

RENCANA PENELITIAN TIM PENELITI

TEKNOLOGI PERBANYAKAN SALAK MELALUI ORGANOGENESIS DAN EVALUASI KERAGAMAN TANAMAN PISANG YANG DIPERBANYAK SECARA *IN VITRO*



Ir. Rahayu Triatminingsih

BALAI PENELITIAN TANAMAN BUAH TROPIKA

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN HORTIKULTURA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

2015

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul RPTP : **Teknologi Perbanyakkan Salak Melalui Organogenesis dan Evaluasi Keragaman Tanaman Pisang Yang Diperbanyak Secara *In vitro***
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
3. Alamat Unit Kerja : Jl. Raya Solok-Aripan km 08, Solok 27301, Sumatera Barat. Indonesia
4. Sumber dana : DIPA Tahun 2015
5. Status penelitian (L/B) : Baru
6. Penanggungjawab Kegiatan :
 - a. Nama : Ir. Rahayu Triatminingsih
 - b. Pangkat/Golongan : Pembina Utama Muda /IVc
 - c. Jabatan : Peneliti Madya
7. Lokasi Penelitian : Sumatera Barat, dan Jawa Barat.
8. Agroekosistem : Dataran Rendah – medium
9. Tahun Mulai : 2015
10. Tahun Selesai : 2019
11. Output Tahun 2015 :
 1. Satu teknik sterilisasi eksplan salak dan satu komposisi media inisiasi.
 2. 200 planlet pisang (dari 4 kultivar) hasil perbanyakkan kultur jaringan
 3. Keragaan morfologis dan molekuler 4 kultivar pisang hasil kultur jaringan
 4. Satu draf karya tulis ilmiah
12. Output Akhir : Teknik regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk *true-to-type* pisang hasil perbanyakkan kultur jaringan
13. Biaya : Rp. 154.000.000,-

Koordinator Program,

Dr.Ir.Ellina Mansyah, MP
NIP. 19630423 199103 2 001

Mengetahui,
Kepala Pusat Penelitian dan
Pengembangan Hortikultura,

Dr. Ir. M.Prama Yufdy, MSc
NIP.19591010 198603 1 002

Penanggung Jawab RPTP,

Ir. Rahayu Triatminingsih
NIP.19560626 198903 2 001

Kepala Balai Penelitian
Tanaman Buah Tropika

Dr. Ir. Mizu Istianto
NIP. 19661230 199303 1 003

RINGKASAN

1. Judul RPTP : Teknologi Perbanyakan Salak Melalui Organogenesis dan Evaluasi Keragaman Tanaman Pisang Yang Diperbanyak Secara *In vitro*
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok
3. Lokasi : Sumatera Barat, Jawa Barat.
4. Agroekosistem : Dataran rendah – medium
5. Status
 - a. Baru : Baru
 - b. Lanjutan (Tahun) :
6. Tujuan
 - a. Jangka Pendek (2015) :
 - 1) Memperoleh satu teknik sterilisasi eksplan dan komposisi media inisiasi tunas salak.
 - 2) Memperoleh 200 plantlet pisang hasil perbanyakan *in vitro*.
 - 3) Mendapatkan informasi keragaan secara morfologi maupun molekuler 4 kultivar pisang hasil kultur jaringan
 - b. Jangka panjang : Memperoleh teknik regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk menguji *true-to-type* tanaman pisang hasil perbanyakan melalui kultur jaringan
7. Luaran yang diharapkan
 - a. Jangka pendek (2015) :
 - 1) Satu teknik sterilisasi dan satu komposisi media inisiasi eksplan tunas anakan salak
 - 2) 200 Plantlet pisang hasil perbanyakan kultur jaringan
 - 3) Keragaan morfologis dan molekuler 4 kultivar pisang hasil kultur jaringan
 - 4) Satu draf naskah karya tulis ilmiah siap publikasi
 - b. Jangka panjang :
 - 1) Teknologi regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk *true-to-type* pisang hasil perbanyakan melalui kultur jaringan
 - 2) Dua karya tulis ilmiah dalam bentuk Jurnal.
8. Hasil yang diharapkan : Tersedianya teknologi regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan peningkatan kualitas benih pisang hasil kultur jaringan dari segi kemurnian kultivar
9. Manfaat : Perbaikan teknologi perbenihan yang lebih efisien terutama untuk benih salak dan pisang yang bermutu
10. Dampak : Tumbuhnya sentra-sentra produksi salak dan pisang varietas unggul di seluruh wilayah Indonesia

11. Diskripsi metodologi : **1. Perbanyak Tanaman Salak secara *In Vitro* : Teknik Sterilisasi Eksplan tunas anakan Salak dan Penanaman pada Beberapa Komposisi Media Inisiasi**
Plant Propagation
Salak in In Vitro:
Sterilization
Techniques explants
Shoots Salak and
Culture in Some of
Media Composition of
Initiation

Tahap 1. Sterilisasi eksplan tunas anakan salak.

menggunakan 2 prosedur yaitu:

a) Eksplan direndam dalam alkohol 70%, selama 30 detik dan dilanjutkan dengan air mengalir selama 15 menit, fungisida 2 gr/l selama 20 menit, bakterisida 20 menit, bilas dengan aquades steril tiga kali, NaClO 5.25 % selama 20 menit, HgCl 0.05% selama 5 menit. Sebelum ditanam pada media inisiasi awal, eksplan dibilas dengan aquades steril tiga kali.

b) Eksplan direndam dalam alkohol 70%, selama 30 detik dan dilanjutkan dengan air mengalir selama 15 menit, fungisida 2 gr/l selama 20 menit, bakterisida 20 menit, bilas dengan aquades steril tiga kali, NaClO 2.65 % selama 30 menit, HgCl 0.05% selama 5 menit. Setelah itu eksplan dibilas dengan aquades steril tiga kali, dan dikulturkan di media MS0 (tanpa ZPT) selama 6 minggu.

Tahap 1. Inisiasi kultur *in vitro* salak

Pada minggu berikutnya, eksplan yang bebas kontaminan disubkultur ke media inisiasi awal selama 8 minggu. Selanjutnya, eksplan disubkultur ke media inisiasi lanjut.

Komposisi Media Inisiasi awal :

MS+7 mg^l⁻¹ BAP+0,5 mg^l⁻¹ NAA dan 6 mg^l⁻¹ 2-iP +10 mg^l⁻¹ NAA

Komposisi Media Inisiasi lanjut :

1. MS+5 mg^l⁻¹ BAP+0,0 mg^l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013)
2. MS+7 mg^l⁻¹ BAP+0,5 mg^l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013)
3. MS+6 mg^l⁻¹ 2-iP + 5 mg^l⁻¹ NAA (Modifikasi)
4. MS+6 mg^l⁻¹ 2-iP + 10 mg^l⁻¹ NAA (Alkhateeb 2006)
5. MS+5 mg^l⁻¹ Picloram+5 mg^l⁻¹ 2.4-D (Saptowo 2004)

Kultur diinkubasi di ruangan dengan penyinaran 8 jam per hari dengan intensitas 1000-1500 luks, yang bersuhu 25° C. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Setiap perlakuan 10 botol, setiap botol terdiri dari satu eksplan. Pengamatan meliputi persentase eksplan yang bebas kontaminan, saat eksplan merekah, bertunas, berkalus, jumlah eksplan bertunas, berkalus, jumlah tunas per eksplan.

2. Pengaruh Frekuensi Subkultur Terhadap Keragaan Morfologi dan Molekuler Empat Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara *In Vitro*

Tahap 1. Penelitian frekuensi subkultur.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Sumani dan Aripa, Balitbu Tropika. Penelitian menggunakan 4 kultivar pisang komersial, yaitu : Ambon Hijau, Kepok Tanjung, Barangan, dan Ketan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan frekuensi subkultur, yaitu: a. empat kali, b. enam kali, c. delapan kali, d. sepuluh kali. Setiap perlakuan diulang 3 kali.

Tahap 2. Analisis marka molekuler beberapa kultivar pisang hasil perbanyakan secara *in vitro* menggunakan RAPD dan ISSR

Penelitian dilakukan di Laboratorium Uji Mutu, Balitbu Tropika. Penelitian menggunakan DNA genom dari 4 kultivar hasil perbanyakan *in vitro* dengan berbagai frekuensi subkultur yang di PCR menggunakan 20 primer RAPD dan 5 primer ISSR.

12. Jangka Waktu : Tahun ke I (4 Tahun).
13. Biaya : Rp. 154.000.000

SUMMARY

1. Title : Propagation Technology of Snakefruit Through Organogenesis and Evaluation of *In Vitro* Propagated Banana.
2. Implementation Unit : Indonesian Tropical Fruit Research Institute
3. Location : West Sumatea, and West Java.
4. Agroecological Zone : Low – medium land
5. Status
- a. New : New (2015)
 - b. Continue (Year) :
6. Objectives
- a. Short term (2015) :
 1. To determine the appropriate sterilization techniques and medium compositions for shoot initiation of Snakefruit
 2. To produce 200 plantlet of banana
 3. To obtain the informations of morphological and molecular performances of 4 tissue cultured banana cultivars
 - b. End of the project : To find out the regeneration technologies of snakefruit through organogenesis and to develop molecular markers for genetic fidelity assessment of tissue cultured banana planting materials
7. Expected output
- a. Short term (2015) :
 1. The sterilization technique and medium compositions for shoot initiation of snakefruit
 2. 200 tissue cultured banana plantlets
 3. The information of morphological and molecular performances of 4 tissue cultured banana cultivars
 4. A draft of scientific manuscript
 - b. End of the project :
 1. Regeneration technology of snakefruit through organogenesis and molecular markers for fidelity assessment of *in vitro* propagated banana.
 2. Two scientific manuscripts
8. Expected outcome :
 1. The availability of technologies for regeneration of snakefruit through organogenesis
 2. The availability of technologies for purity assessment of banana plantlet.
9. Expected Benefit :
 1. To meet the demands of snakefruit and banana planting materials
 2. The improvement of banana planting materials quality, in term of true-to-type cultivar.
10. Expected Impact : The rapid growth of high yield cultivars of snakefruit and banana production centers in Indonesia

11. Methodology

: 1. *In Vitro* Propagation of Snakefruit Planting Materials: Sterilization techniques of shoots explants of Salacca and Culture in some of Initiation Media.

Step 1. Sterilization techniques

Shoot explants are sterilized by two kinds of procedures :

a). The shoots are immersed in 70% alcohol, for 30 second, followed by running tap water for 15 min, and then explants were agitated in fungicide 2 g/l for 20 min, bactericide 2 g/l for 20 min, followed by rinsing with sterile distilled water for three times, and then agitated in NaOCl 5.25 % for 20 min, HgCl 0.05% for 5 min. Finally, the explants are rinsed with sterile distilled water for three times. Shoot explants were aseptically cultured on initiation media.

b). The shoots are immersed in 70% alcohol, for 30 second, followed by running tap water for 15 min, and then explants were agitated in fungicide 2 g/l for 20 min, bactericide 2 g/l for 20 min, followed by rinsing with sterile distilled water for three times, and then agitated in NaOCl 2.65 % for 20 min, HgCl 0.05% for 5 min. Their explants are rinsed with sterile distilled water for three times prior to culture. Shoot explants are aseptically cultured into MS0 for 6 weeks and then to subcultured in initiation media I, during 8 weeks. : 7 mg^l⁻¹ BAP +0.5 mg^l⁻¹ NAA and 6 mg^l⁻¹ 2-iP + 10 mg^l⁻¹ NAA.

Step 2. Initiation Media II:

- 1) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.0 mg^l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013)
- 2) 7 mg^l⁻¹ BAP +0.5 mg^l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013)
- 3) 6 mg^l⁻¹ 2-iP + 5 mg^l⁻¹ NAA (Modifikasi)
- 4) 6 mg^l⁻¹ 2-iP + 10 mg^l⁻¹ NAA (Alkhateeb 2006)
- 5) 5 mg^l⁻¹ Picloram+5 mg^l⁻¹ 2.4-D (Saptowo 2004)

Each treatment contains 5 bottles, each bottle consists of two explants. The observations are included: the time of sprouted/callused explants, the number of sprouted/callused explants, and the number of shoots per explant.

2. The Influence of Subculture Frequency on the Performance of *In Vitro* Propagated of Four Banana Cultivars

Step 1. The experiment of subculture frequency

The research will be carried out at plant tissue culture laboratory of Indonesian Tropical Fruit Research Institute using four commercial banana cultivars, i.e.: Ambon Hijau, Kepok Tanjung, Barangan, and Ketan. Completely Randomized Design is used as experimental design, and the treatments are subculture frequency, i.e.: four times, six times, eight times, and ten times. Each treatment is replicated three times.

Step 2. Molecular analysis of *in vitro* propagated banana planting materials using RAPD and ISSR

The experiments will be carried out at Quality Assessment laboratory of Indonesian Tropical Fruit Research Institute. This research will use genomic DNA of 4 banana cultivars obtained from several treatments subculture frequencies (step 1 of activity 2), PCR amplified using 20 RAPD and 5 ISSR primers.

12. Duration : 4 years
13. Budget (2015) : Rp. 154.000.000

I. PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Kepedulian masyarakat terhadap mutu buah salak dan pisang semakin meningkat, baik mengenai cita rasa, estetika, kesehatan maupun keamanan. Hal itu merupakan suatu konsekuensi logis dari kemajuan ekonomi dan pendidikan. Perkembangan permintaan buah yang dinamis tersebut perlu direspon oleh pemulia tanaman buah dengan membuat varietas unggul baru dan menyediakan bibitnya dalam jumlah yang banyak.

Perakitan varietas unggul baru buah-buahan merupakan langkah nyata untuk dapat meningkatkan produksi pangan. Langkah tersebut perlu didukung dengan teknologi penyediaan benih bermutu dan seragam secara massal. Benih bermutu merupakan modal awal yang harus diperhatikan dalam mendukung keberhasilan suatu agribisnis dan peningkatan produktivitas tanaman maupun agroindustri. Teknologi kultur jaringan mempunyai potensi diaplikasikan untuk memperbanyak klonal tanaman dalam skala besar, pengelolaan dan pelestarian SDG secara *in vitro* maupun untuk sarana rekayasa genetika.

Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika telah melepas beberapa kultivar baru salak maupun calon varietas hasil silangan. Permintaan benih salak varietas baru tersebut belum dapat dipenuhi karena keterbatasan jumlah anakannya. Bibit yang dihasilkan dari memperbanyak salak secara konvensional (cangkok) maksimum hanya lima anakan dalam satu tahun. Teknologi organogenesis mempunyai potensi untuk memperbanyak klonal tanaman salak unggul dalam skala besar. Sumber eksplan vegetatif sebagai materi memperbanyak klonal salak yang berasal dari lapang/kebun biasanya banyak mengandung mikroorganisma. Oleh karena itu cara sterilisasi yang tepat merupakan langkah awal keberhasilan pelaksanaan memperbanyak secara *in vitro*. Tahapan berikutnya setelah diperoleh eksplan yang vigor, bebas kontaminan dan masih segar (*Establishment Stage*) kemudian masuk ketahap inisiasi tunas, dan multiplikasi tunas. Masing-masing tahapan tersebut memerlukan media yang berbeda.

Indonesia merupakan salah satu sentra primer keragaman pisang, baik pisang segar, olahan, dan pisang liar. Lebih dari 200 jenis pisang terdapat di Indonesia. Tingginya keragaman ini, memberikan peluang pada masyarakat untuk dapat memanfaatkan dan memilih jenis pisang komersial yang dibutuhkan

oleh konsumen.

Perbanyakan pisang secara organogenesis merupakan solusi terbaik dalam rangka penyediaan bahan tanam pisang secara komersial. Namun demikian, sistem perbanyakan ini menghadapi masalah yaitu munculnya variasi somaklonal pada tanaman hasil perbanyakan secara kultur jaringan.

Berdasarkan latar belakang tersebut diperlukan teknologi perbanyakan salak secara organogenesis dan evaluasi keragaman morfologi maupun molekuler pada hasil perbanyakan pisang secara kultur jaringan.

1.2. DASAR PERTIMBANGAN

Pada umumnya perbanyakan salak dilakukan menggunakan biji dan tunas anakan. Perbanyakan salak melalui biji tidak disarankan karena akan menghasilkan tanaman yang sifatnya berbeda dengan induknya. Perbanyakan tanaman secara vegetatif VUB yang berasal dari hasil silangan, sering terkendala pada keterbatasan PIT, sehingga jumlah anakan yang dihasilkan juga terbatas. Sistem perbanyakan melalui kultur jaringan merupakan alternatif perbanyakan yang dapat dilakukan untuk memperbanyak kultivar unggul baru tanaman salak. Sampai sejauh ini informasi yang tersedia untuk perbanyakan tanaman salak secara *in vitro* masih menggunakan embrio zigotik sebagai sumber eksplan, sedangkan penggunaan tunas anakan sebagai sumber eksplan belum pernah dilakukan. Kesulitan yang sering ditemui pada tahap awal adalah adanya kontaminasi, browning, frekuensi bertunas rendah (Berthouly and Michaux-Ferriere 1996). Tahap awal adalah tahap inisiasi untuk mendapatkan kultur yang berkembang, segar dan tidak terkontaminasi mikroorganisme. Kondisi lingkungan sumber eksplan berpengaruh terhadap keberhasilan penerapan teknik kultur jaringan (Wainwright and Harwood 1985; Lemos and Blake 1996). Disamping itu, umur jaringan eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan salak (Saptowo *et al.* 2004). Sumber eksplan yang berasal dari kebun/lapang biasanya mengandung kontaminan yang lebih kompleks dari pada yang berasal dari rumah kaca atau rumah kaca, sehingga penanganan pada tahap awal berbeda-beda, oleh karena itu kegiatan penelitian mengenai penggunaan tunas anakan sebagai sumber eksplan perlu dilakukan untuk menunjang program penyediaan benih salak unggul hibrida.

Untuk menunjang peningkatan produksi pisang diperlukan perluasan areal penanaman pisang yang pada akhirnya akan memerlukan benih bermutu dalam jumlah besar. Kebutuhan benih pisang untuk keperluan tersebut dapat dipenuhi dengan menggunakan teknik perbanyakan secara kultur jaringan (Vuylsteke and Ortiz, 1996). Namun demikian teknik kultur jaringan tanaman pisang rentan terhadap variasi somaklonal. Evaluasi kemurnian bahan tanam pisang dari variasi somaklonal dapat dilakukan secara morfologis maupun molekuler. Untuk menghasilkan marka molekuler yang bisa digunakan sebagai penanda keseragaman (*true-to-typeness*) tanaman pisang hasil perbanyakan kultur jaringan, selain digunakan tanaman yang masih muda juga diperlukan tanaman yang sama saat sudah berproduksi sebagai konfirmasi dan validasi dari marka yang dibuat. Dengan dilakukan kontrol di tingkat subkultur dan monitoring genetik sejak dini, akan diperoleh bahan tanam yang sehat, *true-to-type* dan seragam.

1.3. TUJUAN

Tujuan Jangka Pendek :

- Memperoleh satu teknik sterilisasi dan satu komposisi media inisiasi tunas salak.
- Memperoleh 200 plantlet pisang hasil perbanyakan *in vitro*.
- Mendapatkan informasi keragaan secara morfologi maupun molekuler tanaman pisang hasil kultur jaringan.

Tujuan Jangka Panjang :

Memperoleh teknik regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk menguji *true-to-type* tanaman pisang hasil perbanyakan melalui kultur jaringan.

1.4. KELUARAN YANG DIHARAPKAN

Keluaran Jangka Pendek:

- Satu teknik sterilisasi tunas anakan salak dan Satu komposisi media inisiasi.
- 200 plantlet pisang hasil perbanyakan *in vitro*

- Keragaan morfologis dan molekuler 4 kultivar pisang hasil kultur jaringan
- Satu draf naskah karya tulis ilmiah dalam bentuk Jurnal.

Keluaran Jangka Panjang

- Teknologi regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk *true-to-type* pisang hasil perbanyakan kultur jaringan
- Dua karya tulis ilmiah

1.5. PERKIRAAN MANFAAT DAN DAMPAK

1.5.1. Manfaat :

- Untuk memenuhi kebutuhan bibit salak dan pisang yang bermutu
- Tersedia teknologi untuk menguji kemurnian kultivar pisang

1.5.2. Dampak :

Tumbuhnya sentra-sentra produksi salak dan pisang varietas unggul di seluruh wilayah Indonesia, sehingga pendapatan petani meningkat.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. KERANGKA TEORITIS

Teknologi perbanyakan klonal melalui teknik kultur jaringan mempunyai potensi untuk mengatasi ketersediaan benih karena diperoleh benih yang seragam dan bermutu dalam skala massal (Oktavia *et al.* 2003, Riyadi *et al.* 2005, Thengane *et al.* 2006). Keberhasilan teknik kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh eksplan/jaringan yang digunakan serta komposisi media (Gamborg dan Shyluk 1981, Oktavia *et al.* 2003, Saptowo *et al.* 2004, Sumaryono *et al.* 2007, Kasi dan Sumaryono 2008).

Media yang digunakan untuk budidaya jaringan/kultur jaringan terdiri atas beberapa komponen yaitu nutrisi organik, sumber besi, vitamin, amino acid, zat pengatur tumbuh, sumber karbon, pematid/ agar dan akuades. Komponen media tersebut memenuhi satu atau lebih fungsi didalam pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Vitamin penting untuk berbagai reaksi biokimia. Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan faktor pembatas untuk keberhasilan diferensiasi pertumbuhan dari kultur sel tanaman. Kelompok ZPT yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan adalah dari kelompok auksin dan sitokinin. Konsentrasi auksin dan sitokinin yang optimum untuk pertumbuhan berbeda dari satu species dengan species yang lain (Triatminingsih dkk. 2003; Priyono 2004; Riyadi dan Tirtoboma 2004; Sumaryono *et al.* 2007). Penggunaan sitokinin dan auksin dalam satu media dapat memacu proliferasi tunas karena adanya pengaruh sinergisme antara zat pengatur tumbuh tersebut (Thorpe 1987; Davies 1995). Flick *et al.* (1993) menambahkan bahwa kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas.

Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam teknik kultur jaringan selain BAP, Kinetin, IAA, NAA, 2,4-D adalah Picloram dan TDZ. Picloram merupakan auksin yang daya aktivitasnya kuat, sehingga apabila dikombinasikan dengan 2,4-D akan berpengaruh sangat besar terhadap proses pembelahan sel (Saptowo *et al.* 2004). Sumber karbon yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah sukrosa. Sukrosa mempunyai dua kepentingan sekaligus yaitu sebagai stimulan tekanan osmotik dalam proses morfogenesis dan sebagai sumber karbon. Sukrosa sebanyak 50 % ternyata dapat memperbaiki produksi embrio somatik palm (Alkhateeb 2006). Salah satu bahan alami yang sering digunakan untuk

media regenerasi tanaman adalah air kelapa. Menurut Yusnida (2006), air kelapa merupakan bahan yang dapat merangsang pembelahan sel dan differensiasi.

Beberapa penelitian tentang perbanyakan tanaman salak dan kerabatnya secara *in vitro* sudah pernah dilakukan, tetapi umumnya menggunakan materi embrio zigotik sebagai sumber eksplan (Saptowo *et al.*, 2004; Xiangyang *et al.*, 2011; Triatminingsih *et al.* 2010). Zulkepli *et al.* (2011) menginduksi kalus yang berasal dari bagian bunga kerabat salak (*Salacca glabrescence*). Sampai saat ini publikasi tentang penggunaan tunas anakan salak sebagai sumber eksplan masih belum tersedia, sehingga studi tentang perbanyakan *in vitro* menggunakan materi tersebut perlu dilakukan. Selain bagian tanaman sebagai sumber eksplan, komposisi media tumbuh juga memegang peranan penting dalam perbanyakan kerabat salak secara *in vitro*. Masih terbatasnya informasi media tumbuh untuk perbanyakan *in vitro* salak, menyebabkan beberapa penelitian menggunakan media tumbuh yang berhasil untuk tanaman yang mempunyai famili yang sama dengan salak seperti kelapa (Euwens 1976). Zulkepli *et al.* (2011) menggunakan media dasar Y3 (Euwens 1976) untuk menginduksi kalus yang berasal dari bunga *Salacca glabrescence*. Saptowo *et al.* 2004 menggunakan media dasar WPM (Lloyd & McCown 1981), dan Triatminingsih *et al.* (2010) menggunakan media dasar MS (Murashige & Skoog 1962) untuk menginduksi kalus dari eksplan embrio zigotik.

Dalam perbanyakan tanaman pisang secara *in vitro*, beberapa publikasi menyebutkan bahwa keseragaman tanaman hasil perbanyakan pisang secara kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh frekuensi subkultur. Semakin tinggi subkultur semakin tinggi variasi somaklonal yang terjadi (Tang, 2005). Menurut Reuveni and Israeli (1990) untuk menghindari variasi somaklonal yang terlalu tinggi, subkultur biakan pisang Grande Naine dalam perbanyakan secara kultur jaringan tidak boleh lebih dari enam kali. Namun demikian dari hasil penelitian Chavan-Patil (2010), sampai dengan subkultur ke 8, kultivar yang sama menghasilkan frekuensi variasi sebesar 2 % dan masih menghasilkan produksi yang normal bila dibandingkan dengan biakan yang disubkultur sebanyak 15 kali dengan variasi sebesar 2-10 %.

Variasi somaklonal pada tanaman hasil perbanyakan dibuktikan secara molekuler dengan menggunakan RAPD oleh Sheidai *et al.* (2008; 2010), beberapa lokus berkurang sejalan dengan meningkatnya frekuensi subkultur

kultivar Valerie (subgroup Cavendish) dan Dwarf Cavendish. Tetapi Lakshmanan (2007) menyatakan hal yang berbeda, yaitu bahwa perbanyak tanaman pisang kultivar Nanjanagudu Rajabale (NR) secara kultur jaringan dan disubkultur sebanyak 150 kali pada media dasar MS yang mengandung nitrat 75% dari media standar dan ditambah dengan 2 mg^l⁻¹ BAP, 1 mg^l⁻¹ kinetin dan 80 mg^l⁻¹ ascorbic acid, menghasilkan bahan tanam yang seragam secara genetik berdasarkan hasil analisis RAPD dan ISSR. Sementara itu, Lu *et al.* (2011) menggunakan pendekatan analisis ISSR memperoleh hasil bahwa variasi somaklonal pada tanaman pisang hasil kultur jaringan juga dipengaruhi oleh kultivar. Beberapa kultivar yang diuji menunjukkan polimorfisme kecuali kultivar 'Brazil'.

Berdasarkan dua pendapat yang berbeda tersebut, diperlukan pembuktian baik secara morfologis maupun molekuler terhadap beberapa kultivar-kultivar pisang. Selain itu diperlukan kontrol subkultur dan metode seleksi planlet yang dimulai sejak dini, yaitu pada saat planlet dikeluarkan dari botol kultur sebelum aklimatisasi sampai pada tanaman siap ditanam di lapang.

2.2. HASIL HASIL PENELITIAN TERKAIT

Perbanyak tanaman salak sudah pernah dilakukan baik di dalam negeri maupun di luar negeri meskipun masih belum banyak informasi yang tersedia. Di dalam negeri, perbanyak salak secara *in vitro* dimulai oleh Saptowo *et al.* (2004) menggunakan embrio zigotik sebagai sumber eksplan. Kalus diinduksi dengan menggunakan WPM+2,4-D 5-30 mg^l⁻¹ +picloram 5 mg^l⁻¹. Triatminingsih *et al.* (2013) menyatakan bahwa penggunaan media WPM + 5 mg^l⁻¹ BAP + 0,5 mg^l⁻¹ NAA menghasilkan persentase eksplan membentuk tunas tertinggi sebesar 83 %. Multiplikasi tunas embrio zigotik terbanyak yaitu 4,33 tunas per eksplan terjadi pada media WPM+7 mg^l⁻¹ BAP+0,5 mg^l⁻¹ NAA. Kesulitan yang sering ditemui ditahap awal (tahap inisiasi) untuk mendapatkan kultur yang *establish* adalah adanya kontaminasi, browning, frekuensi bertunas rendah.

Di luar negeri, perbanyak *in vitro* salak dilakukan di China oleh Xiangyang *et al.* (2011). Multiplikasi tunas terjadi pada 6 bulan setelah kultur dengan frekuensi regenerasi tunas tertinggi (41,7 %) terjadi pada media MS+8 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA dan persentase perakaran tertinggi (46,9 %) terjadi pada media ½MS+1

mg^l⁻¹ IBA dan 1 mg^l⁻¹ ABT. Zulkepli *et al.* (2011) melakukan kultur *in vitro* kerabat salak (*Salacca glabrescence*) menggunakan bunga muda sebagai sumber eksplan. Media dasar terbaik untuk induksi kalus adalah Y3 (Euwens 1976) yang ditambah 0,2 mg^l⁻¹ TDZ, 4,0 mg^l⁻¹ 2,4-D dan 2 mg^l⁻¹ picloram atau 1 mg^l⁻¹ NAA, 0,5 mg^l⁻¹ BA, dan 1,5 mg^l⁻¹ 2,4-D.

Balitbu Tropika semenjak tahun 2011 sampai sekarang telah melaksanakan perbanyakan massal benih beberapa varietas pisang melalui kultur jaringan. Teknik kultur jaringan yang diterapkan memberikan respon yang berbeda untuk tiap-tiap kultivar. Beberapa kultivar seperti Ambon Kuning, Ambon Hijau dan Barangan menunjukkan respon pertumbuhan tunas yang cepat, sedangkan beberapa kultivar lainnya seperti Kepok, Ketan dan Tanduk memberikan respon yang kurang bagus. Perbanyakan kultur jaringan dengan induksi organogenesis dari potongan bonggol *in vitro* (Sutanto *et al.* 2003a) dan *floral axis* (Sutanto *et al.* 2003b) juga memberikan kemampuan multiplikasi yang berbeda untuk tiap kultivar yang dicoba. Pemanfaatan bahan kimia teknis seperti pupuk cair dan gula pasir untuk mengganti bahan kimia pro-analis dan sumber karbon pada perbanyakan pisang kultur jaringan juga dilakukan untuk menekan biaya produksi (Meldia *et al.* 1999). Usaha untuk meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas beberapa kultivar yang sulit berkembang secara *in vitro* dilakukan dengan menambahkan thidiazuron pada media tanam pada subkultur ketiga (Lee 2005).

III. METODOLOGI

3.1. Perbanyak Tanaman Salak Secara *In Vitro* : Teknik Sterilisasi Eksplan Anakan salak dan Penanaman pada Beberapa Komposisi Media Inisiasi

3.1.1 Pendekatan

Secara umum aktivitas kegiatan terdiri dari kegiatan-kegiatan seperti pemilihan sumber eksplan, sterilisasi eksplan, induksi pembentukan tunas, multiplikasi tunas. Eksplan yang digunakan adalah tunas anakan, yang menggunakan pendekatan, yaitu memperlakukan sampel berdasarkan urutan pertumbuhan jaringan dan organ.

Media disiapkan dengan membuat larutan stock, mencampurkan unsur makro, mikro, zat pengatur tumbuh, sumber karbon, asam amino dan vitamin yang diberikan sesuai dengan perlakuan yang ditentukan.

3.1.2. Ruang lingkup kegiatan

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika mulai bulan Januari sampai Desember 2015. Lingkup kegiatan keseluruhan sebagai berikut:

- a. Persiapan materi penelitian: eksplan dan bahan kimia dan peralatan kultur
- b. Pemilihan/penentuan sumber eksplan
- c. Sterilisasi eksplan
- d. Inisiasi pertumbuhan eksplan anakan
- e. Pengamatan, Analisa data dan pelaporan.

3.1.3. Bahan Dan Metode Pelaksanaan Kegiatan

3.1.3.1 Bahan

Bahan eksplan yang digunakan untuk kegiatan kultur jaringan adalah tunas anakan dari tanaman salak yang terpilih.

Bahan kimia meliputi unsur makro dan mikro, ZPT (BAP, Picloram, IBA, IAA, NAA), sukrosa, vitamin, gelrite/phytagel, PVP, plastik Wrap, Aluminium foil, plastik, botol kultur, diseting set, dll. Peralatan yang digunakan adalah

Timbangan Analitik, Autoklave, Laminar-Air Flow, Mikroskop, Kamera, Shaker, Diseting set, pisau/ cutter, pinset, dll.

3.1.3.2. Metode Pelaksanaan Kegiatan

Kegiatan penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika mulai Januari sampai dengan Desember 2015. Disamping itu dilakukan konsultasi, komunikasi penelitian melalui seminar dan study banding penerapan pengembangan kultur jaringan tanaman berkayu, di Lab Bioteknologi di Bogor dan BB Biogen.

Eksplan diambil dari anakan tanaman salak dewasa yang terpilih. Selanjutnya eksplan dikupas/dikurangi pelepah daunnya, diambil bagian tengahnya (tunas pucuknya) untuk disterilisasi, kemudian dikulturkan pada media inisiasi awal. Secara umum kegiatan TA. 2015 terdiri dari dua sub kegiatan yaitu: a) teknik sterilisasi eksplan salak dan b) kultur eksplan pada media inisiasi.

A. Teknik sterilisasi eksplan tunas anakan salak

Sterilisasi eksplan tunas anakan salak, menggunakan 2 prosedur yaitu:

- a) Eksplan direndam dalam alkohol 70%, selama 30 detik dan dilanjutkan dengan air mengalir selama 15 menit, fungisida 2 gr/l selama 20 menit, bakterisida 20 menit, bilas dengan aquades steril tiga kali, NaClO 5.25 % selama 20 menit, HgCl 0.05% selama 5 menit. Sebelum ditanam pada media inisiasi awal, eksplan dibilas dengan aquades steril tiga kali..
- b) Eksplan direndam dalam alkohol 70%, selama 30 detik dan dilanjutkan dengan air mengalir selama 15 menit, fungisida 2 gr/l selama 20 menit, bakterisida 20 menit, bilas dengan aquades steril tiga kali, NaClO 2.65 % selama 30 menit, HgCl 0.05% selama 5 menit. Setelah itu eksplan dibilas dengan aquades steril tiga kali, dan dikulturkan di media MS0 (tanpa ZPT) selama 6 minggu.

B. Inisiasi kultur *in vitro* salak

Pada minggu berikutnya, eksplan yang bebas kontaminan disubkultur ke media inisiasi I selama 8 minggu. Selanjutnya, eksplan disubkultur ke media inisiasi II.

Media dasar yang digunakan adalah media MS yang disuplemen dengan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 170 mg l^{-1} , Myo-Inositol 125 mg l^{-1} , Glutamin 200 mg l^{-1} , Thiamin 5 mg l^{-1} , Pyridoxine HCl 1 mg l^{-1} , Nicotinic acid 1 mg l^{-1} , Glycine 2 mg l^{-1} , Sukrosa 30

gl⁻¹, Activated charcoal 1,5 gl⁻¹, gelrite 2 gl⁻¹. dan diperkaya dengan ZPT dengan diperlakukan sebagai berikut:

Komposisi Media Inisiasi awal :

MS + 7 mg l⁻¹ BAP + 0,5 mg l⁻¹ NAA dan 6 mg l⁻¹ 2-iP + 10 mg l⁻¹ NAA

Komposisi Media Inisiasi lanjut :

- 1). MS + 5 mg l⁻¹ BAP + 0,0 mg l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013).
- 2). MS + 7 mg l⁻¹ BAP + 0,5 mg l⁻¹ NAA (Triatminingsih dkk. 2013).
- 3). MS + 6 mg l⁻¹ 2-iP + 5 mg l⁻¹ NAA (Modifikasi)
- 4). MS + 6 mg l⁻¹ 2-iP + 10 mg l⁻¹ NAA (Alkhateeb 2006)
- 5). MS + 5 mg l⁻¹ Picloram+5 mg l⁻¹ 2.4-D (Saptowo 2004)

Kultur diinkubasi di ruangan dengan penyinaran 8 jam per hari dengan intensitas 1000-1500 luks, yang bersuhu 25° C.

Rancangan Penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Setiap perlakuan 10 botol (botol jam 200 ml), setiap botol terdiri dari satu eksplan. Pengamatan meliputi persentase eksplan yang bebas kontaminan, saat eksplan merekah, bertunas, berkalus, jumlah eksplan yang bertunas, jumlah tunas per eksplan.

3.2. Pengaruh Frekuensi Subkultur Terhadap Keragaan Morfologi dan Molekuler Empat Kultivar Pisang Hasil Perbanyakan Secara *In Vitro*

3.2.1. Pendekatan

Pendekatan yang digunakan adalah percobaan dengan menggunakan empat kultivar lokal dan komersial yang diperbanyak secara *in vitro* dengan berbagai frekuensi subkultur. Tanaman hasil perbanyakan masing-masing kultivar dan masing-masing subkultur dianalisis secara molekuler (menggunakan RAPD dan ISSR) untuk mengetahui pengaruh subkultur terhadap keragaan morfologis maupun molekuler.

4.2.2. Ruang Lingkup

Ruang Pelaksanaan kegiatan meliputi: persiapan (matrik, juknis, pengadaan bahan dan alat), pembuatan media kultur, persiapan eksplan, inisiasi eksplan, multiplikasi tunas pengakaran tunas, aklimatisasi, isolasi DNA, PCR dan analisis data molekuler.

3.2.3. Bahan dan Metode Pelaksanaan Kegiatan

3.2.3.1. Bahan dan Alat.

Bahan yang digunakan adalah: empat kultivar pisang komersial yaitu Kepok Tanjung, Ambon Hijau, Barangan dan Ketan, dan bahan kimia untuk pembuatan media, ZPT (IAA, BAP). Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisa molekuler adalah: DNA genom keempat kultivar pisang lokal/komersial tersebut, bahan kimia untuk buffer, PCR kit, primer, bahan saprodi (pupuk, pestisida, dll) dan bahan penunjang lainnya.

Alat alat yang digunakan antara lain adalah autoclave, laminar air flow, oven, timbangan analitik, cangkul, sprayer, meteran, panci, pinset, alat gelas dan lain sebagainya, serta alat alat yang digunakan untuk analisa molekuler antara lain adalah freezer -20° C, mesin PCR, elektroforesis, Gel Doc, UV illuminator.

3.2.3.2. Metode Pelaksanaan Kegiatan

Kegiatan akan dilaksanakan mulai Januari sampai Desember 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Sumani dan Aripan, dan lab Uji Mutu.

Tahapan Pelaksanaan percobaan ini adalah:

A. Penelitian frekuensi subkultur.

Materi tanaman yang digunakan berasal dari pohon induk yang benar-benar sehat bebas dari hama dan penyakit. Pohon pisang sudah diregister (terdaftar) di BPSB seperti kultivar Ambon Hijau, Kepok Tanjung, Ketan dan Barangan. Materi tanaman yang diambil adalah anakan pisang berbentuk rebung, kemudian 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 tengah bonggol, yang sudah dibuang pelepah daun diambil secara petak dengan ukuran 1,5x1,5 cm dan ditanam pada media MS + 2 mg^l⁻¹ IAA + 5 mg^l⁻¹ BAP. Selanjutnya botol kultur diletakkan pada rak-rak dalam ruangan steril dengan intensitas cahaya 1000 – 4000 lux. Lama penyinaran 16 jam.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan 4 perlakuan frekuensi subkultur dan diulang 3 kali. Setiap unit percobaan berisi 5 botol. Perlakuan frekuensi subkultur sebagai berikut:

1. Empat kali subkultur
2. Enam kali subkultur
3. Delapan kali subkultur
4. Sepuluh kali subkultur

Peubah yang diamati adalah: jumlah tunas per biakan, dan rasio multiplikasi setiap tahap perlakuan subkultur. Interval antar subkultur adalah 1 bulan.

B. Analisis marka molekuler beberapa kultivar pisang hasil perbanyakan secara *in vitro* menggunakan RAPD dan ISSR

Sampel daun dari 4 kultivar lokal/komersial diisolasi menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987) dan dimodifikasi oleh Das *et al.* (2009). Primer yang digunakan adalah 20 primer RAPD dan 5 primer ISSR. Reaksi PCR dilaksanakan dengan volume 25 µl menggunakan 12,5 µl KAPA2G Fast ReadyMix PCR Kit (Kapa Biosystems Inc., USA), yang telah mengandung 0,5 unit polymerase, 1,5 mM MgCl₂ dan dNTP mix, ditambah 1,25 µl primer 10 µM DNA genom dengan konsentrasi 30 ng dan 10,25 µl ddH₂O. Proses PCR menggunakan mesin PCR Eppendorf. Denaturasi cetakan DNA pada awal reaksi pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti dengan 45 kali siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 10 detik, *annealing* pada suhu 45-55°C selama 10 detik dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 3 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.

Percobaan diulang dua kali. Pola pita yang muncul dikonversi ke bilangan binary (ada pita=1, tidak ada pita=0). Kesamaan genetik antar pasangan dihitung berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard (Jaccard, 1980) dan diikuti dengan pengelompokkan menggunakan metode UPGMA dalam SAHN menggunakan NTSYS ver. 2.1 (Rohl, 1998).

IV. ANALISA RESIKO

Daftar Resiko Dan Penanganan Resiko

Identifikasi Resiko	Deskripsi Resiko	Penyebab	Akibat	Penanganan
Waktu Pelaksanaan	Ketidak tepatan waktu pelaksanaan	<ol style="list-style-type: none"> 1.Keterlambatan pencairan dana. 2.Komunikasi antar sektor kurang lancar. 3.Persyaratan administrasi pengelolaan keuangan yang belum dilengkapi. 4. Fase pertumbuhan tanaman sumber eksplan yang tidak tepat, perubahan musim 5.Keterlambatan tersedianya bahan penelitian. 	Keterlambatan pelaksanaan kegiatan	<ol style="list-style-type: none"> 1.Mempercepat proses pencairan dana pada awal tahun anggaran. 2.Meningkatkan aktivitas koordinasi dan evaluasi antar sektor. 3.Melengkapi persyaratan administrasi seawal mungkin sebelum pelaksanaan tahun anggaran baru. 4.Merancang aktivitas baru pada keadaan yang tidak dipengaruhi iklim. 5.Proses pengadaan bahan dilakukan pada awal bulan (Januari) tahun anggaran.
Pelaksanaan Kegiatan	Subkultur, Pengamatan	<ol style="list-style-type: none"> 1.Ketersediaan tenaga kerja dan peralatan, ruang/rak pemeliharaan terbatas 2. Keterbatasan sumber eksplan 3. Kontaminasi eksplan yang tidak dapat diprediksi, Listrik yg tiba-tiba padam, Pergeseran pola pertumbuhan eksplan 	<p>Kekurang akuratan perlakuan dan pengumpulan data.</p> <p>Jumlah eksplan yang ditanam kurang banyak.</p> <p>Pertumbuhan tanaman tidak sesuai harapan.</p> <p>Eksplan yang ditanam mati dan tidak dapat melangkah ke tahap berikutnya.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1.Peningkatan keterampilan peneliti dan teknisi kultur jaringan, penataan ruang kultur. 2.Peningkatan penanaman/subkultur eksplan 3.Segera menyusun dan membuat media komposisi baru untuk mendapatkan pertumbuhan eksplan yang diinginkan/ yang ditargetkan
Pelaporan:	Hasil akhir belum final	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pergeseran pola pertumbuhan tanaman, dan pergeseran pola pertumbuhan eksplan 	Data masih dalam proses pengumpulan	Dalam laporan diinformasikan kendala yg ada serta menganalisa data yang ada untuk laporan /hasil sementara.

V. TENAGA DAN ORGANISASI PELAKSANAAN

5.1. Tenaga yang Terlibat dalam kegiatan RPTP TA.2015

No.	NAMA/NIP	JABATAN DALAM KEGIATAN	URAIAN TUGAS	ALOKASI WAKTU (Jam/minggu)
1.	Rahayu Triatminingsih, Ir/ 19560626 198903 2 001	Penanggung Jawab RPTP dan ROPP 1	Mengkoordinir kegiatan RPTP mulai dari perencanaan, pengamatan dan pelaporan.	30
2.	Agus Sutanto, Dr/ 19670803 199303 1 003	Penanggung Jawab ROPP 2	Mengkoordinir kegiatan ROPP 2, mulai dari perencanaan, pengamatan dan pelaporan	8
3.	Yosi Zendra J/MP 19810925 200801 1 013	Wakil Pen.Jab ROPP 1	Melaksanakan ROPP 1, pengamatan, analisa data dan membuat laporan	20
4.	Riri Prihartini, SP. MSc/ 19821002 200501 2001	Wakil PenJab ROPP 2	Mengkoordinir kegiatan ROPP 2, mulai dari perencanaan, pengamatan dan pelaporan	10
5.	Andre Sparta, SP/ 19840917 201101 1 007	Anggota Pelaksana ROPP 1	Melaksanakan kegiatan ROPP 1, pengamatan, analisa data dan membuat laporan	20
6.	Yulia Irawati, SP., MSi/ 19771231 200501 2002	Anggota Pelaksana ROPP 2	Melaksanakan kegiatan ROPP 2	10
7.	Ida Fitrianiingsih/ 19680102 199503 2 001	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
8.	Mihartati/ 19650727 200701 2 001	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
9.	Anang Wahyudi/ 19740209 200604 1 016	Teknisi Lapang	Membantu kegiatan di lapangan	10
10.	Mujiman/ 19740810 200701 1001	Teknisi Lapang	Membantu kegiatan di lapangan	10

5.2. JANGKA WAKTU KEGIATAN

No	Kegiatan	Bulan Kegiatan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Perbanyak Tanaman Salak secara <i>In Vitro</i>: Teknik Sterilisasi Eksplan dan Penanaman pada Beberapa Komposisi Media Inisiasi												
A. Persiapan (10%):													
	Penyempurnaan RPTP, Juknis, RAB	X	X	X	X								
B. Pelaksanaan (80%):													
	Pengadaan Bahan & Peralatan		X	X	X								
	Pembuatan media	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Sterilisasi, Kultur & subkultur			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Pengamatan Pertumbuhan eksplan			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Perawatan Sumber Eksplan		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
C. Pelaporan (10%) :							X	X	X	X	X	X	
	Tabulasi Data						X	X	X	X	X	X	
	Analisa data dan Pelaporan											X	X
	Persentase Fisik =	15	10	5	5	10	10	5	10	6	7	7	10
	Persen Fisik Kumulatif =	15	25	30	35	45	55	60	70	76	83	90	100
2.a	Pengaruh Frekuensi Subkultur Terhadap Keragaan Morfologi dan Molekuler Empat Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara <i>In Vitro</i>												
A. Persiapan (10 %):													
	Penyempurnaan RPTP, Juknis, RAB	X	X	X									
B. Pelaksanaan (80 %)													
	Pengadaan bahan		X	X	X	X							
	Pembuatan media	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Inisiasi	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
	Multiplikasi		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Aklimatisasi					X	X	X	X	X	X	X	X
	Pengamatan morfologis						X	X	X	X	X	X	X
	Isolasi DNA, PCR				X	X	X	X	X	X	X	X	X
C. Pelaporan (10 %)													
	Tabulasi Data								X	X	X	X	
	Analisis data & Pelaporan											X	X
	Persentase fisik	15	5	5	10	10	10	10	10	5	5	10	5
	Persentase Kumulatif	15	20	25	35	45	55	65	75	80	85	95	100

5.3. PEMBIAYAAN

A. Rekap Pembiayaan

No.	Jenis Pengeluaran	Jumlah (Rp)
1.	Belanja Bahan	1.500.000
2.	Belanja Barang Non Operasional Lainnya	57.950.000
3.	Belanja Barang Untuk Persediaan Barang Konsumsi	64.550.000
4.	Belanja Perjalanan Biasa	30.000.000
	JUMLAH	154.000.000

B. Rincian Biaya :

Kode	Uraian Suboutput/Komponen Subkomponen/Akun/detail.	Rincian Perhitungan			Jumlah (Rp)
		Volume	Satuan Ukur	Harga Satuan (Rp)	
1	2	3	4	5	6
	Teknologi Perbanyakkan Salak Melalui Organogenesis.				
	KEGIATAN 1				
I	BELANJA BAHAN				1,500,000
	Eksplan Salak	300	tunas	5,000	1,500,000
II	Belanja Barang Untuk Persediaan Barang Konsumsi				
A	Pengadaan Bahan Kimia				13,047,000
1	Alkohol 96% @ 1liter	12	liter	37,000	444,000
2	Aquadest ex lokal	100	liter	5,000	500,000
3	BAP	1	botol	2,000,000	2,000,000
4	Calcium Pantothenat Acid (C18H32CaN2O10), 25 g	1	botol	2,090,000	2,090,000
5	Amonium Chloride(NH4Cl), 500 g	1	botol	1,168,500	1,168,500
6	NicleII Chloride (NiCl 6 H2O), 50 g	1	botol	858,000	858,000
7	Spiritus Biru	15	liter	28,000	420,000
8	Sukrosa @2500 gram	2	botol	1,150,000	2,300,000
9	2-iP (N-isopentenylaminopurine) @ 5 gram	1	botol	1,330,000	1,330,000
10	Fungisida Dithane	2	ktk	118,250	236,500
11	Bayclin	10	liter	20,000	200,000

B	Pengadaan ATK				847,000
1	Kertas A4 70 gr (Mirage)	2	rim	36,000	72,000
2	Map plastik Business 101 FC	10	buah	3,200	32,000
3	Tissue (Refil Kotak)	15	buah	14,000	210,000
4	flash dish 4 G	1	buah	95,000	95,000
5	Pensil 2B	1	dosen	38,000	38,000
6	Catridge Canon Colour CL-811	1	bh	200,000	200,000
7	Catridge Canon Black PG-810	1	bh	200,000	200,000
C	Pengadaan Bahan Pendukung				1,640,000
1	Special indikator paper pH 5.2 - 7.2	1	kotak	200,000	200,000
2	Mata scalpel No. 11 dan 23	2	kotak	230,000	460,000
3	Gas LPG	2	tabung	150,000	300,000
4	Plastik penutup botol (plastik cap wayang 1/2 kg)	10	kg	32,000	320,000
5	Plastik Wrap 300 MM x 30 M	12	roll	30,000	360,000
III	Belanja Barang Non Operasional Lainnya				30,700,000
1	Membantu sterilisasi alat/eksplan, pengamatan dan pembuatan media kultur in vitro dll 2 org x12 bln x 27 hr	648	HOK	40,000	25,920,000
2	Membantu memelihara, dan panen tunas	119.5	HOK	40,000	4,780,000
IV	BELANJA PERJALANAN BIASA				19,000,000
1	a. Komunikasi ,koordinasi di DKI (1X)				3,700,000
	Transpotasi	1	Paket	2,000,000	2,000,000
	Lumpsum	2	HOK	500,000	1,000,000
	Penginapan	2	malam	350,000	700,000
2	b. Komunikasi, konsultasi penelitian Salak di Jabar, 4 kali.				15,300,000
	Transpotasi	4	Paket	2,025,000	8,100,000
	Lumpsum	12	HOK	400,000	4,800,000
	Penginapan	8	malam	300,000	2,400,000
	TOTAL BIAYA Salak=				65,234,000

Kode	Uraian Suboutput/ Komponen Subkomponen/Akun/ detail		Satuan Ukur	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1	2	3	4	5	6
	KEGIATAN 2				
1	Belanja Barang Untuk Persediaan Barang Konsumsi :				50,516,000
A	Pengadaan Bahan Kimia				28,240,400
1	Aquades ex. Lokal	800	liter	5,000	4,000,000
2	Alkohol 96 % Bracto	50	liter	37,000	1,850,000
3	Amonium Nitrat / kg	1	kg	1,500,000	1,500,000
4	Agar powder Sriti	10	kg	150,000	1,500,000
5	Potassium Nitrate for analysis, btl @1000 g	1	kg	730,400	730,400
6	Spiritus @ 1000 ml/btl Brataco	40	liter	28,000	1,120,000
7	Primer	250	basa	10,000	2,500,000
8	KAPA2G Fast ReadyMix PCR Kit @ 25 ml	2	kit	2,500,000	5,000,000
9	GelRed 0,5 ml/vial	1	vial	2,000,000	2,000,000
10	DNA ladder 100 bp Genaid (0,5 ml/vial)	2	vial	1,200,000	2,400,000
11	Aquabides steril Kimia Farma (500 ml/btl)	10	btl	20,000	200,000
12	Agarose Vivantis (100 g/btl)	1	btl	1,600,000	1,600,000
13	Bahan lain-lain, kenaikan bahan kimia	1	paket	3,840,000	3,840,000
C	Pengadaan Bahan ATK				1,295,000
1	Spidol Permanen Hitam	3	ktk	70,000	210,000
2	Kertas A4 80g	3	rim	40,000	120,000
3	Kertas label	4	pak	10,000	40,000
4	Catridge Canon Colour CL-811	1	bh	200,000	200,000
5	Catridge Canon Black PG-810	1	bh	200,000	200,000
6	Refil tinta printer Data Scan Hitam for Canon	2	btl	30,000	60,000
7	Refil tinta printer Data Scan Kuning for Canon	2	btl	30,000	60,000
8	Refil tinta printer Data Scan Merah for Canon	2	btl	30,000	60,000
9	Refil tinta printer Data Scan Biru for Canon	2	btl	30,000	60,000
10	Fotokopi	500	lbr	150	75,000
11	Jilid hardcover	3	expl	20,000	60,000
12	Flashdisk 8 Gb Kingston	1	bh	150,000	150,000
B	Pengadaan Bahan Penunjang				20,980,600
	Bayclin	20	liter	20,000	400,000
	Scalpel Blade no. 23 Aesculap	2	ktk	228,000	456,000

	Scalpel Blade no. 11 Aesculap	3	ktk	228,000	684,000
	Special Indicator Paper Ph (Ph 5,2 - 7,2)	2	ktk	200,000	400,000
	Membrane Solution CA Syringe filter, 0,22 um, diam 25 mm	1	pak	2,500,000	2,500,000
	Gulaku putih	40	kg	18,500	740,000
	Gas Elpiji @ 20 kg	10	tbg	150,000	1,500,000
	Karet Gelang Super tahan panas	3	kg	93,000	279,000
	Kotak steinless steel untuk sterilisasi alat kultur	2	bh	250,000	500,000
	Lampu pijar LED Hannock 6 W	10	bh	70,000	700,000
	Fitting lampu (bolam)	8	bh	10,000	80,000
	Masker kain bertali @ 50 pcs/box	4	ktk	33,500	134,000
	Plastik wrap	10	rol	30,800	308,000
	Sabun Cair Sunlight @ 800 ml	20	bh	22,000	440,000
	Arang sekam	10	karung	30,000	300,000
	Gandasil- D 500 g	4	ktk	25,000	100,000
	insektisida dencis	5	btl	75,000	375,000
	Fungisida Dithane	2	ktk	119,500	239,000
	Polybag uk. 18 x 25	20	kg	29,280	585,600
	Tanah humus	1	truk	660,000	660,000
	Tray plastik untuk aklimatisasi ukuran 50 X 37 tinggi 15cm	2	lusin	100,000	200,000
	Micro volume tip 0.5-10 ul Gilson type (1000/pak)	6	pak	300,000	1,800,000
	Micro volume tip kuning 200 ul (1000/pak)	2	pak	200,000	400,000
	PCR tube 0,2 ml, flat cap (1000/pak)	6	pak	1,000,000	6,000,000
	Microtube rack + lid 80 X 1,5/2,0 ml	3	bh	200,000	600,000
	PCR tube rack + lid 96 X 0,2 ml	3	bh	150,000	450,000
	Sarung tangan karet ukuran M sensi glove	2	ktk	75,000	150,000
2	BELANJA BARANG NON OPERASIONAL LAINNYA				27,250,000
	Mencuci dan sterilisasi botol kultur dan peralatan	30	HOK	40,000	1,200,000
	Membantu pembuatan media	51.25	HOK	40,000	2,050,000
	Membantu sterilisasi eksplan	40	HOK	40,000	1,600,000
	Membantu inisiasi	50	HOK	40,000	2,000,000
	Membantu subkultur	150	HOK	40,000	6,000,000
	Membantu aklimatisasi	40	HOK	40,000	1,600,000
	Persiapan media aklimatisasi	30	HOK	40,000	1,200,000

	Memelihara tanaman aklimatisasi	30	HOK	40,000	1,200,000
	Persiapan media polybag	30	HOK	40,000	1,200,000
	Transplanting ke polybag	20	HOK	40,000	800,000
	Pemeliharaan tanaman dalam polybag	30	HOK	40,000	1,200,000
	Membantu kegiatan lab (isolasi DNA, PCR, elektroforesis)	130	HOK	40,000	5,200,000
	Membersihkan peralatan lab	50	HOK	40,000	2,000,000
5	BELANJA PERJALANAN BIASA				11,000,000
1	a. Koordinasi penelitian di Jakarta (Puslitbang horti)	JUML			7,400,000
	- Lunsum	4	HOK	500,000	2,000,000
	- Transportasi (pp)	2	paket	2,000,000	4,000,000
	- Penginapan	4	malam	350,000	1,400,000
2	b. Mencari eksplan, di Sumbar	9	paket	400,000	3,600,000
	TOTAL BIAYA ROPP 2, Pisang =				88,766,000

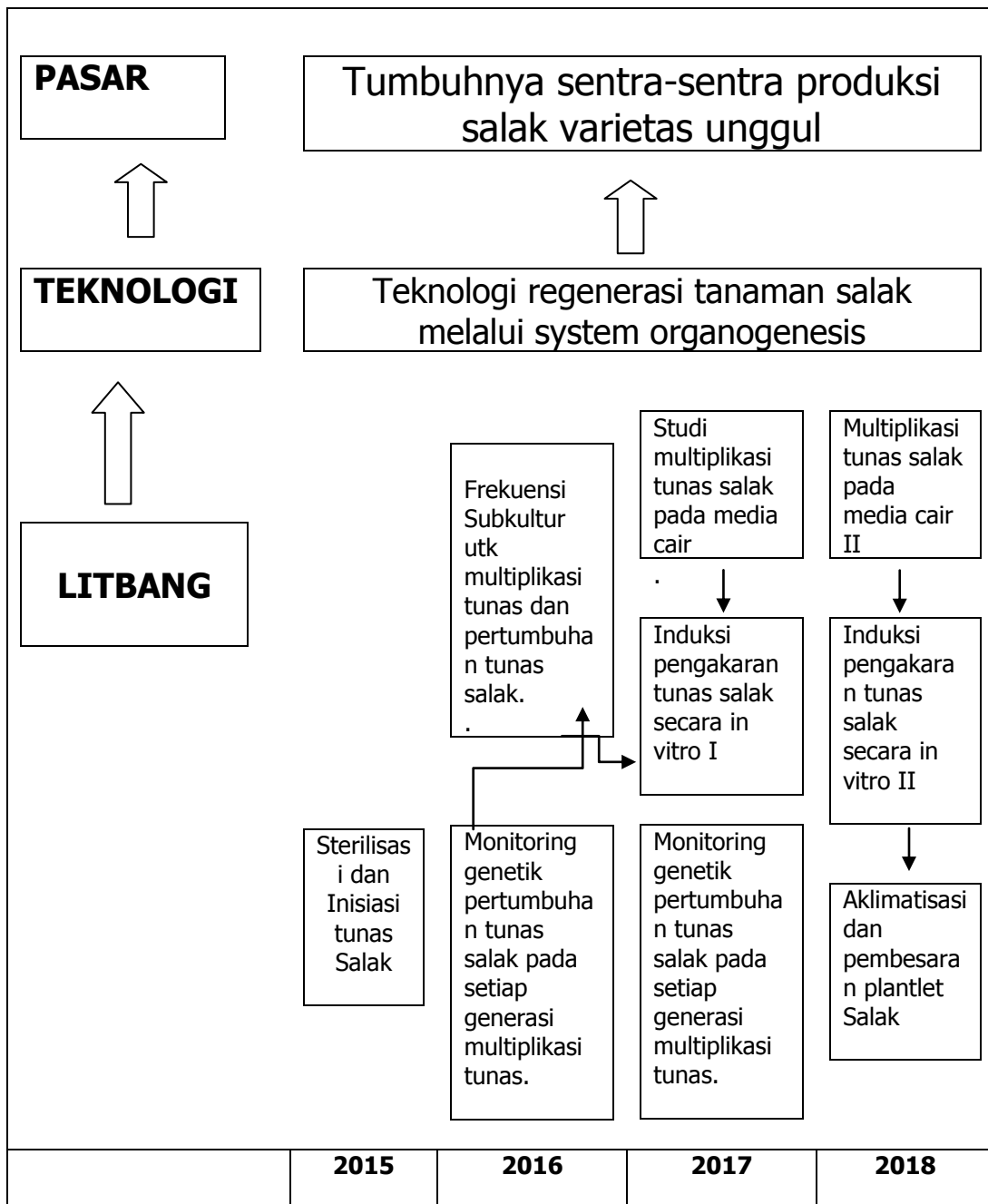
DAFTAR PUSTAKA

- Alkhateeb A.A. 2006. Somatic Embryogenesis in Date plant (*Phoenix dactylifera* L.) cv Sukary in Respon to Sucrose and Polyethylene Glycol. *Biotechnology*. 5(4) : 446 - 470.
- Chavan-Patil V.B., Arekar C.D., Gaikwad D.K. 2010. Field performance of *in vitro* propagated banana plants from 8th and 15th subculture. *Int J Adv Biotechnol Res*. 1(2): 96-10
- Das BK, Jena RC, Samal KC. 2009. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of banana/plantain (*Musa* spp.). *Int J Agricul Sci* 1(2):21-25.
- Davies, P.J. 1995. The plant hormone their nature, occurence and function. *In* Davies (ed.) Plant Hormone and Their Role in Plant Growth Development. Dordrecht Martinus Nijhoff Publisher.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.
- Eeuwens, C.J., 1976. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured in vitro. *Physiol. Plant*. 36: 23-28
- Flick, C.E., D.A. Evans, and W.R. Sharp. 1993. Organogenesis. *In* D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amirato, and T. Yamada (eds.) Handbook of Plant Cell Culture Collier Macmillan. Publisher London. p. 13-81.
- Gamborg OG, Shyluk JP. 1981. Nutrition media and characteristic of plant cell and tissue culture. p. 21-44 in Thorpe, T.A (Ed). Plant tissue culture: Method and application in agriculture. Academic press. New York.
- Jaccard P., 1980. Nouvelles researchers sur la distribution florale. Société Vaudoise des Sciences Naturelles 44, 22_270
- Kasi PD, Sumaryono. 2008. Perkembangan kalus embriogenik sagu (*Metraxylon sagu* Rottb) pada tiga sistem kultur *in vitro*. Menara perkebunan. 76(1), 1-10.
- Lakshmanan, V., SR. Venkataramareddy, B. Neelwarne. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol.10 No.1. 8 pp.
- Lee, S-W. 2005. Thidiazuron in the Improvement of Banana Micropropagation. *Acta Hort* 692: 67-74.
- Lloyd, McCown, 1981. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *Int. Plant Prop. Soc. Proc.* **30** 421-427

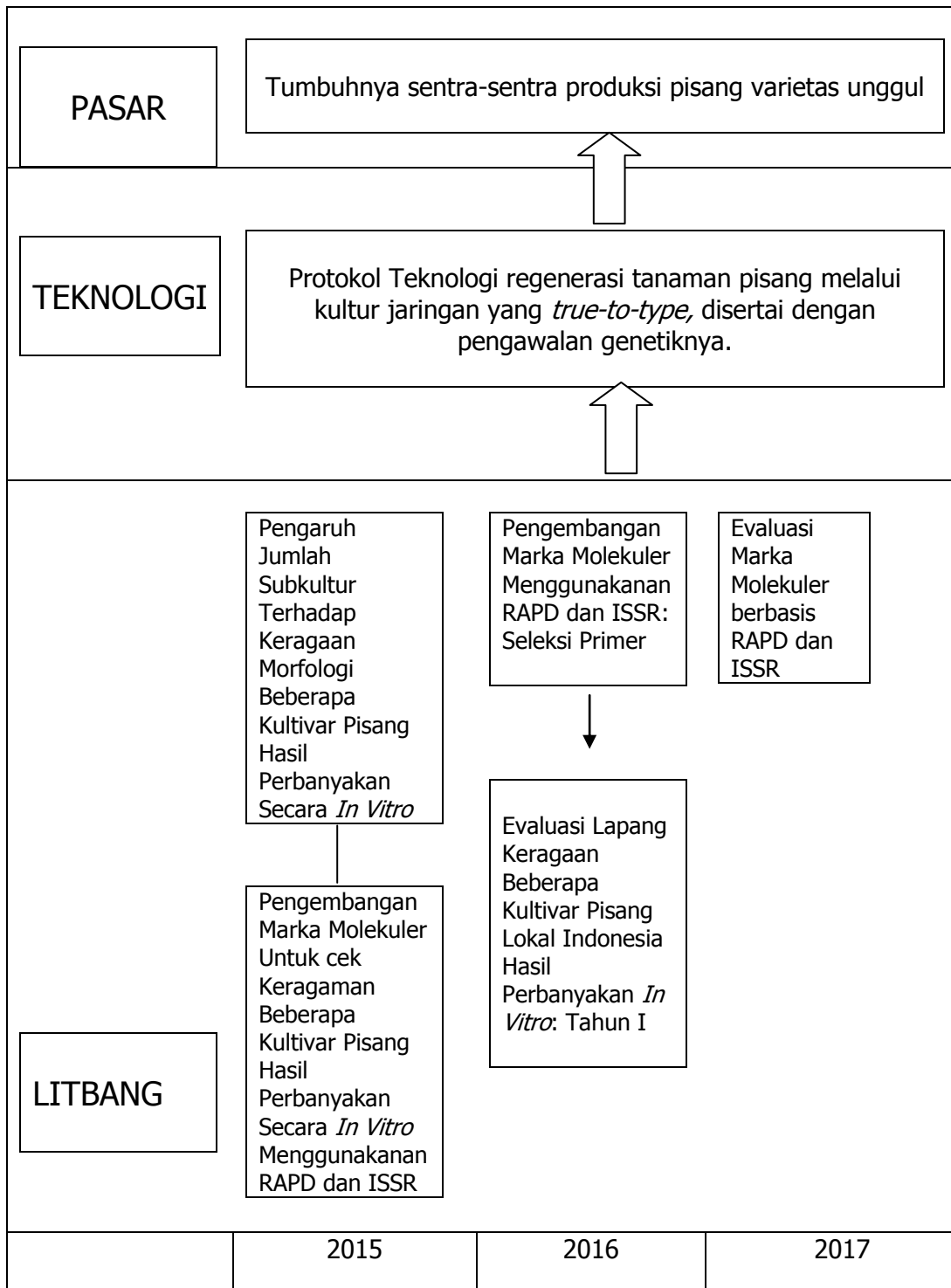
- Lu, Y., X. Zhang, J. Pu, Y. Qi, Y. Xie, 2011. Molecular assessment of genetic identity and genetic stability in banana cultivars (*Musa* spp.) from China using ISSR markers. *AJCS* 5(1):25-31.
- Meldia, Y., Sunyoto, A. Sutanto. 1999. Pengaruh macam sumber karbon dan kandungan hara makro terhadap penyimpanan plasma nutfah pisang, *Jurnal Stigma*. 7(1):32-36.
- Murashige and Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. **15** 473-497
- Oktavia F, Siswanto, Budiani A, dan Sudarsono. 2003. Embriogenesis somatik langsung dan regenerasi plantlet kopi arabika (*Coffea arabica*) dari berbagai eksplan. *Menara perkebunan*. 71 (2): 44 – 55.
- Priyono. 2004. Kultur in vitro daun kopi untuk mengetahui kemampuan embriogenesis somatik beberapa spesies kopi. *Pelita Perkebunan* 20(3): 110-122.
- Reuveni O & Israeli Y. 1990. Measures to reduce somaclonal variation in *in vitro* propagated banana. *Acta Hortic*. 275: 307-313.
- Riyad I, Tahardi JS, dan Sumaryono. 2005. Perkembangan embrio somatik tanaman sagu (*Metroxylon sagu Rottb.*) pada medium padat. *Menara Perkebunan*. 73 (2) : 35 – 43.
- Riyadi I, Tirtoboma. 2004. Pengaruh 2,4-D terhadap induksi embrio somatik kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah* 10 (2): 82-89.
- Rohl F.J. 1998. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. Applied Biostatics, New York
- Saptowo, J.P., I.Mariska, E.G.Lestari, Slamet.2004. Regenerasi tanaman dan transformasi genetic salak pondoh untuk rekayasa buah partenokarpi. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, Vol/ 9, No.2, pp 49-55.
- Sheidai, M., H. Aminpoor, Z. Noormohammadi, F. Farahani. 2008. RAPD analysis of somaclonal variation in banana (*Musa acuminata* L.) cultivar Valery. *Acta Biologica Szegediensis*. 52(2):307-311.
- Sheidai, M., H. Aminpoor, Z. Noormohammadi, F. Farahani. 2010. Genetic variation induced by tissue culture in Banana (*Musa acuminata* L.) cultivar Cavandish Dwarf. *Geneconserve* vol.9:1-10
- Sumaryono, Riyadi I, Kasi PD, dan Ginting G. 2007. Pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik dan embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada sistem perendaman sesaat. *Menara Perkebunan*. 75 (1): 32 – 42.
- Sutanto, A., S. Purnomo, Sunyoto, I. Fitrianiingsih dan Safril, 2003a. Perbanyakkan Populasi Pemuliaan Tanaman Pisang Melalui Induksi Organogenesis Tunas Adventif Dari Potongan Bonggol *In Vitro*. Laporan Penelitian Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok. 7 hal.

- Sutanto, A., S. Purnomo, Sunyoto, I. Fitrianiingsih dan Safril, 2003b. Perbanyakan *In Vitro* Pisang Melalui Induksi Organogenesis *Floral Axis* Bunga Pisang. Laporan Penelitian Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok. 6 hal.
- Tang C-Y, 2005. Somaclonal Variation: a Tool for the Improvement of Cavendish Banana Cultivars . *Acta Hort* 692: 67-74
- Thengane SR, Deodhar SR, Bhosle SV, and Rawal SK. 2006. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration in *Garcinia indica* Choiss. Current science. 91 (8): 1074-1078.
- Thorpe, T.A. 1987. Micropropagation of softwood and hard woods. Proceeding of the Seminar on Tissue Culture of Forest Species. Kualalumpur, 15-18 Juni.
- Triatminingsih R, Joni YZ, dan Y.Irawati. 2013. Induksi dan multiplikasi tunas salak secara kultur *in vitro*. Hasil penelitian 2011, Naskah ke Jurnal Horti. 11 halaman.
- Triatminingsih R, Joni YZ, Oktriana L, dan Edison HS. 2010. Media Inisiasi dan proliferasi kalus salak secara kultur *in vitro*. Laporan Hasil Penelitian Kerjasama RIT.(belum dipublikasi). 16 halaman.
- Vuylsteke D. Ortiz R, 1996. Field performance of conventional vs. *In vitro* propagules of plantain (*Musa spp.*, AAB group). *Hortscience* 31: 862-865
- Xiangyang L., Z. Bingshan, L. Rongsheng, Y. Guangtian, Q. Zhenfei, L. Ying. 2011. Study on the Tissue Culture of *Salacca zalacca*. Chinese Agricultural Science Bulletin. 27(28):245-248
- Yusnida. B., W. Syafii, dan Sutrisna. 2006. Pengaruh pemberian Giberelin (GA3) dan air kelapa terhadap perkecambahan bahan biji anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *in vitro*. Jurnal Biogenesis 2 (2): 41-46
- Zulkepli AZ, H. Jaafar, AHA Rusni. 2011. Optimization of Sterilization Method and Callus Induction of *Salacca glabrescens*. *International Conference on Biology, Environment and Chemistry*. IPCBEE vol. 24 IACSIT Press, Singapore.

Lampiran Roadmap Teknologi regenerasi tanaman salak melalui system organogenesis.



Lampiran Roadmap Teknologi regenerasi tanaman pisang melalui kultur jaringan yang *true-to-type*



ROAD MAP

Judul	Tahun	Peneliti/Institusi	Hasil Penting/Keluaran yang Diharapkan
Sterilisasi dan Inisiasi tunas Salak	2015	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu	Komposisi yang cocok untuk Inisiasi tunas
Pengaruh Jumlah Subkultur Terhadap Keragaan Morfologi Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara <i>In Vitro</i>	2015	Agus Sutanto, Riri Prihartini, Yulia Irawati	Informasi jumlah subkultur yang dapat menyebabkan <i>off-type</i> secara morfologis pada awal pertumbuhan <i>in vivo</i> untuk setiap kultivar
Pengembangan Marka Molekuler Untuk Keragaman Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara <i>In Vitro</i> Menggunakan RAPD dan ISSR	2015	Agus Sutanto, Riri Prihartini, Yulia Irawati	Kondisi optimal untuk Primer RADP dan ISSR secara efektif mengamplifikasi PCR DNA genom pisang hasil perbanyak <i>in vitro</i>
Penetapan Frekuensi Subkultur yang maksimal utk multiplikasi tunas dan pertumbuhan tunas salak..	2016	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu	Protokol frekuensi subkultur untuk memperoleh tunas salak yang maksimal dan <i>true-to-type</i>
Monitoring genetik pertumbuhan tunas salak pada setiap generasi multiplikasi tunas.	2016	Rahayu T/Balitbu Saptowo/BBBiogen Yulia I./Balitbu	Metode pengawal genetik salak <i>true-to-type</i> .
Evaluasi Lapang Keragaan Beberapa Kultivar Pisang Lokal Indonesia Hasil Perbanyak <i>In Vitro</i> : Tahun I	2016	Riri Prihartini, Edison HS., Agus Sutanto, Yulia Irawati	Informasi jumlah subkultur yang dapat menyebabkan <i>off-type</i> pertumbuhan vegetatif & generatif untuk setiap kultivar
Pengembangan Marka Molekuler Untuk Keragaman Beberapa Kultivar Pisang Lokal Hasil Perbanyak Secara <i>In Vitro</i> Menggunakan RAPD dan ISSR: Seleksi Primer	2016	Agus Sutanto, Riri Prihartini, Edison HS., Yulia Irawati	Primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini tanaman hasil perbanyak <i>in vitro</i> akibat perbedaan frekuensi subkultur

Induksi pengakaran tunas salak secara <i>in vitro</i>	2017	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu	Protokol teknik pengakaran salak secara <i>in vitro</i>
Studi multiplikasi tunas salak pada media cair.	2017	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu	Protokol teknik multiplikasi dalam media cair.
Evaluasi Marka Molekuler berbasis RAPD dan ISSR untuk Keragaman Tanaman Pisang Hasil Perbanyakan <i>In Vitro</i>	2017	Agus Sutanto, Riri Prihartini, Edison HS., Yulia Irawati	Marka RAPD dan ISSR untuk medeteksi <i>off-type</i> pada tanaman hasil perbanyakan <i>in vitro</i>
Studi multiplikasi melalui teknik perendaman sesaat.	2018	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu PM/Puslit Biotek	Protokol teknik multiplikasi yang efisien.
Teknik Aklimatisasi dan pembesaran plantlet Salak	2018	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu	Protokol Aklimatisasi untuk mendapatkan pertumbuhan plantlet yang optimal
Validasi teknik perbanyakan salak melalui system organogenesis.	2019	Rahayu T/Balitbu Andre S/Balitbu Yosi ZJ/Balitbu PM/Puslit Biotek	Protokol teknik perbanyakan salak secara organogenesis.

LAMPIRAN

Struktur Kerangka Kerja Logis (Logical Framework) dalam Perencanaan Program Penelitian

Logika intervensi	Tolok Ukur kegiatan	Alat verifikasi	Asumsi
<p><u>Tujuan akhir (Goal):</u> Teknik regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk <i>true-to-type</i> pisang hasil perbanyakkan kultur jaringan</p>	<p>- Satu protokol teknik inisiasi dan multiplikasi tunas salak secara in vitro. - Satu protokol subkultur yang menghasilkan pisang yang seragam</p>	<p>1) Laporan PUSLITBANG HORTI 2) Karya Ilmiah</p>	
<p><u>Manfaat (Outcome):</u> Petani dan pengusaha tanaman salak dan pisang dapat dengan mudah mendapatkan/ menanam bibit salak dan pisang unggul.</p>	<p>Tanaman Salak dan pisang unggul dapat berkembang dengan cepat</p>	<p>Laporan Dinas Pertanian tanaman Hortikultura setempat</p>	<p>Petani/pengusaha menanam salak dan pisang hasil perbanyakkan massal. Pemulia, perekayasa genetik tanaman.</p>
<p><u>Luaran (Output)</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Satu komposisi media inisiasi dan multiplikasi tunas salak. 4. 400 plantlet pisang (dari 4 kultivar) hasil perbanyakkan kultur jaringan. 5. Keragaan morfologis dan molekuler 4 kultivar pisang hasil kultur jaringan. 	<p>Tersedianya :</p> <ol style="list-style-type: none"> a. 50 botol eksplan salak pada media multiplikasi b. 200 plantlet pisang dari 4 kultivar. 	<p>1) Laporan Tahunan Hasil Penelitian Balitbu Tropika. 2) Produk bibit Pisang unggul</p>	<p>Dana penelitian tersedia dan pengadaan bahan eksplan, bahan kimia dll tepat pada waktunya. Dana penelitian tersedia terus menerus dalam kurun waktu yang telah ditentukan</p>
<p><u>Kegiatan (Activity) :</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Inisiasi dan multiplikasi tunas Salak secara in vitro. 2. Pengaruh jumlah subkultur secara in vitro terhadap keragaan morfologi plantlet pisang. 3. Analisis morfologi dan molekuler empat kultivar pisang hasil kultur jaringan. 	<p><u>Masukan yang diperlukan:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> -SDM 1159 OH -Tunas, anakan -Bahan Kimia, pupuk -Sarana pendukung (Laboratorium, rak, Screen House, transportasi, listrik, air, mikroskop dll). -Dana penelitian yang lancar 	<p><u>Keterangan:</u></p> <p>1 OH= Rp.50.000,-</p>	<p>Bahan-bahan mudah didapat dan tersedia</p> <p>Tidak ada gangguan teknis (Listrik & Air)</p> <p>SDM peneliti yang sesuai dengan bidangnya dan fokus dengan penelitiannya</p>