

DOI: 10.21009/Bioma14(1).3

Research article

MULTIPLICATION AND ACCLIMATIZATION OF BANANA VARIANT CV. AMPYANG (*Musa acuminata*, AAA) PUTATIVE RESISTANCE TO FUSARIUM WILT

Reni Indrayanti^{1*}, Fitri Yanti¹, Adisyahputra¹, D. Dinarti², Sudarsono²

¹Program Studi Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta (UNJ). Jl. Rawamangun Muka No.1 Rawamangun, Jakarta Timur. 13220. Indonesia.

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga 16680, Indonesia

*Corresponding Email: rindrayanti@unj.ac.id

ABSTRACT

Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* (Foc) is a major problem in banana breeding, and plants resistance to *Fusarium* wilt can be developed by mutation breeding and in vitro selection techniques. The objectives of this research were to multiplication and acclimatization of banana plantlets cv. Ampyang (*Musa acuminata*, AAA) putative resistance to *Fusarium* wilt. The plant material used in this study was 9 (nine) in vitro different clones of banana cv. Ampyang result from gamma irradiation (30, 45, and 50 Gy) and in vitro and in vivo selection with inoculum of Foc. Plantlets were multiplied for five months on Murashige and Skoog supplemented with 2.25 mgL⁻¹ Benzyl amino purine and 0.22 mgL⁻¹ Thydiazuron and 0.175 mgL⁻¹ Indole 3 acetyl-acid. Acclimatization and evaluation of plantlet growth and development in a green house showed that percentage of survival rate of plantlet were ranging from 42.9 – 100%. There was phenotypic variation among those plantlet investigated in quantitative and qualitative character. Plantlet regenerated from clone A, regenerated from gamma irradiation 30 Gy and after in vitro selection of Foc from isolate Medan showed significantly the highest shoots multiplication, the number of leaves and fresh weight. Plantlet regenerated from endemic *Fusarium* wilt without irradiated (cloned I) showed significantly the highest number in leaf chlorophyll contain. The less number of roots length and other phenotypic character were produced from clone B, D and F. All of the regenerated plantlets were successfully transferred into soil and they would be used to evaluate its resistances in endemic field of Foc.

Keywords: induce mutation and in vitro selection, shoot multiplication, Foc isolates from Medan.

PENDAHULUAN

Pisang (*Musa spp*) merupakan buah sangat populer di dunia dan termasuk diantara sepuluh komoditas pangan utama di Asia Tenggara, Afrika dan Amerika Latin (FAO 2015). Tanaman pisang berasal dari Asia Tenggara dan kini telah menyebar ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Keberhasilan kegiatan pengembangan komoditas pisang pada suatu wilayah ditentukan oleh banyak hal dan salah satu di antaranya ialah serangan Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT). Penyakit layu yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense* (Foc) (E. F. Smith)

Snyder dan Hansen penyebab penyakit layu *Fusarium* tercatat sebagai OPT paling berbahaya dan mengancam industri pisang dunia (Moore *et al.* 2001; Visser *et al.* 2010; Ordonez *et al.* 2015). Patogen tumbuhan ini menyerang jaringan vaskuler, dan sangat berperan dalam sejumlah kerusakan pada tanaman pisang dan *plantain*. Di Indonesia, penyakit ini dilaporkan menghancurkan ribuan hektar pertanaman pisang baik perkebunan pisang komersial maupun pertanaman pisang rakyat (Nasir *et al.* 2003; Molina *et al.* 2009).

Pengendalian yang efektif dan berkelanjutan merupakan topik yang paling penting dalam bidang pertanian saat ini. Pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada pisang secara kimiawi, rotasi tanaman, pemberian substansi organik untuk memperbaiki kondisi kimiawi tanah, pada saat ini tampaknya bukan suatu metode pengendalian yang ekonomis dan efektif (Moore *et al.* 2001; Daly & Walduck 2006). Pengendalian penyakit layu *Fusarium* dengan teknik tersebut tidak mampu mengendalikan penyakit dalam periode yang lama. Pada saat ini meskipun telah dijumpai kultivar pisang transgenic resisten penyakit layu *Fusarium*, seperti pada pisang cv. Cavendish (Dale *et al.* 2017), transfer gen-gen resisten kedalam varietas yang rentan dengan persilangan konvensional sangat sulit karena sifat triploid pada banyak kultivar pisang, produksi biji yang rendah (De Ascensao & Dubery 2000; Hwang & Ko 2004), serta keterbatasan informasi genetik dan genomik pada tanaman pisang (Capdeville *et al.* 2009; Heslop-Harrison 2011).

Pada saat ini prospek pengendalian penyakit pada pisang sangat bergantung pada tersedianya kultivar-kultivar pisang yang resisten (Moore *et al.* 2001; Hwang & Ko 2004; Companioni *et al.* 2006; Jain 2010). Tanaman pisang yang resisten terhadap penyakit layu *Fusarium* dapat diperoleh melalui teknik induksi mutasi dan seleksi dalam medium selektif melalui teknik kultur jaringan (kultur *in vitro*). Teknik ini diketahui dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman, sehingga sifat-sifat unggul yang diinginkan dapat diseleksi (Hartmann *et al.* 2002; Lestari *et al.* 2009; Jain 2010). Penggunaan teknik mutasi induksi memiliki keunggulan, namun teknik mutasi induksi menyebabkan terjadi mutasi secara acak, dan sifat mutan yang didapatkan bersifat acak pula (Medina *et al.* 2004; Mak *et al.* 2004), sehingga aklimatisasi dan evaluasi varian yang resisten penyakit layu *Fusarium* yang diperoleh perlu dilakukan secara menyeluruh di rumah kaca dan di lapangan.

Varian-varian pisang cv. Ampyang telah diperoleh dari hasil induksi mutasi dan seleksi *in vitro*, yang telah dievaluasi ketahanannya di rumah kaca dengan infeksi cendawan *Foc* (Indrayanti *et al.* 2011, Indrayanti *et al.* 2012). Klon-klon hasil evaluasi di rumah kaca tersebut akan diinduksi kembali secara *in vitro*. Multiplikasi klon-klon pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* secara *in vitro* dilakukan untuk tujuan penyediaan benih agar tersedia bibit pisang dalam jumlah yang banyak. Pisang hasil seleksi di rumah kaca ditumbuhkan dalam media mengandung sitokinin dan auksin dengan tujuan untuk meningkatkan jumlah tunas. Menurut (Strosse *et al.* 2004), laju multiplikasi tunas pisang bergantung pada baik pada sitokinin maupun genotip tanaman. Evaluasi kemampuan tumbuh dan regenerasi plantlet perlu dilakukan untuk memastikan bahwa plantlet-plantlet tersebut dapat tumbuh normal di rumah kaca. Penelitian ini bertujuan untuk memperbanyak varian pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* secara *in vitro*, aklimatisasi dan evaluasi pertumbuhan varian pisang.

METODE

Alat dan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah 8 (delapan) kode klon pisang cv. Ampyang yang berasal dari hasil mutasi induksi dan seleksi *in vitro* dengan filtrat kultur *Foc*, serta telah dievaluasi ketahanannya di rumah kaca dengan konidia cendawan *Foc* isolat Medan, dan 1 (satu) kode klon hasil mutasi induksi yang dievaluasi ketahanannya di lahan endemik layu *Fusarium* (Ciapus) (Tabel 1).

Tabel 1. Klon-klon tanaman pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* hasil induksi mutase dan seleksi *in vitro* dengan Filtrat Kultur *Foc*, serta hasil infeksi dengan cendawan *Foc* di rumah kaca (A-H) dan hasil seleksi di lahan endemic layu *Fusarium* di lapangan (I).

Kode Klon Tanaman	Klon berasal dari hasil induksi mutasi dan seleksi <i>in vitro</i> dengan Filtrat Kultur <i>Foc</i>	Hasil infeksi dengan konidia <i>Foc</i> di rumah kaca (A-H) dan di lapangan (I)
A	30 Gy (3) 19	<i>Foc</i> isolate Medan
B	30 Gy (3) 28	<i>Foc</i> isolate Medan
C	45 Gy (4) 35	<i>Foc</i> isolate Medan
D	45 Gy (4) 04	<i>Foc</i> isolate Medan
E	50 Gy (3) 24	<i>Foc</i> isolate Medan
F	50 Gy (3) 19	<i>Foc</i> isolate Medan
G	50 Gy (3) 10	<i>Foc</i> isolate Medan
H	50 Gy (3) 27	<i>Foc</i> isolate Banyuwangi
I	0 Gy (7) 22	<i>Foc</i> isolate Ciapus

Peralatan penelitian terdiri peralatan sterilisasi (transfer boks, oven, autoklaf, dan lampu spiritus), peralatan pembuatan media (timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirrer*), peralatan Gelas, pH indikator universal, dan pipet tetes, peralatan penanaman eksplan, gelas plastik besar dan kecil, *polybag*, alat ukur.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium PT Darul Falah, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman 3 Departemen Agronomi IPB, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman dan Rumah Kaca Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta yang terletak di Kampus B, Rawamangun Jakarta Timur.

Prosedur Penelitian

Tanaman pisang cv. Ampyang usia 8-10 bulan yang teridentifikasi tahan layu *Fusarium* hasil seleksi di rumah kaca dan di lapangan diperbanyak secara *in vitro* untuk mendapatkan sejumlah populasi klon-klon pisang. Klon-klon tersebut berasal dari tanaman 0 Gy (tanpa diiradiasi) hasil evaluasi di lahan endemik layu *Fusarium* di lapangan. Tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 30, 45

dan 50 Gy hasil seleksi secara *in vitro* dengan Filtrat Kultur *Foc* serta hasil seleksi di rumah kaca melalui infeksi akar dengan konidia cendawan *Foc* isolat Medan dan Banyuwangi

Perbanyakan klon dilakukan di Laboratorium PT Darul Falah, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman 3 Departemen Agronomi IPB, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman UNJ. Representasi perbanyakan klon-klon pisang tahan penyakit layu *Fusarium* usia 2 bulan setelah insiasi awal terdapat pada Gambar 1. Bahan tanaman berupa tunas-tunas pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* (klon A-I) diperbanyak secara *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan penambahan 2.25 mgL^{-1} *benzyl amino purine* (BAP) dan 0.22 mgL^{-1} *thydiazuron* (TDZ) serta 0.175 mgL^{-1} *indole 3 acetyl-acid* (IAA). selama 5 bulan dengan 3-4 kali subkultur. Jumlah tunas yang tumbuh selanjutnya dihitung untuk mengetahui kemampuan multiplikasi klon-klon pisang secara *in vitro*

Aklimatiasi plantlet pisang dilakukan setelah usia 6 bulan dengan cara mengeluarkan plantlet dari botol dari masing-masing klon. Pengukuran fenotipik plantlet meliputi jumlah daun, tinggi tanaman, panjang akar, dan panjang dan lebar daun, bobot segar tanaman, serta kandungan klorofil daun. Plantlet dicuci dengan klorox 5% agar terhindar dari kontaminasi cendawan dan dibilas menggunakan air. Plantlet ditanam di dalam gelas plastik 200 ml yang berisi media kapas yang telah dibasahi dengan larutan $\frac{1}{2}$ MS dan selanjutnya ditutup dengan gelas plastik yang berukuran lebih kecil dan diletakkan di ruangan dengan pencahayaan lampu selama 2 minggu dengan penyiraman dua hari sekali. Plantlet selanjutnya dikeluarkan dari ruang kultur, dan media kapas diganti dengan media tanam dan ditempatkan di rumah kaca.

Pengukuran kandungan klorofil daun dilakukan pada aklimatisasi minggu keempat pada setiap sampel klon dengan tiga kali pengulangan. Tiap plantlet diambil daunnya dan ditimbang sebanyak 100 mg. Sampel daun yang diambil berasal dari tiga daun pertama dari pucuk. Sampel daun selanjutnya dimasukan kedalam mortar dan ditambahkan aseton 90% sebanyak 10 ml, lalu haluskan. Sampel daun yang telah halus dituang kedalam tabung plastik berukuran 10 ml. Sampel disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm dan suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dituang kedalam tabung yang baru hingga volumenya menjadi 7 ml, kemudian 2 ml sampel dituang kedalam kuvet dengan mikro pipet $1000 \mu\text{l}$ untuk analisis spektrofotometri. Sampel tersebut diukur absorban klorofil a, dan b pada panjang gelombang masing-masing 664 dan 647 (Ritchie 2006). Pengukuran kadungan klorofil daun (Ritchie 2006) dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Chl (1) (mgL}^{-1}\text{)} \approx E\lambda_{1.1} A\lambda_1 + E\lambda_{2.1} A\lambda_2$$

$$\text{Chl (2) (mgL}^{-1}\text{)} \approx E\lambda_{1.2} A\lambda_1 + E\lambda_{2.2} A\lambda_2$$

Analisis Data

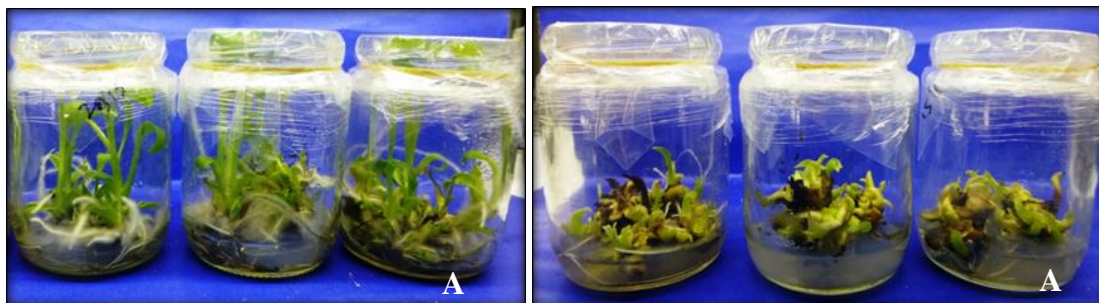
Data kuantitatif yang meliputi jumlah daun dan kandungan klorofil dianalisa dengan statistik deskriptif dengan mengukur rata-rata setiap parameter dengan standar eror (\pm SE). Panjang akar, tinggi tanaman, panjang dan lebar daun, serta rasio panjang dan lebar daun, diolah dengan menggunakan program SPSS 16.0, selanjutnya diuji dengan uji F - anava satu arah, dan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

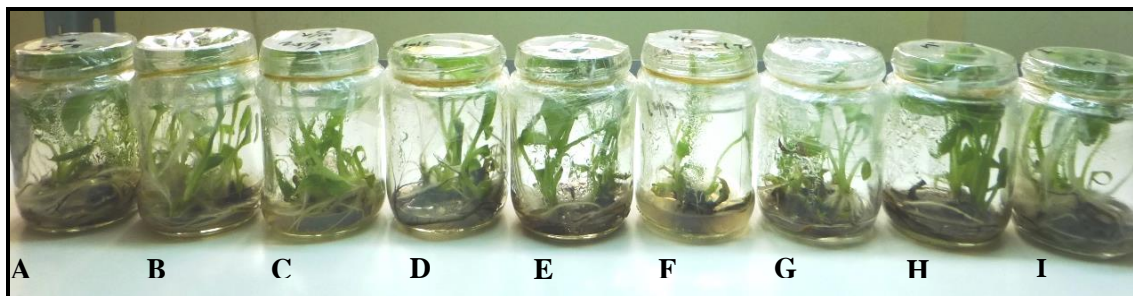
Multiplikasi tunas pisang cv. Ampyang putatif resisten layu Fusarium

Perbanyakkan klonal pisang cv. Ampyang ini dilakukan untuk tujuan memperbanyak klon-klon pisang yang teridentifikasi resisten layu *Fusarium*. Tanaman-tanaman tersebut merupakan tanaman yang mampu bertahan hidup dari polulasi yang diregenerasikan dari induksi mutasi (0 -60 Gy) dan hasil seleksi secara *in vitro* dengan filtrate kultur *Foc* 60% dan infeksi konidia cendawan *Foc* (Indrayanti *et al.*, 2012). Pada percobaan ini diperoleh gambaran umum bahwa inisiasi awal dari bonggol pisang *in vivo* cukup sulit karena tingkat kontaminasi cukup tinggi. Hal ini diduga karena adanya konidia *Foc* dorman yang terdapat pada ruang antar sel tumbuhan, sehingga pada saat eksplan ditumbuhkan di media mengandung nutrisi, konidia berkembang membentuk koloni jamur disekitar eksplan yang diinisiasi. Representasi perbanyakkan klon-klon pisang putatif resisten layu *Fusarium* pada usia 2 bulan setelah inisiasi awal terdapat pada Gambar 1.

Multiplikasi tunas-tunas selama 5 bulan dengan 3-4 kali subkultur menghasilkan klon-klon pisang dengan jumlah tersaji pada Tabel 2. Hasil percobaan ini secara keseluruhan menghasilkan pertumbuhan jumlah tunas yang sangat bervariasi, bergantung asal klon yang di inisiasi. Persentase multiplikasi tunas setiap klon sampai usia 5 (lima) bulan setelah inisiasi berkisar antara 50-840%, dengan rata-rata pertumbuhan tunas 1.3 – 3.4 tunas pada setiap ulangan (Tabel 2 dan Gambar 2).



Gambar 1. Klon pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* yang berasal dari (A) hasil iradiasi 30 Gy (3) 19. Md [klon A] dan (B) hasil iradiasi 45 Gy (4) 04. Md [klon D] hasil infeksi dengan konidia cendawan *Foc* isolat Medan pada usia 2 bulan setelah inisiasi.



Gambar 2. Klon-klon pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* (A- I) hasil multiplikasi tunas pada usia 5 bulan setelah inisiasi dengan 3-4 kali subkultur.

Tabel 2. Multiplikasi tunas klon pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* pada usia 5 bulan setelah inisiasi.

Kode Tanaman	Asal klon pisang cv. Ampyang (<i>in vitro</i>)	Jumlah ulangan (n_1) dan jumlah tunas pada inisiasi awal (a)	Jumlah tunas dan persentase pertumbuhan tunas pada 5 bulan setelah tanam		
			Jumlah ulangan (n_2) dan jumlah tunas yang tumbuh (b)	Jumlah dan persentase pertumbuhan tunas (%)	Rata-2 jumlah tunas
A	30 Gy (3) 19. Md	10 (20)	55 (188)	168 (840.0)	3.4
B	30 Gy (3) 28. Md	10 (16)	18 (24)	8 (50.0)	1.3
C	45 Gy (4) 35. Md	10 (16)	15 (35)	19 (118.7)	2.3
D	45 Gy (4) 04. Md	10 (20)	70 (114)	94 (470.0)	1.6
E	50 Gy (3) 24. Md	10 (20)	20 (48)	28 (140.0)	2.4
F	50 Gy (3) 19. Md	10 (18)	25 (61)	43 (238.9)	2.4
G	50 Gy (3) 10. Md	10 (18)	28 (49)	31 (172.2)	1.8
H	50 Gy (3) 27. Bw	10 (20)	44 (83)	63 (315.0)	1.9
I	0 Gy Ciapus	10 (20)	28 (42)	22 (110.0)	1.5
Jumlah total		20 (168)	303 (644)		

Keterangan: Persentase pertumbuhan tunas = jumlah tunas yang tumbuh (b) – jumlah tunas awal (a) / jumlah tunas awal (a) x 100%. Rata-rata pertumbuhan jumlah tunas = jumlah tunas tumbuh (b) / jumlah ulangan (n_2).

Persentase multiplikasi terbesar dihasilkan oleh klon varian yang berasal dari hasil iradasi 30 Gy (3) 19. Md (klon A), dengan rata-rata jumlah tunas (3.4 tunas). Persentase multiplikasi terendah (50%) juga dihasilkan oleh klon dari hasil iradiasi 30 Gy (3) 28. Md (klon B) dengan rata-rata jumlah tunas 1.3 tunas. Hasil ini menunjukkan bahwa mutasi bersifat acak, klon tanaman yang berasal dari hasil iradiasi yang sama memberikan respon yang berbeda. Menurut Strosse *et al.* (2004) secara umum pucuk-pucuk kultivar yang hanya memiliki genom A akan memproduksi 2-4 pucuk baru, sedangkan kultivar yang memiliki satu atau dua genom B akan memproduksi kluster pucuk yang banyak dan kuncup pada setiap siklus subkultur. Pisang cv. Ampyang pada percobaan ini merupakan pisang dengan genom AAA (Valmayor *et al.* 2000).

Perbanyak klon-klon pisang cv. Ampyang terindikasi resisten layu *Fusarium*, dengan rata-rata pertumbuhan 1.3 – 3.4 tunas untuk kurun waktu 5 bulan relatif lambat (Gambar 2). Jika dibandingkan pertumbuhan tunas pisang cv. Ampyang pada saat awal eksplan dilakukan induksi mutasi, yang menghasilkan jumlah tunas rata-rata berkisar 6.2 - 8.9 tunas pada usia 6 minggu setelah tanam (Indrayanti *et al.* 2011). Hal ini diduga karena plantlet telah mengalami cekaman yang cukup lama akibat infeksi Foc yang diberikan selama tahapan seleksi. Hasil penelitian Masykuroh *et al.* (2016) pada pisang cv. Kepok juga menunjukkan rata-rata pertumbuhan tunas berkisar 1.3 - 11.0 tunas pada usia 4 bulan setelah iradiasi dan multiplikasi.

Aklimatisasi pisang cv. Ampyang putatif resisten layu Fusarium

Evaluasi pertumbuhan tanaman pada 4 minggu setelah aklimatisasi menunjukkan bahwa setiap klon pisang cv. Ampyang memiliki kemampuan bertahan hidup yang bervariasi. Pada tahapan ini persentase tanaman yang mampu bertahan hidup berkisar 42.9 – 100%. Persentase tanaman yang bertahan hidup terbesar (100%) terdapat pada pisang cv. Ampyang klon B, E, dan F, sedangkan yang terendah terdapat pada klon G (42.9%) (Tabel 3). Klon-klon varian pisang cv. Ampyang yang tidak mampu bertahan hidup banyak berasal dari klon G yang berasal dari hasil iradiasi 50 Gy. Klon tanaman putatif resisten layu Fusarium yang tidak dapat bertahan hidup ini diduga merupakan tanaman kimera. Menurut Predieri (2001) dan Jain (2010), tanaman kimera pada umumnya berkembang dari populasi mutan yang berasal dari multiplikasi tanaman yang dilakukan lebih dari generasi M₁V₄, atau tanaman hasil siklus vegetatif ke empat (Medina *et al.*, 2004).

Hasil analisis secara deskriptif terhadap rata-rata jumlah daun menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara jenis klon yang diamati. Rataan jumlah daun berkisar 5.15 – 6.87 daun. Jumlah daun terbesar terdapat pada plantlet pisang cv. Ampyang klon H (6.87 ± 0.23) dengan persentase bertahan hidup 80.2%. Jumlah daun terendah dihasilkan oleh klon I (5.16 ± 0.35) namun klon ini memiliki persentase bertahan hidup 96%. (Tabel 3). Hasil analisis dengan uji DMRT menunjukkan bahwa rata-rata tinggi plantlet dan panjang akar dan relatif tidak terlalu berbeda. Tinggi tanaman tertinggi yang dihasilkan oleh pisang cv. Ampyang klon A (14.19 cm) hanya berbeda signifikan dengan klon F (8.91 cm) (Tabel 3). Pada parameter panjang akar, pisang cv. Ampyang klon A (22.04 cm) memiliki rata-rata panjang akar yang berbeda secara signifikan dibandingkan dengan klon lainnya. Panjang akar terendah dihasilkan oleh klon F (8.30 cm). Pada tahap aklimatisasi, akar dengan panjang yang pendek juga menjadi salah satu penyebab tanaman tersebut mempunyai kemampuan hidup yang rendah karena akar berfungsi sebagai untuk menyerap air, unsur hara dan garam-garam mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman (Taiz & Zeiger, 2002).

Tabel 3. Persentase tanaman bertahan hidup pada usia 4 minggu setelah aklimatisasi di rumah kaca, dan rata-rata jumlah daun, tinggi plantlet, panjang akar plantlet pisang cv. Ampyang putatif resisten layu Fusarium saat aklimatisasi

Klon	Asal klon pisang cv. Ampyang	N	Jumlah tanaman yg hidup (%)	Jumlah daun		Tinggi plantlet (cm)	Panjang akar (cm)
				Rataan	± SE	Rataan	Rataan
A	30 Gy (3) 19. Md	94	92.6	6.26	0.21	14.19 ^b	22.04 ^c
B	30 Gy (3) 28. Md	7	100.0	5.29	0.36	12.11 ^b	8.50 ^a
C	45 Gy (4) 35. Md	8	75.0	6.50	0.78	12.16 ^b	10.90 ^{ab}
D	45 Gy (4) 04. Md	22	81.8	6.36	0.40	12.67 ^b	8.47 ^a
E	50 Gy (3) 24. Md	13	100.0	5.92	0.55	13.99 ^b	12.34 ^{ab}
F	50 Gy (3) 19. Md	8	100.0	5.75	0.41	8.91 ^a	8.30 ^a
G	50 Gy (3) 10. Md	7	42.9	5.29	0.75	11.27 ^{ab}	9.19 ^{ab}
H	50 Gy (3) 27. Bw	86	80.2	6.87	0.23	13.95 ^b	11.37 ^{ab}
I	0 Gy Ciapus	25	96.0	5.16	0.35	12.51 ^b	15.73 ^b

Keterangan: N = jumlah tanaman yang diaklimatisasi. Angka yang diikuti oleh hirif yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji Duncan pada taraf 5%.

Tabel 4. Rataan panjang dan lebar daun, rasio panjang dan lebar daun, panjang akar plantlet pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* saat aklimatisasi

Klon	Asal klon pisang cv. Ampyang	N	Panjang (p) daun (cm)	Lebar (l) daun (cm)	Rasio panjang:lebar (p : l) daun
			Rataan	Rataan	Rataan
A	30 Gy (3) 19. Md	94	6.53 ^{cd}	1.64 ^d	14.19 ^b
B	30 Gy (3) 28. Md	7	3.90 ^a	1.15 ^{abc}	12.11 ^b
C	45 Gy (4) 35. Md	8	4.50 ^{ab}	1.07 ^{ab}	12.16 ^b
D	45 Gy (4) 04. Md	22	5.55 ^{bcd}	1.36 ^{abcd}	12.67 ^b
E	50 Gy (3) 24. Md	13	6.34 ^{cd}	1.59 ^{cd}	13.99 ^b
F	50 Gy (3) 19. Md	8	5.17 ^{abc}	1.30 ^{abcd}	8.91 ^a
G	50 Gy (3) 10. Md	7	4.24 ^{ab}	0.97 ^a	11.27 ^{ab}
H	50 Gy (3) 27. Bw	86	6.74 ^d	1.48 ^{bcd}	13.95 ^b
I	0 Gy Ciapus	25	5.92 ^{cd}	1.62 ^d	12.51 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT pada taraf 5%.

Hasil pengukuran terhadap panjang dan lebar daun pada saat aklimatisasi (Tabel 4), menunjukkan adanya perbedaan yang nyata diantara klon pisang yang diaklimatisasi. Rataan panjang daun tertinggi dihasilkan oleh varian pisang klon H (6.74 cm) yang berbeda signifikan dengan klon B, C, E, F dan G. Panjang daun terendah pada klon B (3.90 cm). Lebar daun terendah pada klon G (0.97 cm), sedangkan terbesar dihasilkan oleh klon A (1.64 cm) dan I (1.62 cm) (Tabel 4). Parameter rasio panjang dan lebar daun diukur untuk mengetahui apakah daun yang dihasilkan relatif memiliki bentuk daun yang panjang (sempit) atau lebar. Hasil pengamatan terhadap parameter tersebut diperoleh gambaran umum bahwa bentuk daun relatif hampir sama. Rasio p:l terendah dihasilkan oleh klon F (8.91) yang berbeda signifikan dengan klon lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa klon pisang Ampyang 50 Gy (3) 19. Md relatif memiliki daun yang lebar. Secara teoritis rasio panjang dan lebar daun merupakan salah satu faktor yang mendukung pertumbuhan tanaman, karena berhubungan dengan luas bidang absorpsi penyerapan cahaya dalam proses fotosintesis (Taiz & Zeiger 2002). Pada pengamatan bobot segar plantlet diketahui rata-rata terbesar dihasilkan oleh klon A (22.04 g) dan terendah dihasilkan oleh klon F (8.30 g) (Tabel 5). Menurut Ahloowalia & Maluszynski (2001), mutasi mempengaruhi biosintesa pati yang dapat menyebabkan perubahan komposisi amyloosa dan amylopektin sehingga merubah kandungan fisik-kimia dari butir-butir pati.

Karakter pertumbuhan yang rendah di antara populasi tanaman yang diseleksi dijumpai pada tanaman pisang yang berasal dari varian pisang cv. Ampyang klon B, C, F dan G, yaitu klon yang juga berasal dari hasil iradiasi 30, 45, dan 50 Gy (Tabel 3, 4). Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh pemberian asal mutagen, pengaruh negatif dari mutagen dan faktor lingkungan seperti cekaman air dan teknik pengolahan tanah di *polybag* (Mak *et al.* 2004; Jain 2010). Menurut Mak *et al.* (2004) perolehan karakter yang rendah dan tidak dapat bertahan hidup sampai dewasa merupakan salah satu kemungkinan yang akan diperoleh pada tanaman hasil mutagenik, di antaranya adalah pertumbuhan yang lambat, daun yang lebih kompak dan tegak. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa multiplikasi klon-klon varian pisang selama 5 bulan mampu mengidentifikasi varian-varian pisang cv.

Ampyang yang memiliki karakter pertumbuhan plantlet yang berbeda.

Tabel 5. Rataan bobot segar plantlet dan kandungan klorofil a dan b daun pisang cv. Ampyang putatif resisten layu *Fusarium* saat aklimatisasi

Klon	Asal klon pisang cv. Ampyang	N	Bobot segar plantlet (g)	Klorofil a (mg L ⁻¹)		Klorofil b (mg L ⁻¹)	
			Rataan	Rataan	± SE	Rataan	± SE
A	30 Gy (3) 19. Md	94	22.04 ^c	5.78	0.78	1.84	0.16
B	30 Gy (3) 28. Md	7	8.50 ^a	4.07	0.32	1.43	0.15
C	45 Gy (4) 35. Md	8	10.90 ^{ab}	5.00	0.79	1.30	0.21
D	45 Gy (4) 04. Md	22	8.47 ^a	7.52	1.42	2.39	0.41
E	50 Gy (3) 24. Md	13	12.34 ^{ab}	3.83	0.39	1.45	0.17
F	50 Gy (3) 19. Md	8	8.30 ^a	7.29	0.78	2.51	0.15
G	50 Gy (3) 10. Md	7	9.19 ^{ab}	7.14	1.82	1.90	0.35
H	50 Gy (3) 27. Bw	86	11.37 ^{ab}	7.83	0.37	2.44	0.12
I	0 Gy Ciapus	25	15.73 ^b	9.42	0.64	2.53	0.13

Pengamatan terhadap kandungan klorofil menunjukkan adanya variasi jumlah klorofil *a* pada setiap klon yang diuji (Tabel 5). Kandungan klorofil tertinggi dihasilkan oleh pisang cv. Ampyang yang berasal dari klon I (9.42 mgL⁻¹ ± 0.64) yang berbeda signifikan dibandingkan klon lainnya. Kandungan klorofil *a* terendah dihasilkan oleh daun tanaman yang berasal dari klon E (3.83 mg L⁻¹ ± 0.39). Kandungan klorofil *b* relatif tidak bervariasi, namun terlihat bahwa kandungan tertinggi dihasilkan oleh klon I (2.53 mgL⁻¹ ± 0.13) dan terendah dihasilkan oleh klon C (1.30 mg L⁻¹ ± 0.21).

Kandungan klorofil *a* dan *b* pada daun juga diketahui secara langsung berhubungan dengan stress fisiologis pada tanaman, karena berhubungan dengan gejala kerusakan daun akibat infeksi cendawan *Foc* (Companiononi *et al.* 2006). Klorofil *a* dan *b* merupakan pigmen utama dalam proses fotosintesis, kandungan klorofil yang rendah secara langsung dapat menghambat aktivitas fotosintesis (Taiz & Zeiger, 2002). Fotosintesis berperan penting dalam kehidupan tanaman, sehingga tanaman akan mengalami sakit apabila terjadi gangguan fotosintesis. Gangguan patogen terhadap fotosintesis ditandai dengan gejala nekrotik dan klorosis yang terjadi pada daun yang terinfeksi (Agrios 2005). Perkembangan tingkat lanjut karena kerusakan jaringan daun atau defoliasi akibat penyakit akan menurunkan atau menghentikan proses fotosintesis. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas sel terhenti dan mengakibatkan kematian tanaman.

Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kemampuan tumbuh tanaman hasil seleksi *in vitro* yang di aklimatisasi juga berperan dalam kemampuan tumbuh di rumah kaca. Tanaman yang tidak bertahan hidup (Tabel 3) rata-rata mengalami gejala kelayuan 3-4 minggu setelah aklimatisasi. Kelayuan terjadi diduga karena plantlet belum dapat beradaptasi dengan lingkungan kelembaban yang jauh lebih rendah, tidak aseptik dan tingkat intensitas cahaya jauh lebih tinggi dari pada kondisi dalam botol. Kondisi ini menyebabkan plantlet tidak mampu beradaptasi dari kondisi heterotrof menjadi autotrof.

Karakter yang rendah dan tidak dapat bertahan hidup sampai dewasa merupakan salah satu kemungkinan yang akan diperoleh pada tanaman yang diberi perlakuan mutagenik, diantaranya adalah

pertumbuhan yang lambat, daun yang lebih kompak dan tegak (Mak *et al.* 2004). Menurut Jain (2010), keberhasilan program mutagenesis secara *in vitro* bergantung pada pemantapan prosedur regenerasi tanaman yang bersifat reproduktif, optimasi perlakuan mutagenik, dan efisiensi skrining populasi mutagenik untuk varian-varian yang diinginkan seperti ketahanan terhadap layu Fusarium.

Hasil percobaan ini menggambarkan bahwa, klon-klon varian pisang cv. Ampyang putatif resisten layu Fusarium memiliki karakter pertumbuhan yang bervariasi. Tanaman yang memiliki karakter pertumbuhan relatif lebih baik dihasilkan oleh varian pisang cv. Ampyang yang berasal dari hasil iradiasi 30 Gy (3) 19 (klon A), dan klon tanpa iradiasi (0 Gy) hasil evaluasi di lahan endemic layu Fusarium (klon I). Variasi karakter pertumbuhan ini diharapkan bisa bersifat menurun jika diuji di lapangan, sehingga diperoleh varian pisang cv. Ampyang unggul dan bersifat genetik. Menurut Ordonez *et al.* (2015), pengembangan kultivar-kultivar generasi baru pisang yang sesuai dengan kebutuhan konsumen membutuhkan penelitian dan pengembangan lebih lanjut sebagai bahan pangan global sehingga dapat mendukung kehidupan masyarakat dan petani.

SIMPULAN

Multiplikasi dan aklimatisasi varian pisang cv. Ampyang putatif resisten layu Fusarium menunjukkan persentase yang bervariasi berkisar 50-840%. Aklimatisasi klon-klon di rumah kaca menunjukkan kemampuan tumbuh berkisar 42.9 – 100%. Varian pisang cv. Ampyang klon A yang berasal dari hasil iradiasi gamma 30 Gy dan hasil seleksi dengan konidia *Foc* isolate Medan memiliki performa yang lebih baik dari pada klon B, C, D, E, F, G, H pada parameter kuantitatif dan kualitatif tanaman.

Varian pisang cv. Ampyang yang berasal dari klon-klon tanpa diiradiasi namun hasil seleksi di lahan endemic layu Fusarium (klon I) memiliki bobot segar dan kandungan klorofil yang lebih tinggi. Performa yang baik pada klon-klon tersebut memungkinkan tanaman untuk dapat di evaluasi kembali ketahanannya di lahan endemic layu *Fusarium* untuk memastikan sifat resistensi klon-klon pisang cv. Ampyang yang diperoleh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman 3 IPB, teknisi Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman FMIPA UNJ. Penelitian ini dibiayai melalui Proyek Hibah Penelitian Strategis Nasional, No. Kontrak: 123/SP2H/PL/DIT.LITABMAS/V/2013. Di bawah koordinasi Reni Indrayanti.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Ed ke-5. Amsterdam. Elsevier Acad. Press.
- Ahloowalia B, Maluszynski M. 2001. Induced mutations – A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118: 167–173
- Anggraeni I, Nina M. 2011. Serangan Hama dan Penyakit pada Gmelina (*Gmelina arborea* Roxb.) di Hutan Rakyat. *Jurnal Tekno Hutan Tanaman*. 4(2): 85-92

- Companioni B. *et al.* 2006. Differentiating resistance to *Fusarium oxysporum* f. *Sp. cubense* strain 1 culture filtrates in banana leaves. *Biotechnol Aplic* 23(2): 153-157 .
- Capdeville G, Souza MT, Szinay D, Wijnker E, De Jong H. 2009. The potential of high-resolution BAC-FISH in banana breeding. *Euphytica* 166:431–443.
- Daly A, Walduck G. 2006. *Fusarium* wilt of bananas (Panama disease) (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). *Agnote* 1(51):1-5
- Dale J, James A, Paul J-Y, Khanna H, Smith M, Peraza-Echeverria S, Garcia-Bastidas F, Kema G, Waterhouse P, Mengersen K, Harding R. 2017. Transgenic Cavendish bananas with resistance to *Fusarium* wilt tropical race 4. *Nature Communications* 8: 1496 | DOI: 10.1038/s41467-017-01670-6 | www.nature.com/naturecommunications. [13 Mart 2018]
- De Ascensao ARFDC, Durbery IA. 2000. Panama Disease: cell wall reinforcement in banana roots in respons to elicitors form *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race Four. *Phytopathology* 90(10): 1173-1180.
- [FAOSTAT] Food and Agriculture Organization of The United State Statistik. 2015. FAO statistical database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Hartmann HT, Dale E. Kester, Fred T. Davis Jr., Robert L. Geneve. 2002. *Plant Propagation - Principle and Practises, 7th edition*. Prentice Hall. New Jersey.
- Heslop-Harrison JS. 2011. Genomic, banana breeding and superdomestication. *Acta Hort* 897: 55-62.
- Hwang S-C, Ko W-H. 2004. Cavendish banana cultivars resistan to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant disease* 88 (6): 580-588.
- Indrayanti R, Mattjik NA, Setiawan A, Sudarsono. 2011. Radiosensitivitas pisang Ampyang dan potensi penggunaan iradiasi gamma untuk induksi varian. *J. Agron. Ind.* 39 (2) : 104 – 112.
- Indrayanti R, Mattjik NA. Setiawan A, Sudarsono. 2012. Seleksi *in vitro* untuk mendapatkan tunas pisang Ampyang hasil iradiasi gamma insensitif filtrat kultur *F. oxysporum* f.sp *cubense* , *Zuriat J. Pemuliaan Ind.* 23(1): 76-84
- Jain SM. 2010. *In vitro* mutagenesis in banana (*Musa* spp). Improvement. *Acta Hort* 879: 605-614
- Lestari EG, Purnamaningsih R, Mariska I, Hutami S. 2009. Induksi keragaman somaklonal dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi *in vitro* kalus pisang Rajabulu menggunakan asam fusarat, serta regenerasi dan aklimatisasi plantlet. *Berita Bio* 9(4): 411-417.
- Mak C, Ho YW, Liew KW, Asif JM. 2004. Biotechnology and *in vitro* mutagenesis for banana improvement. Di dalam: Jain SM, Swensen R, editor. *Banana Improvement: Celullular, Molecular Biology, and Induced Mutation*. Enfield, Sci. Publ. Inc., hlm 54-73. <http://www.fao.org/docrep/007/ae216e/ae216e08.htm#bm08>. [26 Mei 2016]
- Masykuroh L, Adisyahputra, Indrayanti R. 2016. Induksi mutasi pada pisang (*Musa* sp. - ABB) cv. Kepok dengan iradiasi gamma secara *in vitro*. *Bioma* 12(1): 25-31.
- Medina F-IS, Amano E, Tano S. 2004. *Mutation Breeding Manual*. Japan. Forum For Nuclear Cooperation in Asia (FNCA).
- Moore NY, Pegg KG, Buddenhagen IW, Bentley S. 2001. *Fusarium* wilt of banana: a diverse clonal pathogen of domesticated clonal host.. Di dalam: Summerel BA. *et al.* editor. *Fusarium Minnesota*. APS Press. hlm 212-224
- Molina AB, Fabregar E, Sinohin VG, Yi G, Viljoen A. 2009. Recent occurrence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 in Asia. *Acta Hort* 828: 109–115
- Nasir, N.J., Riska, and F. Eliesti. 2003. The occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubenserace* 4 in Indonesia. 2nd International symposium on *Fusarium* wilt on banana. Salvador de Bahia.
- Ordóñez N, Seidl MF, Waalwijk C, Drenth A, Kilian A, Bart P. H. J. Thomma BPHJ, Ploetz RC, Kema GHJ. 2015. Worse Comes to Worst: Bananas and Panama Disease - When Plant and Pathogen Clones Meet. *PLOS Pathogens*. DOI: 10.1371/ journal. ppat.1005197

- Predieri S. 2001. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 64: 185–210.
- Ritchie RJ. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol, and ethanol solvents. *Photosynthesis Res.* 89(1), 27-41.
- Strosse HI, Van den Houwe I, Panis B. 2004. Banana cell and tissue culture – review. Di dalam: Jain SM, Swensen R, editor. *Banana Improvement: Celullular, Molecular Biology, and Induced Mutation* Enfield. Sci. Publ. Inc., hlm 1-13. <http://www.fao.org/docrep/007/ae216e/ae216e03.htm#bm03>. [26 Mei 2016]
- Taiz L, Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. 3rd ed. Sunderland. Sinauer Associates, inc., Publ.
- Valmayor, R.V., S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua, R.R.C. Espiro. 2000. *Banana Cultivar Names and Synonyms in Southeast Asia*. INIBAP. France.
- Visser, M, Gordon, T, Fourie, G dan Viljoen, A. 2010. Charaterization of South Africa isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* from Cavendish bananas. *South Afr. J. Sci.*, 106(3): 1-6.