sp dan *Penicillium* sp. Bakteri yang mungkin berasal dari laboratorium adalah bakteri gram positif, bakteri yang semispesifik untuk pisang adalah *Pseudomonas solanacearum* (Nisa dan Rodinah, 2018).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Kota Makassar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - Desember 2023.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: *laminar air flow* (LAF), oven, autoklaf, botol tanam, cawan Petri, gelas ukur, pipet tetes, *hot plate*, pH meter, timbangan analitik, Erlenmeyer, *magnetic stirrer*, rak kultur, *scapel*, mata pisau, pinset, sendok tanduk, sendok panci, dan *temporary immersion bioreactor system* (TIBS).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: bibit pisang barangan, propagul pisang barangan, media *Murashige and Skoog*, gula, agar-agar, aquades, alkohol 70%, plastik wrap, karet gelang, aluminium foil, label, kabel tis, plastik bening, plastik tahan panas, larutan KOH, larutan NaCl, latex, zat pengatur tumbuh Benzil Amino Purin (BAP), dan *Plant Preservative Mixture* (PPM).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Persiapan Propagul

Sampel penelitian digunakan sebanyak 10 botol per masing-masing media yang digunakan. Jumlah sampel keseluruhan berjumlah 30 botol sampel.

a. Eksplan hasil perbanyakan

Propagul pisang yang digunakan berasal dari eksplan yang tersedia di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Hasanuddin. Eksplan pisang berasal dari tunas adventif yang bebas dari infeksi mikroorganisme penyebab penyakit. Propagul yang diberikan pada masing-masing media yaitu pada media padat 5 propagul perbotol dan pada media cair dengan 5 propagul per alat *temporary immersion bioreactor system* (TIBS).

b. Eksplan berasal dari induk tunas

Pengambilan bahan eksplan berasal dari induk tunas yang sehat, produktif, subur, dan bebas dari penyakit kerdil maupun virus secara visual. Tunas dengan tinggi minimal 20 cm atau berumur 3 - 4 bulan, sudah bisa digunakan sebagai sumber eksplan (Aisyah *et al.*, 2020).

2.3.2 Persiapan Media Tanam

Pada tahap ini pembuatan larutan stok media MS, kemudian dibuat media tersebut dengan mencampur larutan stok media, gula, air steril, PPM (*Plant Preservative Mixture*), dengan diberi BAP 4 ppm dan diukur pH sesuai perlakuan. Larutan media mencapai pH 5,8 yang merupakan pH optimal dalam pertumbuhan eksplan kultur jaringan. Media ditambahkan agar sebanyak 7 g/L kemudian media dimasak hingga mendidih. Setelah itu dimasukkan dalam botol kultur sebanyak 20 mL/botol.

Botol kultur yang telah diisi media ditutup dengan plastik dan diperoleh sejumlah 50 botol kultur dan selanjutnya disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Botol-botol kultur tersebut disimpan dan didinginkan di rak kultur. Pada komposisi media cair yaitu dengan penggunaan bahan yang sama namun yang membedakan pada penggunaan agar. Pada media cair tidak menggunakan agar dalam media yang dibuat (Tilaar, 2007).

2.3.3 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

Tahap sterilisasi alat dan ruang kultur biasanya dengan menyiapkan alat agar steril yang nantinya akan digunakan dimana alat dari bahan logam maupun kaca untuk penanaman kultur jaringan di oven selama 2 jam 30 menit pada suhu 180°C dengan pembungkus kertas.

Sedangkan sterilisasi pada botol-botol media dengan dilakukannya pencucian botol kemudian dikeringkan dan disimpan pada tempat steril dan bersih. Ruang kultur dilakukan penyemprotan alkohol sehingga ruangan dalam keadaan steril serta *laminar air flow* (LAF) disemprot menggunakan alkohol. Alat dan bahan setelahnya dimasukkan dalam LAF yang kemudian UV selama 30 menit, setelahnya lakukan blower selama 15 menit (Pagalla *et al.*, 2015).

2.3.4 Penanaman

a. Eksplan hasil perbanyakan

Penanaman eksplan dari hasil perbanyakan dilakukan di *laminar air flow* (LAF). Eksplan yang ditanam dapat menggunakan pinset steril dan dimasukkan kedalam botol berisikan media tanam. Setiap botol diberi 5 propagul kemudian botol kembali ditutup dengan menggunakan tutup plastik dan diberi plastik wrap/*wrapping* untuk merekatkan botol dengan tutupan plastik kemudian disimpan dalam ruang kultur yang steril (Pagalla *et al.*, 2015).

b. Eksplan berasal dari induk tunas

Penanaman eksplan yang berasal dari induk tunas dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF) dengan eksplan yang ditanam dari jaringan tanaman tersebut berasal dari bonggol pisang barangan. Eksplan selanjutnya dicuci bersih dan dipotong, kupas kulit luar dan iris bonggol hingga ke intinya sehingga menghasilkan ukuran sebesar 3 - 5 cm³. Dilakukan perendaman menggunakan alkohol, H₂O₂ serta klorox guna menghilangkan mikroorganisme yang sebelumnya menempel pada bonggol dan terakhir dilakukan pembilasan menggunakan aquades untuk membersihkan sisa-sisa bahan kimia yang menempel (Siregar, 2022).

Tunas anakan 40 - 100 cm sebagai eksplan yang akan digunakan dipotong lebih kurang 5 cm kemudian dilakukan perendaman menggunakan H₂O₂ selama 30 menit lalu rendam menggunakan aquades yang selanjutnya bonggol dikupas dan dibuka setiap lapisan bonggol hingga ukuran 3 cm kemudian kembali di rendam menggunakan klorox 5% selama 20 menit, klorox 0,5% selama 10 menit serta menggunakan aquadest berdurasi 5 menit kemudian di potong dan dibuka lapisan hingga lapisan akhir bonggol yang selanjutnya dilakukan penanaman pada bonggol.

2.3.5 Pemeliharaan Eksplan Kultur

Memastikan ruangan agar tetap steril dengan penyemprotan alkohol 70% pada ruang serta botol kultur, mengeluarkan eksplan yang terkontaminasi dari ruang kultur (Eriansyah *et al.*, 2014) dan melakukan pengaturan suhu 25 - 28°C dan intensitas cahaya 1000 - 4000 lux menggunakan luxmeter dengan lama penyinaran 16 jam terang dan 8 jam gelap yang akan diterima eksplan dalam ruang kultur jaringan (Suswati, 2012).

2.4 Parameter Pengamatan

2.4.1 Tingkat Pertumbuhan Tunas

Jumlah tunas dapat dihitung pada setiap botol dalam penelitian yang dikulturkan. Penghitungan jumlah tunas pada kultur jaringan dengan menghitung secara langsung jumlah tunas yang tumbuh dengan mengeluarkan eksplan dari botol yang dilakukan dalam ruang *Laminar Air Flow* (LAF). Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali dengan jangka waktu 2 minggu dalam satu kali pengamatan setelah dikulturkan (MSD) (Siregar, 2022).

2.4.2 Persentase Eksplan Hidup

Menurut Handayani *et al.* (2022) persentase eksplan hidup dihitung pada akhir penelitian dengan menghitung seluruh eksplan yang hidup setiap media perlakuan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Eksplan hidup} = \frac{\text{Jumlah eksplan hidup}}{\text{Jumlah eksplan seluruhnya}} \times 100\%$$

2.4.3 Persentase Eksplan Terkontaminasi

Pengamatan media terkontaminasi dilakukan dengan melihat secara langsung media atau eksplan yang mengalami kontaminasi. Dilakukan perhitungan eksplan terkontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme penyebab kontaminasi. Kontaminasi dapat terjadi baik dari dalam maupun luar sekitaran lingkungan. Media atau eksplan kontaminasi dilakukan pencatatan waktu kontaminasi yang kemudian dipindahkan pada tempat lain. Pengamatan kontaminan pada medium kultur jaringan dilakukan ketika eksplan terjadi kontaminasi (Nurhidayah, 2019).

Menurut Handayani et al. (2022) pada perhitungan eksplan terkontaminasi dapat menggunakan rumus yaitu;

$$\% \text{ Kontaminasi} = \frac{\Sigma \text{ Jumlah eksplan terkontaminasi}}{\Sigma \text{ total seluruh eksplan}} \times 100\%$$

2.4.4 Identifikasi Kontaminan

Kontaminasi yang tumbuh pada kultur jaringan pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) diisolasi pada masing-masing media.

a. Identifikasi Cendawan

Kontaminan cendawan diisolasi pada media *potato dextrose agar* (PDA). Identifikasi cendawan dilakukan secara makroskopis dilihat dari morfologi miselium berupa warna, tekstur pertumbuhan koloni, dan bentuk permukaan koloni. Secara mikroskopis dapat dilihat dari bentuk hifa dan spora yang dihasilkan. Identifikasi mengacu pada buku kunci identifikasi Burnett and Hunter (1972).

b. Identifikasi Bakteri

Kontaminan bakteri diisolasi pada media *Natrium agar* (NA). Identifikasi kontaminan bakteri secara Morfologi dengan mengamati warna, tekstur pertumbuhan koloni, dan bentuk permukaan koloni dan secara fisiologis dengan melihat hasil uji Gram, uji katase serta uji oksidasi fermentatif. Identifikasi mengacu pada buku kunci identifikasi Schaad et al., (2001)

1) Uji gram

Uji gram pada bakteri dilakukan untuk mengetahui bagaimana jenis gram pada bakteri yang diidentifikasi tersebut dimana pengujian dilakukan menggunakan larutan KOH 3%. Pengujian dilakukan dengan pengambilan isolat menggunakan jarum ose kemudian diletakkan pada kaca preparat yang kemudian diberikan beberapa tetes larutan KOH 3%. Isolat bakteri yang ditetesi larutan kemudian dihomogenkan selama 1 menit. Mengamati perubahan yang terjadi berdasarkan pada hasil yang dapat dilihat ketika suspensi dihomogenkan, terdapat lendir dikatakan bahwa bakteri tersebut reaksi positif (Gram positif) sedangkan jika tidak berlendir maka bakteri reaksi negatif (Gram negatif) (Hardiansyah et al., 2020).

2) Uji katalase

Uji katalase pada bakteri dilakukan dengan menggunakan larutan H₂O₂ yang dimana larutan tersebut sebagai substrat dimana dapat mengaktivasi kerja enzim katalase. Pengujian dilakukan dengan pengambilan isolat menggunakan jarum ose kemudian diletakkan pada kaca preparat yang kemudian diberikan beberapa tetes larutan H₂O₂. Mengamati perubahan yang terjadi berdasarkan reaksi yang terjadi yaitu bergelembung (hasil positif) atau tidaknya (hasil negatif) pada isolat bakteri yang diujikan (Mawardika et al., 2023).

3) Uji Oksidasi-Fermentatif

Pengujian oksidatif dan fermentatif dilakukan dengan mengikuti metode Mardiansah dan Trimulyono (2021) yang dimodifikasi, pengujian ini berfungsi untuk mengetahui sifat bakteri aerob atau anaerob dengan menggunakan dua tabung reaksi berisi media OF (*Hugh - Leifson*) masing-masing 9 mL yang disterilisasi menggunakan autoklaf, setelah media dingin pada suhu

sekitar 50°C, setiap tabung ditambahkan larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml yang telah disterilkan secara terpisah dari media kemudian dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya inokulasi bakteri dilakukan pada dua tabung reaksi. Satu diantara tabung reaksi ditutup dengan larutan agar setebal 1 cm untuk menciptakan kondisi anaerob sedangkan tabung lainnya dibiarkan dalam kondisi aerob tanpa ditutup dengan larutan agar.

Inkubasi dilakukan selama 72 jam atau lebih pada suhu ruang, jika tabung yang tertutup agar berubah warna menjadi kuning maka bakteri positif (+) memetabolisme karbohidrat secara fermentatif, sedangkan jika media yang tidak tertutup agar berubah warna menjadi kuning maka bakteri positif (+) memetabolisme karbohidrat secara oksidatif. Tidak terjadinya perubahan warna baik dengan atau tanpa tutupan agar dimana media tetap pada warna sebelumnya yaitu biru menunjukkan reaksi negatif (-) (Desi *et al.*, 2014).