

**MIKROPROPAGASI TANAMAN NENAS (*Ananas comosus* L. Merr.)
MENGUNAKAN TUNAS AKSILAR MAHKOTA BUAH
SEBAGAI MATERIAL AWAL**

[THE MICROPROPAGATION OF PINEAPPLE (*Ananas comosus* (L.) MERR.)
USING AXILLARY BUDS OBTAINED FROM CROWN
AS STARTING MATERIALS]

Zulkarnain dan Hadiyono¹

Abstract

An experiment to study the effect of 2,4-D and BAP concentrations on growth and development of axillary bud culture of pineapple crown was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jambi. Four levels of 2,4-D (0.0, 0.005, 0.045, 0.452 μ M) and four levels of BAP (0.0, 0.444, 4.439, 44.393 μ M) were used to induce the growth and development of the explants. The experiment was arranged in a factorial completely randomized design with 5 replicates. The result indicated that the presence either 2,4-D or BAP in culture medium did not affect leaf number. No callus proliferation was observed until the end of the experiment. Each explants cultured on all treatments regenerated only one terminal shoot. Whereas root proliferation occurred only on medium treated with with 0,452 μ M 2,4-D without BAP, which regenerated the intact plants.

Pendahuluan

Nenas (*Ananas comosus* (L) Merr.) adalah salah satu jenis tanaman buah-buahan yang banyak digemari masyarakat karena rasa buahnya yang manis, lezat dan memiliki aroma yang harum dengan warna dan bentuk yang menarik. Selain itu tanaman ini juga mengandung vitamin C yang tinggi di samping vitamin A dan vitamin B serta mineral lain (Pracaya, 1982).

Pengusahaan tanaman ini sudah semakin meluas, baik di daerah tropis maupun subtropis, di mana penghasil nenas dunia terbesar dewasa ini adalah Hawaii. Beberapa kelebihan nenas dibandingkan tanaman lain menurut Pracaya (1982) adalah: toleran terhadap kekeringan, suhu tinggi dan pH tanah yang rendah. Di samping itu daur hidupnya pun lebih pendek.

Bagi Propinsi Jambi nenas bukanlah komoditas hortikultura yang baru, karena daerah ini merupakan salah satu penghasil nenas yang cukup potensial dan memiliki prospek pengembangan yang cukup baik mengingat kondisi tanah yang sangat cocok untuk

tanaman ini. Bahkan nenas merupakan salah satu komoditas buah-buahan yang diprioritaskan pengembangannya bersama-sama dengan pisang, jeruk, durian, rambutan, duku dan nangka di provinsi ini (Anonim, 1983).

Dalam upaya menunjang program pengembangan tanaman nenas di daerah Jambi, maka dibutuhkan pengadaan sejumlah besar bibit dari klon unggul yang baik dan seragam. Di samping itu bibit tersebut harus sehat (bebas hama/penyakit). Hal ini diperlukan dalam rangka menunjang usaha perluasan areal dan peremajaan. Untuk itu salah satu cara yang dapat ditempuh adalah melalui pengadaan bibit secara *in vitro* atau kultur jaringan. Melalui teknik ini dapat dihasilkan sejumlah besar bibit dalam waktu yang singkat, seragam dan bebas penyakit (Winata, 1984). Sebagai gambaran dapat dikemukakan proyeksi Morel (1960), yakni 4 juta angrek *Cymbidium* bebas virus dapat dihasilkan dalam satu tahun melalui teknik ini.

Di dalam kultur *in vitro* keterlibatan zat pengatur tumbuh tanaman merupakan hal yang mutlak, karena tanpa senyawa ini dapat dikatakan mustahil untuk

mengerjakan teknik ini dengan baik. Dua kelompok zat pengatur tumbuh yang sering digunakan adalah auksin dan sitokinin. Menurut Gunawan (1987) senyawa-senyawa ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur sel, jaringan dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan ke dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin dan sitokinin eksogen akan merubah level zat pengatur tumbuh endogen sel.

Hasil penelitian Tahardi (1985) menunjukkan, bahwa pada tanaman coklat dibutuhkan kehadiran baik auksin maupun sitokinin (air kelapa) untuk mendapatkan pertumbuhan kalus yang baik. Sementara itu percobaan Nagasawa dan Finer (1988) terhadap bawang putih memperlihatkan hasil, bahwa $1.36\mu\text{M}$ 2,4-D sangat efektif untuk menginduksi pembentukan kalus. Sedangkan hasil penelitian Ansori *et al.* (1990) terhadap *Dianthus caryophyllus* mengungkapkan, bahwa regenerasi kalus menjadi tunas memerlukan $5.71\mu\text{M}$ IAA + $4.65\mu\text{M}$ kinetin + $0,75\text{ mg./L}$ Ancymidol (suatu zat perambat tumbuh) dan untuk pembentukan akar memerlukan $0.23\mu\text{M}$ 2,4-D + $4.65\mu\text{M}$ kinetin.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh 2,4-D dan BAP pada kultur *in vitro* mahkota buah nenas dan mengembangkan prosedur praktis guna perbanyak massal tanaman ini.

Metoda Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Jambi. Lama penelitian lebih kurang 6 bulan.

Penempatan unit-unit percobaan didasarkan atas Rancangan Acak Lengkap faktorial. Adapun faktor-faktor yang diteliti adalah tingkat konsentrasi 2,4-D (0,0; 0,005; 0,045; $0,452\mu\text{M}$) dan tingkat konsentrasi BAP (0,0; 0,444; 4.439; $44.393\mu\text{M}$). Dengan demikian terdapat 16 kombinasi perlakuan yang diulang 5 kali.

Eksplan yang digunakan adalah potongan mahkota buah yang mengandung tunas-tunas yang masih dalam keadaan dorman. Setelah daun-daun dibuang, mahkota buah tanpa daun selanjutnya

disterilkan dengan cara direndam di dalam larutan 20% Ca-hipoklorit selama 15 menit, kemudian dibilas dengan air steril tiga kali. Tahap berikutnya dari sterilisasi adalah perendaman di dalam 0,02% HgCl_2 selama 5 menit, kemudian dibilas lagi dengan air steril tiga kali.

Setelah pekerjaan sterilisasi selesai, bahan eksplan tadi dipotong-potong segi empat lebih kurang 1cm dan diinokulasikan pada medium MS padat yang telah dimodifikasi dengan masing-masing perlakuan. Tahap kerja inokulasi ini dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* yang sebelumnya disterilkan dengan alkohol 95% dan sinar ultra violet. Setelah inokulasi, botol-botol kultur selanjutnya ditempatkan di dalam ruang gelap pada suhu 25 - 26°C . Dua minggu kemudian kultur tersebut dipindahkan ke ruang kultur dengan fotoperiodesitas 16 jam/hari dan intensitas cahaya 1000 - 4000 lux serta suhu 25 - 26°C .

Pengamatan dilakukan terhadap peubah-peubah sebagai berikut: 1) persentase eksplan yang hidup, 2) proliferasi kalus, 3) jumlah daun, 4) pembentukan pucuk, 5) pembentukan akar dan 6) pembentukan tunas majemuk.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Semua eksplan yang dikulturkan mengalami proliferasi dan menumbuhkan tunas (100 persen eksplan hidup). Akan tetapi sampai dengan akhir penelitian tidak terlihat adanya proliferasi kalus.

Sampai pada akhir masa penelitian juga terlihat, bahwa masing-masing eksplan hanya meregenerasikan satu pucuk terminal, tanpa adanya tunas majemuk. Sedangkan perakaran hanya terjadi pada perlakuan $0.452\mu\text{M}$ 2,4-D tanpa BAP, dengan rata-rata jumlah 4 helai dan panjang 1,3cm.

Pembahasan

Persentase eksplan hidup yang mencapai 100 persen menunjukkan, bahwa kondisi lingkungan tumbuh telah sesuai dengan persyaratan kultur *in vitro* untuk tanaman nenas, terutama dari komposisi medium. Pada penelitian ini digunakan komposisi

medium Murashige and Skoog (MS) sebagai medium dasar yang dimodifikasi dengan perlakuan 2,4-D dan BAP.

Keberhasilan teknik kultur jaringan sebagai sarana perbanyakan tanaman sangat dipengaruhi oleh sifat medium yang digunakan, sebagaimana dijelaskan oleh George dan Paul (1984). Ditambahkan oleh Gunawan (1987), bahwa medium kultur tidak hanya menyediakan unsur-unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang biasanya berupa gula guna menggantikan karbon yang biasanya diperoleh dari atmosfer. Hasil yang lebih baik akan diperoleh apabila ke dalam medium ditambahkan pula vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh. Kesemua komponen yang disebutkan di atas telah tercakup di dalam medium tumbuh yang digunakan di dalam penelitian ini.

Tak satupun eksplan yang dikulturkan proliferasi kalus. Semua eksplan langsung menumbuhkan pucuk terminal. Namun demikian, pada perlakuan 0.452 μ M 2,4-D tanpa BAP ternyata terjadi diferensiasi perakaran.

Tidak terbentuknya kalus pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh jaringan yang dikulturkan tidak memiliki kambium. Hal ini konsisten dengan pendapat Gunawan (1987), bahwa salah satu faktor penentu di dalam inisiasi kalus adalah ada atau tidaknya kandungan kambium pada eksplan. Bila eksplan yang digunakan mengandung kambium, maka kalus dapat terbentuk sekalipun tanpa zat pengatur tumbuh. Sebaliknya proliferasi kalus tidak akan terjadi apabila eksplan tidak mengandung kambium, seperti halnya eksplan tunas aksilar mahkota buah nenas pada penelitian ini.

Kemungkinan lain sebagai penyebab tidak terbentuknya kalus adalah dikarenakan jenis eksplan yang digunakan dalam kaitannya dengan dominansi pucuk. Di dalam penelitian ini digunakan eksplan tunas-tunas aksilar yang berasal dari mahkota buah. Pengisolasian tunas-tunas aksilar tersebut menyebabkan hilangnya dominansi pucuk yang tadinya menghambat perkembangan tunas-tunas tersebut. Pierik (1987) menjelaskan, bahwa dengan hilangnya dominansi pucuk memungkinkan tunas-tunas aksilar untuk tumbuh dan berkembang. Hal ini akan lebih nyata lagi apabila ke dalam medium ditambahkan sitokinin. Namun demikian zat pengatur tumbuh ini tidak selalu dibutuhkan oleh tunas-tunas aksilar

untuk perkembangannya. Keadaan demikian nampak pada penelitian ini, di mana baik perlakuan dengan zat pengatur tumbuh maupun tanpa zat pengatur tumbuh, keduanya memperlihatkan adanya inisiasi pucuk dari eksplan yang dikulturkan

Terlihat juga pada penelitian ini, bahwa perlakuan yang diberikan tidak menghasilkan perbedaan pengaruh yang nyata terhadap jumlah daun. Dari data yang diperoleh nampak, bahwa jumlah daun rata-rata masing-masing perlakuan bervariasi antara 7 hingga 9 helai. Jumlah daun rata-rata terbesar diperoleh pada perlakuan 0.045 μ M 2,4-D tanpa BAP serta 0.452 μ M 2,4-D tanpa BAP.

Sementara itu regenerasi perakaran hanya terjadi pada perlakuan 0.452 μ M 2,4-D tanpa BAP. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap perkembangan eksplan yang dikulturkan. Pembentukan pucuk maupun akar adventif, baik secara langsung dari jaringan yang dikulturkan maupun dari kalus dipengaruhi oleh kehadiran auksin dan sitokinin (Gunawan, 1987). Dikemukakan oleh Pierik (1987), bahwa auksin umumnya menyebabkan pemanjangan sel dan pembengkakan jaringan, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif. Pernyataan ini konsisten dengan hasil pengamatan terhadap proliferasi akar, di mana akar yang terbentuk adalah pada perlakuan dengan 2,4-D konsentrasi tertinggi tanpa BAP.

Menurut Gamborg dan Jerry (1981) diferensiasi dapat terjadi pada jaringan yang digunakan sebagai eksplan, di mana pada umumnya akar akan terbentuk apabila terdapat suatu hormon perakaran, yakni auksin. Ditambahkan oleh Evans, Williams dan Christopher (1981) bahwa auksin saja atau dikombinasikan dengan sitokinin konsentrasi sangat rendah berperan penting di dalam induksi primordia akar. Hal ini juga sejalan dengan pendapat Widiastoety (1987) yang mengemukakan, bahwa akar akan terbentuk pada eksplan apabila kadar auksin lebih tinggi daripada sitokinin. Sementara itu Skoog dan Miller (1957 dalam Wiendi, Winata dan Munandar, 1987) menemukan, bahwa auksin dapat merangsang pertumbuhan primordia akar dan kombinasinya dengan sitokinin dalam berbagai perbandingan akan menghasilkan pola pertumbuhan akar yang berbeda. Pertumbuhan akar akan meningkat apabila kadar auksin lebih tinggi daripada sitokinin.

Pada penelitian ini juga tidak terbentuk tunas-tunas majemuk. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh adanya dominansi pucuk dari plantlet-plantlet yang dihasilkan sehingga menghambat pertumbuhan tunas aksilar. Kemungkinan lain adalah tingkat konsentrasi sitokinin yang diberikan masih tergolong rendah untuk kebutuhan eksplan, sehingga tidak mampu mengatasi dominansi pucuk. Hal ini konsisten dengan penjelasan Pierik (1987), bahwa meristem pucuk akan membatasi pertumbuhan tunas-tunas aksilar. Namun dengan adanya penambahan sitokinin, tunas-tunas tersebut dapat tumbuh dan berkembang. Akan tetapi nampaknya konsentrasi sitokinin yang digunakan pada penelitian ini belum mencukupi untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan tunas-tunas aksilar plantlet nenas.

Lebih-kurang 5 bulan setelah inokulasi, eksplan-eksplan yang dikulturkan memperlihatkan gejala *browning* yang dimulai dari daun sebelah bawah. Keadaan demikian menunjukkan adanya defisiensi unsur hara, mengingat usia kultur yang sudah cukup lama sehingga kemungkinan besar unsur-unsur hara penyusun komposisi medium habis terserap oleh eksplan yang tumbuh semakin besar.

Kesimpulan

Regenerasi pucuk dari eksplan tunas aksilar mahkota buah nenas dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP ke dalam medium tumbuh,

Regenerasi pucuk dari eksplan tunas aksilar mahkota buah nenas tidak tergantung pada perbandingan 2,4-D dan BAP. Namun demikian, untuk menghasilkan regenerasi perakaran dibutuhkan proporsi 2,4-D yang lebih tinggi daripada BAP.

Untuk menghasilkan plantlet utuh dari eksplan tunas aksilar mahkota buah nenas, diperlukan kehadiran 2,4-D dengan konsentrasi 0.452 μ M tanpa BAP.

Daftar Pustaka

Anonim. 1983. Pengembangan produksi hortikultura. Direktorat Jendral Pertanian Tanaman Pangan, Departemen Pertanian R.I., Jakarta.

Ansori, N., Wattimena, G.A., Winata, L. dan Solahuddin, S. 1990. Pengaruh auksin (IAA dan 2,4-D) dan zat penghambat tumbuh (Ancyimidol) terhadap regenerasi kalus *Dianthus caryophyllus* L. *Buletin Agronomi Institut Pertanian Bogor*, 19:17-24.

Evans, A.D., William, R.S. and Christopher, E.F. 1981. Growth and behaviour of cell cultures: embryogenesis and organogenesis, p. 45-114. *In* Thorpe, A.T. (Ed). *Plant tissue culture: methods and application in agriculture*. Academic Press Inc., New York.

Gamborg, L.O. and Jerry, P.S. 1981. Nutrition, media and characteristic of plant cell and tissue culture, p. 21-44. *In* Thorpe, A.T. (Ed). *Plant tissue culture: methods and application in agriculture*. Academic Press Inc., New York.

George, F.E. and Paul, D.S. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Limited, England.

Gunawan, W.L. 1987. Teknik kultur jaringan. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Morel, G.M. 1960. Producing virus-free *Cymbidium*. *The American Orchid Society Bulletin*, 29:495.

Pierik, M.L.R. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherland.

Pracaya. 1982. Bertanam nenas. P.T. Penebar Swadaya, Jakarta.

Tahardi, S. 1985. Kultur jaringan tanaman coklat. *Menara Perkebunan*.

Wiendi, N.M.A., L. Winata dan A. Munandar. 1987. Pengaruh NAA dan kinetin terhadap pertumbuhan dan perkembangan jaringan asparagus dalam kultur aseptik. *Buletin Peragi*, 25(1 & 2):37-44

Widiastoety, D. 1987. Perbanyak tanaman buah-buahan dengan kultur jaringan. *Makalah* pada Kursus Singkat Tanaman Buah-buahan Tropis, 5 - 19 Nopember 1987. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. 8hal.

Winata, L. 1984. Kultur jaringan dan perkembangannya di Jurusan Budi Daya Pertanian IPB, Bogor. *Buletin Agronomi*, 1 & 2:10- 22.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan R.I. atas dana yang diberikan guna pelaksanaan penelitian ini.

¹ Berturut-turut adalah Staf Pengajar pada Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi.