

RENCANA PENELITIAN TIM PENELITI

IDENTIFIKASI TITIK KRITIS SAAT INDEKSING BBTV DALAM PRODUKSI BENIH PISANG SECARA KULTUR JARINGAN



Riry Prihatini, S.Si, M.Sc

**BALAI PENELITIAN TANAMAN BUAH TROPIKA
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN HORTIKULTURA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul RPTP : **IDENTIFIKASI TITIK KRITIS SAAT INDEKSING BBTV DALAM PRODUKSI BENIH PISANG SECARA KULTUR JARINGAN**
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
3. Alamat Unit Kerja : Jl. Raya Solok–Aripan, Km 8, PO Box 5, Solok 27301, Sumatera Barat
4. Sumber Dana : DIPA APBNP TA. 2017
5. Status Penelitian : Baru
6. Penanggung Jawab
 - a. Nama : Riry Prihatini, S.Si, M.Sc
 - b. Pangkat/golongan : Penata/IIIc
 - c. Jabatan : Peneliti Muda
7. Lokasi : Sumatera, Jawa, dan Bali
8. Agroekosistem : Dataran rendah-tinggi
9. Tahun Mulai : 2017
10. Tahun selesai : 2017
11. Output tahunan :
 - Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV
 - Minimal satu buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.
12. Output akhir :
 - Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV
 - Minimal satu buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.
13. Biaya : Rp. 200.000.000,-

Koordinator Program,

Dr. Ir. Agus Sutanto, M.Sc
NIP. 196708031993031003

Mengetahui,
Kepala Pusat Penelitian dan
Pengembangan Hortikultura,

Dr. Ir. Hardiyanto, MSc
NIP. 196005031986031001

Penanggung Jawab RPTP,

Riry Prihatini, S.Si, M.Sc
NIP. 198210022005012001

Kepala Balai Penelitian
Tanaman Buah Tropika,

Dr. Ir. Ellina Mansyah, MP
NIP. 196304231991032001

RINGKASAN

1. Judul : Identifikasi titik kritis saat indeksing BBTV dalam produksi benih pisang secara kultur jaringan
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
Jl. Raya Solok–Aripan, Km 8, Solok, PO Box 5 Solok
27301, West Sumatera
3. Lokasi : Sumatera, Jawa, dan Bali
4. Agroekosistem : Dataran rendah tinggi
5. Status : Baru
6. Tujuan : a. Jangka Pendek
 - Menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Mendapatkan teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk produksi benih pisang kultur jaringan bebas BBTV
 - Menghasilkan satu draft karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosidingb. Jangka Panjang
 - Menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Mendapatkan teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk produksi benih pisang kultur jaringan bebas BBTV
 - Menghasilkan satu draft karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding
7. Keluaran yang diharapkan : a. Jangka Pendek
 - Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV
 - Minimal 1 buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.b. Jangka Panjang
 - Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
 - Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV

- Minimal 1 buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.
8. Hasil yang diharapkan
- a. Prakiraan Manfaat
- Informasi dan rekomendasi kualitas benih pisang kultur jaringan produksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu Tropika)
 - Informasi dan rekomendasi keefektifan dan keefisienan sistem produksibenih pisang kultur jaringan di Laboratorium Produksi Balitbu Tropika
 - Memperoleh bahan tanam kultur pisang bebas BBTV
- b. Prakiraan Dampak :
- Meningkatnya kualitas dan kredibilitas benih pisang kultur jaringan produksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
 - Tersedianya benih pisang kultur jaringan sehat dan berkualitas

11. Metodologi : **Kegiatan 1. Evaluasi kesehatan benih pisang terhadap BBTV pada berbagai tahap produksi kultur jaringan**

DNA daun tanaman sumber eksplan diekstraksi dengan metode CTAB (Doyle & Doyle 1987). DNA akan diamplifikasi secara multipleks dengan satu pasang marka spesifik BBTV (CP) dan ITS sebagai kontrol internal. Sampel terindeksi positif BBTV ditandai dengan munculnya pita berukuran ~530 bp dan ~711. Tanaman yang terindeksi positif BBTV akan diambil jaringan meristemnya untuk diinisiasi pada kegiatan 2.

Kegiatan indeksing BBTV juga akan dilakukan pada biakan *in vitro* pisang dan benih pisang hasil kultur jaringan siap tanam. Daun dari biakan tersebut akan diekstraksi dengan metode CTAB dan diamplifikasi secara multipleks dengan primer yang sama pada kegiatan PCR sebelumnya.

Kegiatan 2. Teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV

Eksplan jaringan meristem terindeksi positif BBTV pada kegiatan indeksing sebelumnya dengan

diinisiasi pada media MS modifikasi. Selanjutnya, thermotherapy akan dilakukan pada kultur meristem tersebut dengan cara pemanasan pada suhu 40°C pada kondisi fotoperiodesitas 24 jam selama 2 minggu. Setelah eksplan tumbuh, DNA daun akan diindeksing BBTV kembali.

- 12. Jangka Waktu : 5 bulan (Agustus – Desember 2017)
- 13. Biaya : Rp.200.000.000,-

SUMMARY

1. Title : BBTV Indexing critical point on tissue culture derived banana seeds production
2. Implementation Unit : Indonesian Tropical Fruit Research Institute
Jl. Raya Solok–Aripan, Km 8, Solok, PO Box 5 Solok
27301, Sumatera Barat
3. Location : Sumatera, Java, and Bali
4. Agroecosystem : Low high land
5. Status : New
6. Objectives
 - a. Short Term
 - To determine the precise timing for conducting BBTV indexing on tissue culture banana seed
 - To obtain meristem culture and thermotherapy technology to produce free BBTV tissue culture banana seeds
 - To produce one scientific manuscript draft for journal or proceeding.
 - b. Long Term
 - To determine the precise timing for conducting BBTV indexing on tissue culture banana seed
 - To obtain meristem culture and thermotherapy technology to produce free BBTV tissue culture banana seeds
 - To produce one scientific manuscript draft for journal or proceeding.
7. Output
 - a. Short Term
 - One technology to determine precise timing for conducting BBTV indexing on tissue culture banana seed
 - One technology of kultur meristem and thermotherapy technology to produce free BBTV tissue culture banana seeds
 - At least one scientific manuscript draft for journal or proceeding.
 - b. Long Term
 - One technology to determine precise timing for conducting BBTV indexing on tissue culture banana seed
 - One technology of kultur meristem and thermotherapy technology to produce free BBTV tissue culture banana seeds
 - At least one scientific manuscript draft for journal or

proceeding.

8. Expected outcome
- a. Expected Benefit :
 - Information and recommendation of quality of the tissue culture derived banana seed produced by Indonesian Tropical Fruit Research Institute (ITFRI)
 - Information and recommendation of the effectively and efficiency of tissue culture banana seeds propagation system on ITFRI Production Laboratory
 - Free BBTV banana planting material
- b. Expected Impact :
 - The improve quality and credibility of tissue culture derived banana seeds produced by ITFRI
 - Healthy and qualified tissue culture derived banana seeds.
9. Methodology : **Activity 1. Evaluation of banana seeds health for BBTV on several stages of tissue culture propagation**
- DNA from explant source plant will be extracted using CTAB method (Doyle & Doyle 1987). The DNA will be amplified by multiplex system using one BBTV specific marker pairs (CP) and ITS as internal control. The positif BBTV samples will be noticed by ~530 and ~711 bp size bands. The positif BBTV plants will be used as explants on activity 2.
- The BBTV indexing will also be conducted on banana *in vitro* plantlets and ready field planted seeds. The leaves of the mentioned samples will extracted using CTAB method and amplified using the same markers as the previous PCR.
- Activity 2. Meristem culture and thermotherapy technologies to produce BBTV free banana seeds.**
- The positif BBTV samples from activity 1 will be used as explants and will be initiated on modified MS media. After initiation, the culture will be thermotherapy treated by incubating the culture on 40 °C, 24 h photoperiod for two weeks. After the explant grow, the DNA will be extracted and BBTV detection will be carried out.
10. Duration : 5 months (August to December 2017)
11. Budget : Rp. 200.000.000,- / 2017

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sebanyak lebih kurang 156,9 juta ton pisang diproduksi di 10,3 juta areal di lebih dari 130 negara termasuk Indonesia. Indonesia menduduki posisi keenam negara penghasil pisang di dunia setelah India, China, Filipina, Equador, dan Brazil (FAOSTAT, 2014).

Melalui Kementerian Pertanian, Pemerintah Indonesia mencanangkan tahun 2018 sebagai Tahun Hortikultura. Pada tahun tersebut, diprogramkan pengembangan tanaman hortikultura, termasuk tanaman pisang pada banyak wilayah di Indonesia. Untuk mendukung program tersebut, maka diperlukan pengadaan benih pisang yang secara massal.

Salah satu metode yang dapat ditempuh dalam produksi benih pisang secara massal adalah kultur jaringan. Metode tersebut diadopsi melalui jalur somatik embriogenesis maupun organogenesis. Kedua jalur produksitersebut membutuhkan eksplan yang harus berasal dari tanaman yang sehat.

Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu Tropika) telah melakukan produksi benih massal pisang melalui kultur jaringan sejak tahun 2010. Beberapa varietas pisang dihasilkan oleh Laboratorium Produksi Balitbu Tropika, antara lain Ambon Hijau, Ambon Kuning, Barangan, Kepok Tanjung, Kepok Kuning, Raja Kinalun, dan Roti. Eksplan sebagai materi perbanyakkan berasal dari tanaman benih sumber yang telah teregistrasi di Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSP) Sumatera Barat. Umumnya eksplan yang digunakan pada laboratorium tersebut adalah bonggol atau jantung. Plantlet yang dihasilkan selanjutnya diperbanyak melalui jalur organogenesis dengan tahap multiplikasi hingga 10 kali. Dengan demikian, maka penggunaan benih yang sehat mutlak harus dilakukan untuk menghasilkan benih pisang yang berkualitas tinggi.

Salah satu penyakit pisang yang dapat ditularkan melalui penggunaan bahan tanam yang tidak sehat adalah penyakit BBTV (*Banana Bunchy Top Virus*). BBTV adalah penyakit utama pisang, selain layu fusarium dan penyakit darah. Serangan BBTV ringan menyebabkan tanaman gagal menghasilkan buah, sedangkan serangan berat dapat menyebabkan kematian tanaman (Pinili *et al.* 2011).

Penyakit BBTV dapat dideteksi dengan beberapa metode, misalnya test serologi, seperti ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assays*) ataupun metode berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Metode berbasis PCR dianggap lebih sensitif dan valid dibandingkan metode pertama.

Lebih lanjut, serangan BBTV dapat dieliminasi secara *in vitro*, yaitu dengan kultur meristem. Kombinasi kultur meristem dengan perlakuan lain seperti *thermotherapy* telah banyak dilakukan dan menghasilkan tanaman pisang yang sehat dan vigor.

1.2. Dasar Pertimbangan

Teknik deteksi BBTV berbasis PCR dapat dilakukan pada tanaman muda, bahkan pada tanaman kultur jaringan, sampai tanaman dewasa. Selama ini indeksing umumnya dilakukan pada eksplan sebelum kultur padahal infeksi virus juga dapat terkontaminasi pada saat pelaksanaan kultur dan pemeliharaan benih di rumah pembibitan sebelum didistribusikan. Untuk menjamin kesehatan benih bebas BBTV perlu dilakukan indeksing pada beberapa tahap produksi kultur jaringan yaitu sebelum kultur (eksplan), saat pelaksanaan dan saat pemeliharaan benih di pembibitan.

Salah satu teknik untuk mengeliminir keberadaan virus di dalam eksplan adalah melalui kultur meristem dan *thermotherapy*. Diharapkan melalui kombinasi antara teknik kultur meristem dan *thermotherapy* akan diperoleh benih kultur jaringan yang bebas BBTV. Selain itu sampel yang diperlukan untuk analisis juga tidak banyak (sekitar 0,1 g). Dengan adanya fasilitas laboratorium berbasis PCR, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika sudah dapat melakukan deteksi BBTV pada tanaman pisang menggunakan metode PCR yang akan melengkapi serangkaian kegiatan produksi benih tanaman bebas virus.

1.3. Tujuan

a. Jangka Pendek

- Menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan

- Mendapatkan teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk produksi benih pisang kultur jaringan bebas BBTV
- Menghasilkan satu draft karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding

b. Jangka Panjang

- Menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
- Mendapatkan teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk produksi benih pisang kultur jaringan bebas BBTV
- Menghasilkan satu draft karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding

1.4. Keluaran yang diharapkan

a. Jangka Pendek

- Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
- Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV
- Minimal satu draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.

b. Jangka Panjang

- Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan
- Satu teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV
- Minimal satu draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding.

1.5. Perkiraan Manfaat dan Dampak

Manfaat :

- Informasi dan rekomendasi kualitas benih pisang kultur jaringan produksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu Tropika)
- Informasi dan rekomendasi keefektifan dan keefisienan sistem produksibenih pisang melalui kultur jaringan di Laboratorium Produksi Balitbu Tropika
- Memperoleh bahan tanam kultur pisang bebas BBTV

Dampak

- Meningkatnya kualitas dan kredibilitas benih pisang kultur jaringan produksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
- Tersedianya benih pisang kultur jaringan sehat dan berkualitas

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kerangka Teoritis

Seiring dengan meningkatnya target produksi dan makin bertambahnya areal penanaman pisang, maka diperlukan pengadaan benih untuk memenuhi kebutuhan di areal pengembangan tersebut. Untuk menyediakan benih pisang dalam jumlah besar dan waktu yang relatif singkat tidak akan dapat dilakukan dengan teknologi produksikonvensional seperti pemisahan anakan, akan tetapi dapat menggunakan teknologi kultur jaringan. Saat ini telah banyak perusahaan benih pisang yang menggunakan metode kultur jaringan dan benih yang dihasilkan dijual secara komersial. Selain kuantitas juga perlu diperhatikan kualitas, kemurnian, dan kesehatan benih.

Salah satu penyakit pisang yang dapat menjadi ancaman yang sangat serius selain layu fusarium dan penyakit darah adalah penyakit kerdil kuning atau disebut banana bunchy top virus (BBTV). Serangan BBTV menyebabkan tanaman tumbuh kerdil, malformasi pembentukan daun, warna daun pucat, tidak dapat berbuah, hingga kematian tanaman (Hooks *et al.* 2008). Penyakit ini banyak menyerang kultivar komersial seperti Ambon Kuning, Ambon Hijau, Barangan, Mas, Nangka, dan lain-lain. Sampai sejauh ini

belum ada kultivar pisang yang tahan BBTV. Virus ini ditemukan hampir di seluruh daerah pengembangan pisang di Indonesia (Hapsari dan Masrum 2012).

Penyebaran BBTV dapat terjadi dengan penggunaan materi tanam, seperti bonggol atau jaringan tanaman lainnya yang sudah terinfeksi BBTV. Selain itu, BBTV juga ditularkan oleh serangga vektor kutu daun (*Pentalonia nigronervosa*) yang hinggap pada daun muda di bagian pangkal daun yang masih menggulung, sehingga sepintas hama tersebut tidak tampak dari kejauhan. Salah satu cara penanggulangan BBTV adalah dengan mengendalikan serangga vektor dengan insektisida, dan menggunakan bahan tanam (benih) bebas virus. Benih pisang bebas virus dapat dihasilkan melalui produksisecara kultur jaringan. Namun demikian bahan tanam yang digunakan untuk kultur jaringan harus dipastikan bebas dari virus (Kumar *et al.* 2008).

Teknologi untuk mendeteksi adanya virus BBTV dalam jaringan tanaman pisang dapat dilakukan dengan menggunakan metode ELISA, DIBA (*colorometric dot immunoblotting assyas*) atau PCR (Galal 2007, Manshoor *et al.* 2005). Kelemahan dari ELISA adalah bila konsentrasi BBTV dalam tanaman sangat rendah metode ini kurang sensitif. Sedangkan dengan metode PCR, virus BBTV masih dapat dideteksi meskipun dengan konsentrasi yang sangat rendah (Sta Cruz *et al.* 2016). Seperti halnya teknik berbasis PCR lainnya, deteksi BBTV juga memerlukan adanya primer, yaitu serangkaian basa nukleotida yang digunakan untuk mengamplifikasi atau menggandakan fragmen DNA virus agar dapat dideteksi. Alasan inilah yang menyebabkan teknik deteksi menggunakan PCR lebih sensitif dari ELISA. Primer yang digunakan untuk PCR ada dua pasang yang akan mengamplifikasi komponen virus DNA-3 dan DNA-6, yang menyandi coat protein (CP) dan nuclear shuttle protein (NSP) dari virus BBTV. Selain pada tanaman lapang, teknik indeksing BBTV berbasis PCR juga dapat diaplikasikan pada tanaman hasil kultur *in vitro* (Mahadev *et al.* 2013).

Tanaman pisang yang positif terindeksi BBTV masih dapat dimanfaatkan sebagai sumber eksplan untuk menghasilkan tanaman sehat, yaitu melalui kultur meristem. Kultur meristem bonggol tanaman pisang yang terinfeksi BBTV sudah banyak dilakukan dan dapat menghasilkan tanaman yang sehat dan vigor (Pua 2017). Jaringan meristem digunakan dalam produksi benih pisang secara kultur jaringan karena jaringan tersebut dianggap bebas dari serangan virus. Tingginya konsentrasi enzim dan hormon tumbuhan

pada jaringan ini serta adanya mekanisme RNA silencing menghambat perkembangan virus pada jaringan ini (Lassois *et al.* 2013).

Cara alternatif untuk mengeliminasi virus BBTV dari eksplan bonggol pisang adalah dengan *thermotherapy*, yaitu dengan memberikan perlakuan suhu tinggi pada bahan tanam selama beberapa waktu tertentu. Pada eradikasi virus tanaman pisang, *thermotherapy* banyak diaplikasikan, baik secara perlakuan tunggal, ataupun dikombinasikan dengan metode lain, termasuk kultur meristem (Cui *et al.* 2015, Lassois *et al.* 2013).

Salah satu indikasi benih pisang sehat adalah terbebas dari BBTV yang pengujiannya dapat dilakukan melalui uji laboratorium berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Beberapa cara yang dapat ditempuh untuk eradikasi virus pada tanaman pisang yang terindeksi positif BBTV adalah dengan kultur meristem dan perlakuan *thermotherapy* (Lassois *et al.* 2013).

2.2. Hasil-hasil penelitian terkait

Kegiatan indeksing BBTV pada tanaman pisang telah banyak dilakukan, baik dengan metode ELISA atau pun dengan metode berbasis PCR. Metode berbasis PCR untuk deteksi BBTV selanjutnya mengalami perkembangan, misalnya teknik RT-PCR (Chen dan Hu 2013), dan loop mediated isothermal amplification (Selvarajan *et al.* 2015), dan multiplex PCR (Liu *et al.* 2012). Teknik terakhir dinilai paling efektif karena cara pengerjaannya yang sederhana, namun hasilnya tetap akurat dan efisien (Liu *et al.* 2012).

Benih pisang yang dihasilkan melalui kultur jaringan perlu diindeksing BBTV untuk menjaga kualitasnya. Indeksing BBTV pada materi kultur jaringan dilakukan pada bahan tanam (eksplan) dan plantlet (Mahadev *et al.* 2013). Lebih lanjut, eradikasi virus BBTV pada tanaman pisang dapat dilakukan dengan beberapa metode, di antaranya adalah pengaplikasian meristem kultur, *thermotherapy*, dan kombinasi kedua teknik tersebut (Lassois *et al.* 2013).

III. METODOLOGI

1.1. Pendekatan

Untuk mencapai tujuan, maka pendekatan yang digunakan adalah melalui observasi dan survey. Observasi dilakukan dengan deteksi BBTV berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada eksplan, plantlet, dan benih kultur jaringan pisang siap tanam. Selain itu, akan dilakukan kultur meristem dengan eksplan yang terindeksi positif BBTV. Metode survey dilakukan pada tanaman pisang yang terserang BBTV di tiga wilayah, yaitu Sumatera Barat, Jawa Barat, dan Bali.

1.2. Ruang Lingkup Kegiatan

Ruang lingkup kegiatan meliputi: indeksing BBTV pada eksplan dan plantlet kultur jaringan pisang, melakukan kultur meristem eksplan terindeksing positif BBTV dan thermotherapy pada kultur meristem pisang.

1.3. Bahan dan Metode Pelaksanaan Kegiatan

1.3.1. Kegiatan 1. Evaluasi kesehatan benih pisang terhadap BBTV pada berbagai tahap produksi kultur jaringan

1.3.1.1. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah lima aksesori pisang (Tabel 1), terdiri dari masing-masing 10 sampel anakan, plantlet pada tahap multiplikasi, dan benih siap tanam. Selain itu, diperlukan bahan kimia untuk media kultur jaringan dan untuk indeksing (deteksi virus BBTV) menggunakan PCR.

Alat yang digunakan adalah alat laboratorium kultur jaringan dan uji mutu seperti LAFC, autoclave, alat-alat potong, pinset, refrigerator, freezer, termocycler (mesin PCR), centrifuge, electrophoresis cabin, gel doc.

Tabel 1. Aksesori pisang yang akan diindeksing BBTB

No	Aksesori	Genom
1	Ambon Hijau	AAA
2	Barangan	AAA
3	Kepok Tanjung	ABB
4	Roti	ABB
5	Raja Kinalun	AAB

1.3.1.2. Metode Pelaksanaan Kegiatan

a. Waktu

Penelitian akan dilakukan pada Bulan Agustus hingga Desember 2017.

b. Tempat

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Uji Mutu di KP. Sumani dan Kultur Jaringan di KP. Arian Balitbu Tropika

c. Pelaksanaan

Sebelum diinisiasi, bahan tanam pisang yang akan dikultur diindeksing BBTB terlebih. Demikian pula dengan plantlet (pada 2 tahap multiplikasi) dan benih siap tanam pisang akan dilakukan indeksing BBTB. Indeksing yang dilakukan berbasis PCR yang dilakukan secara triplet menggunakan dua pasang primer (Tabel 2), yang terdiri dari satu pasang merupakan primer komponen dari virus BBTB dan satu pasang sebagai internal kontrol.

Tabel 2. Primer yang digunakan untuk indeksing BBTB tanaman pisang

No	Kode	Sequence	Produk PCR (bp)
1	CP_F	5'-ATGGCTAGGTATCCGAAG-3'	530
2	CP_R	5'-CCAGAACTACAATAGAATGCC-3'	
3	ITS_F	5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'	711
4	ITS_R	5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	

Materi tanaman yang di PCR adalah DNA genom yang diekstrak dari daun atau organ tanaman lain menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987). Reaksi PCR dilaksanakan dengan volume 25 µl menggunakan 12,5 µl KAPA2G Fast ReadyMix PCR Kit (Kappa Biosystems Inc., USA), yang telah mengandung 0,5 unit polymerase, 1,5 mM MgCl₂ dan dNTP mix, ditambah 1 µl masing-masing primer 10 µM, DNA genom dengan konsentrasi 30 ng sebanyak 2,0 µl dan 4,5 µl ddH₂O. Proses PCR menggunakan mesin PCR Mastercycler Nexus (Eppendorf). Denaturasi cetakan DNA pada awal reaksi pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti dengan 28 kali siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 49°C selama 15 detik dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 5 detik, dan diakhiri dengan satu siklus pemanjangan tambahan pada suhu 72°C selama 10 menit. Produk PCR dipisahkan berdasarkan ukuran dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1 % pada mesin elektroforesis dengan tegangan 50 V selama 60 menit.

d. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati meliputi ada atau tidaknya pita DNA berukuran ~530 dan ~711 bp pada produk PCR indeksing BBTV. Sampel yang berasal dari aksesori yang menunjukkan negatif BBTV ditandai dengan hanya munculnya satu pita DNA yang berukuran ~711 bp. Sedangkan sampel positif BBTV yang ditunjukkan dengan adanya dua pita DNA yang berukuran ~530 dan ~711 bp.

e. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

1.3.2. Kegiatan 2. Teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV

1.3.2.1. Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan bonggol pisang yang terindeksing positif BBTV pada kegiatan 1. Bila tidak ada, maka akan dicari eksplan bonggol dari varietas pisang lain yang terindeksing positif BBTV.

Alat yang dibutuhkan antara lain alat-alat yang umum digunakan dalam kegiatan kultur jaringan dan kegiatan PCR, yaitu timbangan analitik, oven, autoklaf, dissecting set, incubator chamber, pipetor, mesin PCR, mesin elektroforesis, GelDoc, dan lainnya.

1.3.1.3. Bahan dan Metode Pelaksanaan Kegiatan

a. Waktu

Kegiatan dilakukan mulai Agustus 2017 sampai Desember 2017

b. Tempat

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Uji Mutu di KP. Sumani dan Kultur Jaringan di KP. Arian Balitbu Tropika

c. Prosedur

Materi tanaman yang diambil adalah anakan pisang yang menunjukkan positif BBTV. Eksplan dipotong dan dibuang pelepahnya sampai tersisa titik tumbuh dengan ukuran 5 x 5 x 5 cm. Eksplan disterilisasi dengan menggunakan secara berturut-turut alkohol 70 %, Clorox, dan dicuci dengan akuades steril. Selanjutnya seluruh pelepah yang menutupi bonggol dikupas dengan hati-hati agar tidak merusak titik tumbuh yang ada pada pangkal masing-masing pelepah daun. Bagian meristem bonggol yang sudah dibuang pelepah daun diambil dan ditanam pada media MS (Murashige & Skoog 1962) + 2,5 mg^l⁻¹ BAP + 1 mg^l⁻¹ IAA + 0,5 mg^l⁻¹ TDZ (media B2,5). Setelah inisiasi, akan dilakukan *thermotherapy* dengan menginkubasi kultur meristem pada suhu 40 °C selama 4minggu.

Setelah perlakuan *thermotherapy*, jaringan meristem diisolasi dari eksplan bonggol pisang untuk selanjutnya ditanam pada media B2,5. Selanjutnya kultur meristem diletakkan pada rak-rak dalam ruangan steril yang bersuhu 25 °C dengan intensitas cahaya 1000 – 4000 lux dan lama penyinaran 8 jam. Setelah 10 minggu, kultur akan diindeksing BBTV kembali dengan prosedur yang sama dengan kegiatan sebelumnya.

Jaringan meristem dari eksplan bonggol yang tidak diperlakukan *thermotherapy* akan diisolasi dan disubkultur pada media B2,5. Kultur tersebut juga akan diinkubasi pada kondisi yang sama dengan kultur meristem yang mendapat perlakuan *thermotheraphy*, serta akan diindeksing BBTV kembali.

d. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati meliputi pertumbuhan jaringan meristem, serta pola pita DNA hasil indeksing BBTV sebelum dan sesudah inisiasi dan *thermotheraphy*. Pita DNA berukuran ~530 dan ~711 bp pada produk PCR indeksing BBTV. Sampel yang berasal dari aksesi yang menunjukkan negatif BBTV ditandai dengan hanya munculnya satu pita DNA yang berukuran ~711 bp. Sedangkan sampel positif BBTV yang ditunjukkan dengan adanya dua pita DNA yang berukuran ~530 dan ~711 bp.

e. Analisa data

Analisa data dilakukan secara kualitatif.

IV. ANALISIS RISIKO

4.1. Daftar Risiko

No.	Resiko	Penyebab	Dampak
1.	Waktu pelaksanaan: Ketidaktepatan waktu pelaksanaan	Keterlambatan pencairan dana Persyaratan administrasi pengelola keuangan yang belum lengkap Komunikasi antar sektor yang kurang lancar Keterlambatan tersedianya bahan penelitian Jangka waktu pelaksanaan penelitian yang terlalu singkat	Keterlambatan pelaksanaan kegiatan
2.	Pelaksanaan kegiatan: Permasalahan saat pelaksanaan, pengamatan	Keterbatasan tenaga terampil	Tertundanya pelaksanaan kegiatan, data yang terkumpul kurang maksimal
3.	Pelaporan : Hasil akhir belum lengkap	Data masih dalam proses pengumpulan	Laporan belum menginformasikan hasil akhir

4.2. Daftar penanganan risiko

No.	Resiko	Penyebab	Penanganan Resiko
1.	Waktu pelaksanaan: Ketidaktepatan waktu Pelaksanaan	Keterlambatan pencairan dana Persyaratan administrasi pengelola keuangan yang belum lengkap Komunikasi antar sektor yang kurang lancar Keterlambatan tersedianya bahan penelitian Jangka waktu pelaksanaan penelitian yang terlalu singkat	Mempercepat proses pencairan dana pada awal tahun anggaran Melengkapi persyaratan administrasi sebelum pelaksanaan tahun anggaran baru Meningkatkan aktivitas koordinasi dan evaluasi antar sector Proses pengadaan bahan dilakukan seawal mungkin
2.	Pelaksanaan kegiatan: Permasalahan saat pelaksanaan, pengamatan	Keterbatasan tenaga trampil	Memaksimalkan tenaga terampil yang ada dan memberikan pelatihan bagi tenaga yang belum terampil
3.	Pelaporan : Hasil akhir belum lengkap	Data masih dalam proses pengumpulan	Dalam laporan diinformasikan kendala yang dihadapi, laporan perkembangan terakhir, serta prakiraan laporan final dapat terselesaikan

V. TENAGA, ORGANISASI PELAKSANAAN, DAN PEMBIAYAAN

5.1. Tenaga yang terlibat dalam kegiatan :

No	NAMA/ NIP	JABATAN FUNGSIONAL / BIDANG KEAHLIAN	JABATAN DALAM KEGIATAN	URAIAN TUGAS	ALOKASI WAKTU (Jam/bln)
1.	Riry Prihatini, S.Si, MSc 198210022005012001	Peneliti Muda/ Pemuliaan	Penjab Kegiatan	Mengkoordinir, melaksanakan kegiatan mulai perencanaan s/d pelaporan	100
2.	Dr. Ellina Mansyah 196304231991032001	Peneliti Madya/ Pemuliaan	Anggota	Melaksanakan kegiatan	20
3.	Dr. Agus Sutanto 196708031993031003	Peneliti Muda/ Pemuliaan	Anggota	Melaksanakan kegiatan	20
4.	Dra. Jumjunidang, Msi 196306011992032001	Peneliti Madya/ Penyakit	Anggota	Melaksanakan kegiatan	20
5.	Makful, Msi 197305282000031001	Peneliti Muda/ Pemuliaan	Anggota	Melaksanakan kegiatan	20
6.	Drs. Edison HS 195612071986031001	Peneliti Madya/ Pemuliaan	Anggota	Melaksanakan kegiatan	20
7.	Leni Marlina, STP, M.Si 19840512009012007	Calon Peneliti/ Pasca Panen	Anggota	Perlakuan dan pengamatan	60
8.	Dwi Wahyuni A., SP 197602252007012001	Teknisi Litkayasa	Anggota	Membantu melaksanakan kegiatan	60
9.	Mihartati 196507272007012001	Teknisi	Anggota	Membantu melaksanakan kegiatan	60
10.	Ida Fitrianiingsih 196801021995032001	Teknisi Litkayasa	Anggota	Membantu melaksanakan kegiatan	60

5.2. Jangka waktu kegiatan

Kegiatan 1. Evaluasi kesehatan benih pisang terhadap BBTV pada berbagai tahap produksi kultur jaringan

No	Kegiatan	Bulan Kegiatan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Persiapan proposal, TOR, KAK								X				
2	Pengadaan bahan									X			
3	Indeksing BBTV									X	X	X	X
4	Analisa Data												X
5	Laporan												X
	Persentase fisik								20	15	10	25	30
	Persentase Kumulatif								20	35	45	70	100

Kegiatan 2. Teknologi kultur meristem dan thermotherapy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV

No	Kegiatan	Bulan Kegiatan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Persiapan proposal, TOR, KAK								X				
2	Pengadaan bahan									X			
3	Indeksing BBTV									X	X		X
4	Inisiasi kultur									X	X		
5	Pemeliharaan kultur									X	X	X	X
6	Analisa data												X
7	Laporan												X
	Persentase fisik								20	15	10	25	30
	Persentase kumulatif								20	35	45	70	100

5.3 Pembiayaan

a. Rekap Pembiayaan

Kode	Uraian	Biaya Rp
521211	Belanja Bahan	
521821	Belanja Barang persediaan untuk proses produksi	0
521811	Belanja Barang Untuk Persediaan Barang Konsumsi	138.000.000
521219	Belanja Barang Non Operasional Lainnya	35.000.000
524111	Belanja Perjalanan Biasa	27.000.000
	TOTAL BIAYA	200.000.000

b. Rincian Biaya

No Kode Proyek	Tolok ukur/Jenis pengeluaran/Uraian Pengeluaran	Volume		Satuan Biaya	Jumlah
521211	Belanja Bahan				
521211	Belanja Bahan				138.000.000
	Bahan Kimia				53.395.000
	Alkohol 96% Brataco 1 liter	50	liter	44.000	2.200.000
	Aquadest 10 liter	6	galon	88.000	528.000
	Spiritus biru@ 1000 ml	36	botol	40.000	1.440.000
	GoTaq @ Green Master Mix, 100 Reactions (Promega)	2	Kit	1.500.000	3.000.000
	DNA Ladder 1 Kb	2	kit	1.800.000	3.600.000
	DNA Ladder 100 bp	3	kit	1.800.000	5.400.000
	KNO3 for analysis @1 kg	2	botol	803.000	1.606.000
	NH4NO3 @ 1 kg	2	botol	1.034.000	2.068.000
	myo-Inositol	2	botol	2.499.000	4.998.000
	Sukrosa 5 kg Himedia	2	botol	2.541.000	5.082.000
	Phytoagar @ 1 kg	1	btl	2.000.000	2.000.000
	Agarose @ 100 gr	3	botol	1.573.000	4.719.000
	NaCl @ 500 mg, Himedia RM853	2	btl	352.000	704.000
	Genomic DNA Mini Kit (Geneaid) GP100	2	pak	3.500.000	7.000.000
	Thidiazuron (100 mg/botol)	2	vial	3.025.000	6.050.000
	Bacto Agar Difco, @ 500g/btl	1	botol	3.000.000	3.000.000
	Bahan Penunjang				81.845.000

	Micro volume tip 0.5-10 ul Gilson type (1000/pak)	24	pak	500.000	12.000.000
	Micro volume tip 200 ul yellow tip (1000/pak)	11	pak	500.000	5.500.000
	Micro volume tip 1000 ul blue tip (1000/pak)	10	pak	500.000	5.000.000
	1.5ml, Clear, RNase & DNase Free, 500 Tubes/box	10	box	500.000	5.000.000
	2.0ml, Clear, RNase & DNase Free, 500 Tubes/box	10	box	500.000	5.000.000
	0.6ml, Clear, RNase & DNase Free, 1000 Tubes/box	5	box	500.000	2.500.000
	PCR tube 0,2 ml, flat cap (1000/pak)	20	pak	1.300.000	26.000.000
	Microtube rack + lid 80 X 1,5/2,0 ml	10	bh	200.000	2.000.000
	PCR tube rack + lid 96 X 0,2 ml	9	bh	150.000	1.350.000
	Pipettor 1000 ul	1	buah	4.000.000	4.000.000
	Pipettor 100 ul	1	buah	4.000.000	4.000.000
	Pipettor 10 ul	1	buah	4.000.000	4.000.000
	Pipettor 2 ul	1	buah	4.000.000	4.000.000
	Masker kertas bertali @100 lbr/box	10	box	65.000	650.000
	Sarung tangan karet ukuran M Mikro touch powder	5	ktk	77.000	385.000
	Refill Gas LPG	2	tabung	150.000	300.000
	Sunlight cair refill	8	bh	20.000	160.000
	ATK				2.760.000
	Kertas A4 80g	3	rim	42.000	126.000
	Catridge Canon Colour CL-811	3	bh	270.000	810.000
	Catridge Canon Black PG-810	3	bh	300.000	900.000
	Tissue gulung	20	gulung	3.700	74.000
	Tissue kotak refill jumbo	19	kotak	12.000	228.000
	Pena My-gell 05 (hitam)	2	lusin	60.000	120.000
	Spidol permanen Snowman hitam	3	lusin	84.000	252.000
	Flash disk Toshiba 16Gb	2	buah	125.000	250.000
521219	Belanja Barang Non Operasional Lainnya				35.000.000
	Pengambilan sampel	30	HOK	50.000	1.500.000
	Isolasi DNA	100	sample	100.000	20.000.000
	Persiapan media dan Inisiasi	100	HOK	50.000	5.000.000
	Kultur meristem, perawatan	100	HOK	50.000	5.000.000

	kultur				
	Mencuci dan sterilisasi peralatan kultur	70	HOK	50.000	3.500.000
524111	Belanja Perjalanan Lainnya				27.000.000
	Solok-Subang				17.250.000
	- Transportasi PP	3	paket	3.500.000	10.500.000
	- Lumpsum	9	OH	430.000	3.870.000
	- Penginapan (orang x hari)	6	malam	480.000	2.880.000
	Solok-Bali				8.610.000
	- Transportasi PP	1	paket	5.250.000	5.250.000
	- Lumpsum	4	OH	480.000	1.920.000
	- Penginapan (orang x hari)	3	malam	480.000	1.440.000
	Sumatera Barat				1.140.000
	- Lumpsum	3	OH	380.000	1.140.000
	TOTAL				200.000.000

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, Y & Hu, X, 2013, 'High-throughput detection of banana bunchy top virus in banana plants and aphids using real time TaqMan@ PCR', *Journal of Virological Method*, vol. 193(1), pp. 177-183.
- Ciu, ZH, Li, BQ, Bi, WL, Li, JW & Wang, QC, 2015, 'Plant pathogen eradication by cryotherapy of shoot tips: development, achievements and prospective', *Proc. VIIIth IS on In Vitro Culture and Horticultural Breeding. Acta Hort.* Vol. 1083, pp. 35-42.
- Doyle, JJ & Doyle, JL, 1987, 'Isolation of plant DNA from fresh tissues', *Focus* vol. 12, pp. 13-15.
- FAOSTAT, 2014, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, diakses tanggal 22 Agustus 2017 pkl. 12.11.
- Galal, AM, 2007, 'Use of polymerase chain reaction for detecting banana bunchy top nanovirus Biotechnology', vol. 6(1), pp. 53-56.
- Hapsari, L & Masrum, A, 2012, 'Preliminary screening resistance of *musa* germplasms for banana bunchy top disease in Purwodadi botanic garden, Pasuruan, East Java', *Buletin Kebun Raya* vol. 15(2), pp. 57-70.
- Hooks, CRR, Wright, MG, Kabasawa, DS, Manandhar, R, Almeida, RPP, 2008, Effect of banana bunchy top virus infection on morphology and growth characteristics of banana', *Annals of Applied Biology*, vol. 153, pp. 1-9.

- Kumar, PL, Selvarajan, R, Iskra-Caruana, ML, Chabannes, M & Hanna, R, 2014, 'Biology, Etiology, and Control of Virus Diseases of Banana and Plantain', *Advances in Virus Research*, vol. 34, pp. 229-269.
- Lassois, L, Lepoivre, P, Swennen, R, van den Houwe, I & Pani, B, 2013, 'Thermotherapy, chemotherapy, and meristem culture in banana', dalam: Lambardi, M et al. (eds.), 'Protocol for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. Method in molecular biology', Springer Science+Business Media, New York, pp. 419-433.
- Liu, F, Feng, L, Chen, X, Han, Y, Li, W, Xu, W & Lin M, 2012, 'Simultaneous detection of four banana viruses by multiplex PCR', *Journal of Phytopathology* vol. 160(11-12), pp. 622-627.
- Mahadev, SR, Thamilarasan, SK & Kathithachalam, 2013, 'Detection of banana bunchy top virus (BBTV) at tissue culture level for the production of virus-free planting materials', *International Research Journal of Biological Science* vol. 2(6), pp. 22-26.
- Mansoor, S, Qazi, J, Amin, I, Khatri, A, Khan, IA, Raza, S, Zafar, Y & Briddon, RW, 2005, 'A PCR-based method, with internal control, for the detection of banana bunchy top virus in banana', *Molecular Biotechnology* vol. 30, pp. 167-169.
- Murashige, T & Skoog, F, 1962, 'A revised medium for rapid growth and bioassays for tobacco tissue cultures', *Physiologia Plantarum* vol. 15, pp. 473-497.
- Pinili, MS, Nyana, DN, Suastika, G & Natsuaki, KT, 2011, 'Molecular analysis of banana bunchy top virus first isolated in Bali, Indonesia', *Journal of Agricultural Science Tokyo University* vol. 56(2), pp. 125-134.
- Pua, EC, 2007, 'Banana', Dalam: Pua, EC & Davey, MR (eds.). 2007. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3-34.
- Selvarajan, R, Balasubramaniam, V, & Sasireka, T, 2015, 'A simple, rapid, and solvent free nucleic acid extraction protocol for detection of banana bunchy top virus by polymerase chain reaction and loop-mediated isothermal amplification', *European Journal of Plant Pathology* vol. 142(2), pp. 389-396.
- Sta Cruz, FC, Belen, GB & Alviar, AN, 2016, 'Serological and molecular detection of mixed bunchy top and mosaic virus infection in Abaca (*Musa textilis* Nee)', *Philippines Agricultural Scientist* vol. 99(1), pp. 88-98.

Lampiran 1. ROADMAP KEGIATAN INDEKSING BBTV BENIH PISANG KULTUR JARINGAN 2017 – 2020

PASAR				Benih pisang bebas BBTV dalam jumlah banyak
PRODUK			Benih pisang hasil kultur jaringan penyakit	
TEKNOLOGI	Teknologi penentuan titik kritis saat indeks BBTV pada benih pisang hasil kultur jaringan	Eliminasi virus BBTV pada eksplan pisang	Teknologi kombinasi kultur meristem dan thermotherapy untuk eliminasi BBTV	
LITBANG	Identifikasi titik kritis saat indeksing BBTV pada benih pisang hasil kultur jaringan Kombinasi kultur meristem dan perlakuan thermotherapy untuk eliminasi BBTV	Identifikasi titik kritis indeksing pada benih pisang kultur jaringan Multiplikasi plantlet pisang dari kultur meristem yang bebas BBTV	Tahap aklimatisasi dan evaluasi lapang benih pisang hasil kultur meristem bebas BBTV	Massalisasi benih pisang hasil kultur meristem bebas BBTV
	2017	2018	2019	2020

Lampiran 2. Matrik kerangka logis T.A. 2017

LOGIKA INTERVENSI	TOLOK UKUR	ALAT VERIFIKASI	ASUMSI/ RESIKO
Sasaran :			
<ul style="list-style-type: none"> • Tersedianya teknologi produksi massal benih pisang bebas BBTV 	<ul style="list-style-type: none"> • Tersedianya teknologi indeksing BBTV pada benih pisang hasil kultur jaringan • Tersedianya teknologi eliminasi BBTV pada eksplan pisang, yaitu melalui kultur meristem dan perlakuan thermotherapy • Tervalidasinya teknologi produksimassal pisang melalui kultur meristem 	Laporan Hasil Penelitian Balitbu	
Manfaat:			
<ul style="list-style-type: none"> • Penentuan kualitas benih pisang kultur jaringan produksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu Tropika) • Penentuan keefektifan dan keefisienan sistem produksibenih pisang melalui kultur jaringan di Laboratorium Produksi Balitbu Tropika • Memperoleh bahan tanam kultur pisang bebas BBTV 	<ul style="list-style-type: none"> • Data indeksing BBTV sumber eksplan, plantlet, dan benih siap tanam pisang • Kultur meristem pisang bebas BBTV 	<ul style="list-style-type: none"> • Laporan Hasil Penelitian Balitbu 	<ul style="list-style-type: none"> • Dana dan prasarana mendukung • Kebijakan Balai dan Puslitbang-horti mendukung
Luaran :			
<ul style="list-style-type: none"> • Satu teknologi untuk menentukan saat yang tepat untuk indeksing BBTV dalam produksibenih pisang secara kultur jaringan • Satu teknologi kultur meristem dan 	Tersedianya minimal 1 buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding	<ul style="list-style-type: none"> •Laporan Hasil Penelitian Balitbu Tropika •Laporan Tahunan Balitbu Tropika 	<ul style="list-style-type: none"> • Dana dan prasarana mendukung • Kebijakan Balai dan Puslitbang-horti mendukung

<p>thermotheraphy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV</p> <ul style="list-style-type: none"> Minimal 1 buah draft karya tulis ilmiah untuk dipublikasi pada jurnal atau prosiding. 			
Kegiatan	Masukan		
<ul style="list-style-type: none"> Evaluasi kesehatan benih pisang terhadap BBTV pada berbagai tahap produksi kultur jaringan Teknologi kultur meristem dan thermotheraphy untuk mendapatkan benih pisang bebas BBTV 	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorium kultur jaringan dan uji mutu Balitbu Tropika Bahan kimia Dana Penelitian SDM 	<ul style="list-style-type: none"> Laporan hasil Penelitian Balitbu Tropika KTI di jurnal atau prosiding nasional 	<ul style="list-style-type: none"> Pendanaan lancar Jumlah tenaga peneliti dan tenaga trampil yang terlibat cukup Sarana dan prasarana penelitian tersedia Kegiatan penelitian yang berkesinambungan