

RENCANA PENELITIAN TIM PENELITI

**TEKNOLOGI PERBANYAKAN SALAK DAN
PISANG SECARA *IN VITRO***



Ir. Rahayu Triatminingsih

BALAI PENELITIAN TANAMAN BUAH TROPIKA

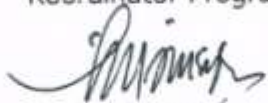
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN HORTIKULTURA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

2016

LEMBAR PENGESAHAN

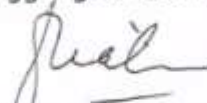
1. Judul RPTP : **Teknologi Perbanyakkan Salak dan Pisang Secara *In Vitro*.**
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
3. Alamat Unit Kerja : Jl. Raya Solok-Aripan km 08, Solok 27301, Sumatera Barat. Indonesia
4. Sumber dana : DIPA Tahun 2016
5. Status penelitian (L/B) : Lanjutan
6. Penanggungjawab Kegiatan :
 - a. Nama : Ir. Rahayu Triatminingsih
 - b. Pangkat/Golongan : Pembina Utama Muda /IVc
 - c. Jabatan : Peneliti Madya
7. Lokasi Penelitian : Sumatera Barat, Kep. Riau dan Jawa Barat.
8. Agroekosistem : Dataran Rendah – medium
9. Tahun Mulai : 2015
10. Tahun Selesai : 2019
11. Output Tahun 2016 :
 1. Satu komposisi media induksi tunas salak secara *in vitro*.
 2. Satu set Informasi awal keragaman morfologis dan primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini 3 kultivar pisang hasil subkultur.
 3. Satu blok kebun pisang hasil perbanyakkan *in vitro* dari empat perlakuan subkultur.
 4. Dua draf naskah karya tulis ilmiah
12. Output Akhir : Teknik regenerasi tanaman salak dan pisang hasil perbanyakkan kultur jaringan yang *true-to-type*
13. Biaya : Rp. 125.000.000,-

Koordinator Program,



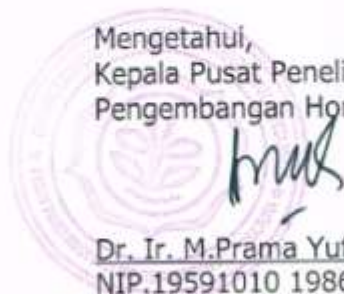
Dr. Ir. Ellina Mansyah, MP
NIP. 19630423 199103 2 001

Penanggung Jawab RPTP,



Ir. Rahayu Triatminingsih
NIP. 19560626 198903 2 001

Mengetahui,
Kepala Pusat Penelitian dan
Pengembangan Hortikultura,



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

Kepala Balai Penelitian
Tanaman Buah Tropika



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

RINGKASAN

1. Judul RPTP : Teknologi Perbanyakkan Salak dan Pisang Yang Secara *In Vitro*
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok
3. Lokasi : Sumatera Barat, Kep. Riau dan Jawa.
4. Agroekosistem : Dataran rendah – medium
5. Status
 - a. Baru :
 - b. Lanjutan (Tahun) : Lanjutan
6. Tujuan
 - a. Jangka Pendek (2016) :
 - 1) Memperoleh satu komposisi media induksi tunas tunas salak.
 - 2) Memperoleh satu set informasi awal keragaman morfologis dan primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini 3 kultivar pisang hasil subkultur.
 - 3) Membentuk satu blok kebun pisang hasil perbanyakkan *in vitro* dari empat perlakuan subkultur.
 - 4) Menyusun dua draf naskah karya tulis ilmiah.
 - b. Jangka panjang : Memperoleh teknik regenerasi tanaman salak dan pisang melalui kultur jaringan yang *true-to-type*
7. Luaran yang diharapkan
 - a. Jangka pendek (2016) :
 - 1) Satu komposisi media induksi tunas salak.
 - 2) Satu set informasi awal keragaman morfologis dan primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini 3 kultivar pisang hasil subkultur.
 - 3) Satu blok kebun pisang hasil perbanyakkan *in vitro* dari empat perlakuan subkultur.
 - 4) Dua draf naskah karya tulis ilmiah
 - b. Jangka panjang :
 - 1) Teknologi regenerasi tanaman salak dan pisang melalui kultur jaringan yang *true-to-type*.
 - 2) Dua karya tulis ilmiah dalam bentuk Jurnal.
8. Hasil yang diharapkan : Tersedianya teknologi regenerasi tanaman salak dan pisang melalui kultur jaringan yang *true-to-type* dan peningkatan kualitas benih pisang hasil kultur jaringan dari segi kemurnian kultivar
- 8a. Manfaat : Perbaikan teknologi pembibitan yang lebih efisien terutama untuk bibit salak dan pisang yang bermutu
- 8b. Dampak : Tumbuhnya sentra-sentra produksi salak dan pisang varietas unggul di seluruh wilayah Indonesia

11. Diskripsi metodologi : **1. Teknik induksi tunas salak secara in vitro.**

Penelitian Induksi tunas anakan Salak, menggunakan prosedur sebagai berikut:

Setelah eksplan tunas anakan disterilisasi, kemudian diperkecil hingga ukuran 2x2 cm dan selanjutnya ditanam di media induksi tunas dengan perlakuan

- 1) 4 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 2) 4 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 3) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 4) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 5) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 6) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 7) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 8) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa
- 9) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 10) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa
- 11) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 12) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa

Eksplan tunas disubkultur ke media yang sama sebanyak 3 kali, setiap 8 minggu sekali. Setiap unit perlakuan terdiri dari 5 botol, setiap botol terdiri dari satu eksplan. Pengamatan meliputi saat eksplan merekah, bertunas, berkalus, jumlah eksplan bertunas, berkalus, jumlah tunas per eksplan.

2. Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara *In Vitro*.

a. Melanjutkan perlakuan subkultur dan aklimatisasi beberapa kultivar pisang komersial.

Melanjutkan perbanyak kultur *in vitro* 2 kultivar yang belum terpenuhi di tahun 2015, yaitu Barangan dan Ketan.

b. Evaluasi Keragaan Morfologis Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara *In Vitro*

Plantlet hasil perbanyak kultur jaringan diaklimatisasi dan dirawat hingga siap ditanam di Kebun Percobaan.

Bibit ditanam di lapang dengan jarak tanam 3 X 3 m dan ukuran lubang tanam adalah 40X40X40 cm. Perawatan tanaman berupa pemupukan, penyiangan dan pengairan dilakukan secara optimal.

C. Evaluasi keragaman molekuler beberapa kultivar pisang hasil perbanyakan secara *kultur jaringan* menggunakan marka RAPD

Pengamatan penelitian dilakukan di Laboratorium Uji Mutu, Balitbu Tropika. Penelitian menggunakan DNA genom dari 3 kultivar hasil perbanyakan *in vitro* dengan berbagai frekuensi subkultur yang di PCR menggunakan primer RAPD terpilih. DNA genom diekstrak dari daun tanaman muda sebelum ditanam di lapang dan menjelang fase generatif.

12. Jangka Waktu : Tahun ke II (5 Tahun).

13. Biaya : Rp. 125.000.000

SUMMARY

1. Title : Propagation Technology of Snakefruit and Banana Through *In Vitro* Culture.
2. Implementation Unit : Indonesian Tropical Fruit Research Institute
3. Location : West Sumatea, Kep. Riau and West Java.
4. Agroecological Zone : Low – medium land
5. Status
- a. New :
 - b. Continue (Year) : Continue (2016)
6. Objectives
- a. Short term (2016) :
 1. To obtain the media compotition for shoot induction of Snakefruit
 2. To obtain the early information of morphological diversity and primer selected to early determine of the 3 banana cultivars subculture results.
 3. To establish a block of banana field containing tissue cultured derived plants resulted from four in vitro subculture frequency treatments.
 4. To generate two scientific manuscripts
 - b. End of the project : To find out the regeneration technology for snakefruit through organogenesis and to devepole molecular markers for genetic fidelity assessment of tissue culture planting materials
7. Expected output
- a. Short term (2016) :
 1. Medium compotition for in vitro shoot induction of snakefruit
 2. A data set of the early information of morphological variation and selected primer to detect the variation at early stage of the three banana cultivars resulted from several *in vitro* subcultures.
 3. A block of banana field containing tissue cultured derived plants resulted from four *in vitro* subculture frequency treatments
 4. Two a scientific manuscripts
 - b. End of the project :
 1. The regeneration technology for snakefruit through organogenesis and to develop molecular markers for genetic fidelity assessment of tissue culture planting

- materials.
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 tissue cultured 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 superior cultivars of snakefruit and banana production centers in Indonesia
11. Methodology : 1. **Tissue Culture Propagation of Snakefruit : Shoot Induction technique.**

Shoot explants originated from suckers are surface sterilized and removed the leaf sheaths until 2 cm in size prior to culture into modified MS medium added by the combination of plant growth regulator below:

- 1) 4 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 2) 4 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 3) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 4) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 5) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 6) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 7) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 8) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa
- 9) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 10) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa
- 11) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Pic + 100 ml air kelapa
- 12) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Pic + 200 ml air kelapa

The explants are subcultured onto the same medium every 8 weeks. Each treatment contains 5 bottles, each bottle consists of one explant. The time of cracked, sprouted, callused, the number of explants sprouted and callused explants, and number of shoots per explants will be observed.

2. The Evaluation of Morphological and Molecular Performance of Three Banana Cultivars Resulted from *In Vitro* Subculture Frequency Treatments

A. Continuing the research of subculture frequency)

The research have been being carried out at plant tissue culture laboratory of Indonesian Tropical Fruit Research InstituteThe Banana cultivars are: 1. Ambon Hijau, 2. Barangan, 3. Ketan. The subculture frequencies, there are: a. Six times, b. Seven times, c. Eight times, d. ten times.

B. The evaluation of morphological performance of three banana cultivars resulted from *in vitro* subculture

Tissue cultured plantlets are acclimatized and maintained until ready for planting to the field of Aripan experimental field. Plantlets which 30-40 cm in size are planted into the planting hole (40X40X40 cm) and the distance 3X3 m. All the plants are optimally maintained such as fertilization, irrigation, weeding and desuckering.

C. The evaluation of molecular variation of three banana cultivars resulted from *in vitro* subculture using RAPD marker

The research will be carried out at Quality Assessment laboratory of Indonesian Tropical Fruit Research Institute. This research will use genomic DNA of 3 banana cultivars obtained from several treatments subculture frequencies (activity 2), PCR amplified using RAPD primers. Genomic DNA will be extracted from young leaves of plantlets prior to field planting, and before enter to the generative stage.

12. Duration : 5 years
13. Budget (2015) : Rp. 125.000.000

I. PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

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. Sistem regenerasi tanaman melalui teknik kultur jaringan dapat dilakukan melalui sistem Embriogenesis Somatik atau melalui sistem Organogenesis. Organogenesis merupakan suatu proses yang diawali oleh hormon pertumbuhan untuk menginduksi pembentukan sel, jaringan atau kalus menjadi tunas dan tanaman sempurna (Kartha 1991). Teknik organogenesis dapat memproduksi benih dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif cepat dan tidak merusak pohon induk.

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 anaknya. dalam satu tahun hanya tumbuh 5 tunas. 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.

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.

Perbanyak pisang secara organogenesis merupakan solusi terbaik dalam rangka penyediaan bahan tanam pisang yang bermutu secara komersial. Namun demikian, sistem perbanyak ini menghadapi masalah yaitu munculnya variasi somaklonal pada tanaman hasil perbanyak secara kultur jaringan. Dalam beberapa publikasi menyebutkan bahwa keseragaman tanaman hasil

perbanyak 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 perbanyak 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 %.

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

1.2. DASAR PERTIMBANGAN

Pada umumnya perbanyak salak dilakukan menggunakan biji dan tunas anakan. Perbanyak salak melalui biji tidak disarankan karena akan menghasilkan tanaman yang sifatnya berbeda dengan induknya. Perbanyak tanaman VUB secara vegetatif yang berasal dari hasil silangan, sering terkendala pada keterbatasan PIT, sehingga jumlah anakan yang dihasilkan juga terbatas. Sistem perbanyak melalui kultur jaringan merupakan alternatif perbanyak yang dapat dilakukan untuk memperbanyak kultivar unggul baru tanaman salak. Sampai sejauh ini penggunaan tunas anakan sebagai sumber eksplan belum pernah dilakukan, informasi yang tersedia untuk perbanyak tanaman salak secara *in vitro* masih menggunakan embrio zigotik sebagai sumber eksplan. Kesulitan yang sering ditemui pada kultur *in vitro* tunas anakan di tahap awal adalah adanya kontaminasi, browning, frekuensi bertunas rendah. Tahap awal adalah tahap inisiasi untuk mendapatkan kultur yang mantap, segar dan tidak terkontaminasi mikroorganisme. Tahap selanjutnya adalah inisiasi tunas, kemudian multiplikasi tunas. Kondisi lingkungan sumber eksplan berpengaruh terhadap keberhasilan penerapan teknik kultur jaringan. Disamping itu, umur jaringan eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan regenerasi tunas melalui kultur jaringan salak. 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. 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 :

- 1) Memperoleh satu komposisi media induksi tunas salak secara *in vitro*.
- 2) Memperoleh satu set informasi awal keragaman morfologis dan primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini 3 kultivar pisang hasil subkultur.
- 3) Membentuk satu blok kebun pisang hasil perbanyakan *in vitro* dari empat perlakuan subkultur.

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:

- 1) Satu komposisi media induksi tunas salak secara *in vitro*.
- 2) Satu set data informasi awal keragaman morfologis dan primer terseleksi untuk mengetahui keragaman sejak dini 3 kultivar pisang hasil subkultur.

- 3) Satu blok kebun pisang hasil perbanyakan *in vitro* dari empat perlakuan subkultur.
- 4) dua draf karya tulis ilmiah.

Keluaran Jangka Panjang

- Teknologi regenerasi tanaman salak melalui organogenesis dan marka molekuler untuk *true-to-type* pisang hasil perbanyakan melalui 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 (Euewens 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 melalui kultur jaringan, 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 perbanyakan 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

Perbanyakan tanaman salak sudah pernah dilakukan baik di dalam negeri maupun di luar negeri meskipun masih belum banyak informasi yang tersedia. Di dalam negeri, perbanyakan 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 menggunakan 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.

Perbanyakan *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-analisis 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. Teknik Induksi tunas salak secara *in vitro*.

3.1.1 Pendekatan

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.

Eksplan yang digunakan adalah tunas anakan. Tahapan berikutnya setelah diperoleh eksplan yang vigor, bebas kontaminan dan masih segar (*Establishment Stage*) kemudian masuk ketahap induksi tunas, dan multiplikasi tunas. Masing-masing tahapan tersebut memerlukan media yang berbeda atau sama.

3.1.2. Ruang lingkup kegiatan

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika mulai bulan Januari sampai Desember 2016. 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. Induksi tunas anak.
- 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, 2-iP, 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 2016. 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 perlakuan.

Sterilisasi eksplan tunas anakan Salak, menggunakan prosedur yaitu:

Alkohol 70%, selama 30 detik –air mengalir, selama 15 menit, Fungisida dan bakterisida 20 menit, NaClO 5,25 % selama 20 menit, HgCl 0,05% selama 5 menit, bilas dengan aquades steril tiga kali, kemudian dikulturkan pada beberapa komposisi media Induksi.

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 g l^{-1} , gelrite 2 g l^{-1} . dan diperkaya dengan ZPT dengan diperlakukan sebagai berikut:

Pelaksanaan penelitian Induksi tunas anakan Salak, menggunakan prosedur sebagai berikut:

Setelah eksplan tunas anakan disterilisasi, kemudian diperkecil hingga ukuran 2x2 cm dan selanjutnya ditanam di media induksi tunas dengan perlakuan sbb:

- 1) 4 mg l^{-1} 2iP+0,25 mg l^{-1} NAA
- 2) 4 mg l^{-1} 2iP+0,5 mg l^{-1} NAA

- 3) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 4) 8 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 5) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,25 mg^l⁻¹ NAA
- 6) 12 mg^l⁻¹ 2iP+0,5 mg^l⁻¹ NAA
- 7) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Picloram + 100 ml air kelapa
- 8) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.05 mg^l⁻¹ Picloram + 200 ml air kelapa
- 9) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Picloram + 100 ml air kelapa
- 10) 5 mg^l⁻¹ BAP +0.1 mg^l⁻¹ Picloram + 200 ml air kelapa
- 11) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Picloram + 100 ml air kelapa
- 12) 5 mg^l⁻¹ BAP +0 mg^l⁻¹ Picloram + 200 ml air kelapa

Tunas yang tumbuh disubkultur ke media yang sama sebanyak 3 kali, setiap 8 minggu sekali. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Jumlah perlakuan 12 ,ulangan sebanyak tiga. Setiap unit perlakuan terdiri dari 5 botol, setiap botol terdiri dari satu eksplan.

Pengamatan meliputi saat eksplan merekah, bertunas, berkalus, jumlah eksplan. Kultur di inkubasi di ruangan tanpa cahaya, yang bersuhu 25° C ± 1 °C.

Pengamatan meliputi saat eksplan merekah, bertunas, berkalus, jumlah eksplan yang bertunas, jumlah tunas per eksplan.

3.2 Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara *In Vitro*

3.2.1. Pendekatan

Pendekatan yang digunakan adalah percobaan dengan menggunakan tiga kultivar lokal dan komersial yang diperbanyak secara *in vitro* dengan berbagai frekuensi subkultur. Tanaman hasil perbanyakan masing-masing kultivar dan masing-masing perlakuan subkultur dievaluasi di lapangan dan dilaboratorium menggunakan marka RAPD berbasis PCR.

3.2.2. Ruang Lingkup

Pelaksanaan kegiatan meliputi : persiapan (matrik, juknis, pengadaan bahan dan alat), pembuatan media kultur, persiapan eksplan, persiapan larutan

buffer, inisiasi eksplan, multiplikasi tunas, isolasi DNA, PCR, Elektroforesis pengakaran tunas, aklimatisasi dan analisa data.

3.2.3. Bahan dan Metode Pelaksanaan Kegiatan

Bahan dan Alat.

Bahan yang digunakan adalah: beberapa varietas pisang komersial, bahan kimia untuk pembuatan media, ZPT (IAA, BAP). Bahan yang digunakan untuk analisa molekuler adalah: 3 kultivar pisang lokal/komersial, 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.

Tempat dan Waktu

Kegiatan akan dilaksanakan mulai Januari sampai Desember 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan Sumani dan Aripan, dan lab Uji Mutu

METODOLOGI PELAKSANAAN

a. Melanjutkan perlakuan subkultur dan aklimatisasi beberapa kultivar pisang komersial.

Biakan pisang kultur jaringan pisang Barangan dan Ketan yang ada di laboratorium terus diperbanyak sampai terpenuhi subkultur keempat, keenam, kedelapan dan kesepuluh. Benih kultur jaringan untuk pisang Ambon Hijau sudah terpenuhi untuk keempat subkultur tersebut.

b. Evaluasi Keragaan Morfologis Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perbanyak Secara *In Vitro*

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial dengan 2 faktor dan 4 ulangan. Setiap unit percobaan berisi 5 tanaman.

Faktor I adalah : Kultivar pisang yang digunakan yaitu :

1. Ambon Hijau (AAA), 2. Barangan (AAA), 3. Ketan (AA)

Faktor II adalah asal tanaman hasil subkultur:

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

Planlet hasil aklimatisasi, kemudian ditransplan ke polibag yang lebih besar dan dirawat hingga siap ditanam di lapang (berumur 2 bulan setelah aklimatisasi). Sebelum dilakukan penanaman di lapang, setiap tanaman diambil daun mudanya untuk diekstrak DNA genom.

Tanaman ditanam di lapang dengan jarak tanam 3 X 3 m dan ukuran lubang tanam adalah 40X40X40 cm. Perawatan tanaman berupa pemupukan, penyiangan dan pengairan dilakukan secara optimal.

Peubah yang diamati adalah: karakter morfologis vegetatif dan generatif yang merujuk pada buku diskriptor untuk pisang (IPGRI, 1984).

c. Observasi Keragaman Molekuler Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perbanyakan Secara *In Vitro* Menggunakan RAPD dan ISSR.

Sampel daun dari 3 kultivar lokal diisolasi DNANYa pada saat setelah aklimatisasi dan pada saat tanaman memasuki fase generatif (sampel daun anaknya), menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987) dan dimodifikasi oleh Das *et al.* (2009). Primer yang digunakan adalah 20 primer RAPD (Tabel 1) dan 5 primer ISSR (Tabel 2). 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 Mastercycler Nexus (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 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.

Pengamatan keragaman antar sampel yang berasal dari individu berbeda dengan cara membandingkan polimorfisme pita DNA dari elektroferogram.

Tabel 1. Primer RAPD yang digunakan dalam penelitian ini

No	Primer	Sequence	No	Primer	Sequence
1	opa04	AATCGGGCTG	11	opc07	GTCCCGACGA
2	opa11	CAATCGCCGT	12	opc08	TGGACCGGTG
3	opa14	CTCGTGCTGG	13	opd16	AGGGCGTAAG
4	opa19	CAAACGTCGG	14	opk01	TGCCGAGCTG
5	opa20	GTTGCGATCC	15	opk03	CCCTACCGAC
6	opb18	CCACAGCAGT	16	opm16	GTAACCAGCC
7	opc01	TTCGAGCCAG	17	opm20	AGGTCTTGGG
8	opc02	GTGAGGCGTC	18	opn03	GGTACTCCCC
9	opc04	CCGCATCTAC	19	opn09	TGCCGGCTTG
10	opc05	GATGACCGCC	20	Opn12	CACAGACACC

Tabel 2. Primer ISSR yang digunakan dalam penelitian ini

No	Primer	Sequence
1	UBC-811	(GA) ₈ C
2	UBC-817	(CA) ₈ A
3	UBC-820	(GT) ₈ T
4	UBC-826	(AC) ₈ C
5	UBC-834	(AG) ₈ YT

C. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati adalah: polimorfisme keragaan pita DNA hasil elektroforesis.

D. Analisis data

Analisis menggunakan sidik ragam (Anova). Untuk membedakan antar perlakuan dilakukan dengan uji Duncan 0,05%.

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.2016

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 2 002	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.	Imron Riyadi, MSi/ 700197201001	Anggota, PPBBI Bogor	Konsultan ROPP 1 dan ROPP 2	5
7.	Yulia Irawati, SP., MSi/ 19771231 200501 2 002	Anggota Pelaksana ROPP 2	Melaksanakan kegiatan ROPP 2	10
8.	Ida Fitriarningsih/ 19680102 199503 2 001	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
9.	Mihartati/ 19650727 200701 2 001	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
10.	Dwi Wahyuni Ardiana / 19760226	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
11.	Anang Wahyudi/ 19740209 200604 1 016	Teknisi Lapang	Membantu kegiatan di lapangan	10
12.	Syafriil AP	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	Teknik Induksi tunas Salak Secara <i>In Vitro</i>												
A.	Persiapan (10%):												
	Penyempurnaan RPTP, Juknis, RAB	X	X	X	X								
B.	Pelaksanaan (80%):												
	Pengadaan Bahan & Peralatan	X	X	X	X								
	Pembuatan media	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Sterilisasi, Kultur inisiasi tunas			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	5	5	10	10	5	5	10	10	5	10	10
	Persen Fisik Kumulatif =	15	20	25	35	45	50	55	65	75	80	90	100

2. Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Beberapa Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara *In Vitro*.

No	Kegiatan	Bulan Kegiatan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	Persiapan (ROPP, matrik, bahan)	X	X										
b	Subkultur lanjutan	X	X	X	X								
c	Aklimatisasi & perawatan	X	X	X	X	X	X						
d	Persiapan lahan, penanaman				X	X	X	X	X	X	X		
e	Isolasi DNA			X	X	X					X	X	X
f	PCR				X	X	X	X		X	X	X	X
g	Analisis data					X	X	X	X		X	X	X
h	Laporan sementara												X
	Persentase fisik	15	5	5	10	10	10	10	10	5	5	5	10
	Persentase Kumulatif	15	20	25	35	45	55	65	75	80	85	90	100

5.3. PEMBIAYAAN

A. Rekap Pembiayaan

No.	Kode Akun	Jenis Pengeluaran	Salak (Rupiah)	Pisang (Rupiah)	Jumlah
1	521211	Belanja Bahan	-	1.820.000	1.820.000
2.	521811	Belanja Barang persediaan	13.958.500	23.721.500	37.680.000
3.	521219	Belanja Brang non Operasional	30.850.000	27.650.000	58.500.000
4.	524111	Belanja Perjalanan Biasa.	19.035.000	7.965.000	27.000.000
		TOTAL=	63.843.500	61.156.500	125.000.000

Kode	Uraian Suboutput/Komponen Subkomponen/Akun/detail.	Volume	Satuan Ukur	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1	2	3	4	5	6
521211	BELANJA BAHAN				1,820,000
	Bahan				
1	Pupuk kandang	2	truk	700,000	1,400,000
2	Fotokopi	600	lbr	150	90,000
3	Jilid hardcover	4	expl	20,000	80,000
4	Tanah aripan	1	truk	250,000	250,000
521811	BELANJA BARANG UNTUK PERSEDIAAN BARANG KONSUMSI (521 011)				37,680,000
1	BAHAN KIMIA				15,149,000
1	Amonium Nitrat	0.5	kg	3,100,000	1,550,000
2	Alkohol 96% @ 1liter	30	liter	43,000	1,290,000
3	Aquabides steril Kimia Farma (500 ml/btl)	15	btl	20,000	300,000
4	Aquadest ex lokal	100	liter	6,000	600,000
5	Clorox (Bayclin)	30	liter	25,000	750,000
6	Gelrite	0.5	botol	3,050,000	1,525,000
7	Glutamin	1	botol	1,150,000	1,150,000

8	HgCl2	1	botol	800,000	800,000
9	Potassium Nitrate for analysis,btl@1000g	0.5	kg	740,000	370,000
10	Spiritus @ 1000 ml/btl Brataco	25	liter	39,000	975,000
11	Sukrosa @2500 gram	1	botol	1,150,000	1,150,000
12	Fungisida Folicur	4	ktk	50,000	200,000
13	Agrept	4	ktk	50,000	200,000
14	Agar powder Sriti	4	kg	150,000	600,000
15	Agarose Vivantis (100 g/btl)	1	btl	1,600,000	1,600,000
16	Boric acid Bioscience, 203667-500GMCN (500 g)	1	btl	1,500,000	1,500,000
17	Fungisida Dithane	2	ktk	119,500	239,000
18	insektisida dencis	4	btl	75,000	300,000
19	Gandasil- D 500 g	2	ktk	25,000	50,000
2	SAPRODI				5,235,500
1	Pupuk NPK PONSKA	2	zak	250,000	500,000
2	Round up	10	liter	75,000	750,000
3	Polybag uk. 35 x 25	15	kg	30,000	450,000
4	Tray plastik untuk aklimatisasi ukuran 50 X 37 tinggi 15cm	2	lusin	100,000	200,000
5	Fungisida Dithane	1	kg	130,000	130,000
6	Pupuk Urea non subsidi	2	zak	450,000	900,000
7	Pupuk SP36	3	zak	205,000	615,000
8	Pupuk KCl	3	Zak	451,000	1,353,000
9	Curacron 250 ml	2	btl	84,500	169,000
10	Curater / 2 kg	2	bks	42,000	84,000
11	Hand sprayer 2 liter	1	bh	84,500	84,500
3	ATK DAN KOMPUTER SUPPLIES				3,592,500
1	Catridge Canon CL 41	2	bh	275,000	550,000
2	Catridge Canon Colour CL-811	3	bh	275,000	825,000
3	Catrid Canon CL 40	2	bh	225,000	450,000
4	Kertas A4 70 gr (Mirage)	2	rim	36,000	72,000
5	Kertas A4 80g	2	rim	40,000	80,000
6	Flashdisk 8 Gb Kingston	3	bh	90,000	270,000
7	Map plastik Business 101 FC	10	buah	3,500	35,000
8	Pensil 2B	1	dosen	45,000	45,000
9	Spidol permanen	4	dosen	72,000	288,000
10	Catridge Canon Black PG-810	1	bh	225,000	225,000
11	Catridge Canon Black PG-810	2	bh	225,000	450,000

12	bahan lain2, battery dll	1	paket	302,500	302,500
4	BAHAN PENUNJANG				13,703,000
1	Gas Elpiji @ 12 kg	8	tbg	180,000	1,440,000
2	Masker kain bertali @ 50 pcs/box	3	ktk	33,500	100,500
3	Pisau daging (besar)	4	buah	100,000	400,000
4	Plastik penutup botol (plastik cap wayang 1/2 kg)	10	kg	32,000	320,000
5	Plastik Wrap 300 MM x 30 M	20	roll	30,800	616,000
6	Sabun Cair Sunlight @ 800 ml	8	bh	22,000	176,000
7	Scalpel Blade no. 11 Aesculap	1	ktk	228,000	228,000
8	Special indikator paper pH 5.2 - 7.2	2	kotak	200,000	400,000
9	Tissue (Refill kotak)	30	buah	14,000	420,000
10	Gula putih	10	kg	18,500	185,000
11	Sarung tangan karet ukuran M sensi glove	2	ktk	75,000	150,000
12	Scalpel Blade no. 11 Aesculap	1	ktk	228,000	228,000
13	Scalpel Blade no. 23 Aesculap	1	ktk	228,000	228,000
14	Special indikator paper pH 5.2 - 7.2	1	kotak	200,000	200,000
15	Kawat tembaga 0,4 mm	0.25	kg	262,000	65,500
16	Sepatu lapang merk AP No.40	2	Pasang	105,000	210,000
17	Tissu gulung	4	gulung	3,500	14,000
18	Tali rafia besar	1	gulung	26,000	26,000
19	Cangkul cap buaya+tangkai	2	buah	73,000	146,000
20	Selang benang Fuso 3/4 "	1	rol	567,000	567,000
21	Gerobag dorong Artco	1	bh	483,000	483,000
22	Gliricideae	1000	btg	1,500	1,500,000
23	Micro volume tip 0.5-10 ul Gilson type (1000/pak)	6	pak	400,000	2,400,000
24	PCR tube 0,2 ml, flat cap (1000/pak)	4	pak	800,000	3,200,000
521219	Belanja Barang Non Operasional Lainnya				58,500,000
1	Mencuci dan sterilisasi botol kultur dan peralatan	100	HOK	50,000	5,000,000
2	Membantu pembuatan media salak	80	HOK	50,000	4,000,000
3	Membantu sterilisasi eksplan salak	60	HOK	50,000	3,000,000
4	Membantu inisiasi salak	80	HOK	50,000	4,000,000
5	Membantu subkultur salak	132	HOK	50,000	6,600,000
6	Membantu aklimatisasi salak	20	HOK	50,000	1,000,000
7	Persiapan media aklimatisasi salak	15	HOK	50,000	750,000
8	Membantu seleksi dan subkultur salak	60	HOK	50,000	3,000,000

9	Membantu pengamatan salak	50	HOK	50,000	2,500,000
10	Membersihkan peralatan lab	50	HOK	50,000	2,500,000
11	Membantu pembuatan media pisang	30	HOK	50,000	1,500,000
12	Membantu sterilisasi eksplan pisang	20	HOK	50,000	1,000,000
13	Membantu inisiasi pisang	25	HOK	50,000	1,250,000
14	Membantu subkultur pisang	40	HOK	50,000	2,000,000
15	Membantu aklimatisasi pisang	33	HOK	50,000	1,650,000
16	Persiapan media aklimatisasi pisang	30	HOK	50,000	1,500,000
17	Persiapan lahan tanam pisang	20	HOK	50,000	1,000,000
18	Pembuatan lubang tanam pisang	10	HOK	50,000	500,000
19	Memelihara tanaman di kebun	140	HOK	50,000	7,000,000
20	Persiapan media polybag	30	HOK	50,000	1,500,000
21	Transplanting benih ke kebun	5	HOK	50,000	250,000
22	Pemeliharaan tanaman dalam polybag	30	HOK	50,000	1,500,000
23	Membantu kegiatan lab (isolasi DNA, PCR, elektroforesis)	110	HOK	50,000	5,500,000
524111	BELANJA PERJALANAN BIASA				27,000,000
	a. Komunikasi, konsultasi penelitian Salak di Jabar				
1	Transpotasi	5	paket	1,803,000	9,015,000
2	Lumpsum	12	HOK	415,000	4,980,000
3	Penginapan	12	malam	420,000	5,040,000
	B. Koordinasi penelitian di Jakarta (Puslitbang horti)				
1	Transportasi (pp)	2	paket	1,882,500	3,765,000
2	Lumpsum	4	HOK	600,000	2,400,000
3	Penginapan	4	malam	450,000	1,800,000
	Total				125,000,000

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, occurrence 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 recherches sur la distribution florale. Société Vaudoise des Sciences Naturelles 44, 22_270
- Kasi PD, Sumaryono. 2008. Perkembangan kalus embriogenik sagu (*Metrazylon 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 Hort.* 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. Perbanyakan 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

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"> 1) Satu komposisi media inisiasi tunas salak. 2) 400 plantlet pisang (dari 4 kultivar) hasil perbanyakkan kultur jaringan. 3) 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 inisiasi 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 1260 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>