

**PENGARUH INDOL-3-BUTIRIC-ACID DAN THIDIAZURON
TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS NENAS (*Ananas comosus* (L) Merr)
CV. SMOOTH CAYYENE SECARA IN VITRO**

Mohammad Syafii¹, Kaswan Badami¹, Fatimah Nursandi²

¹ Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo Madura

² Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang

Abstrak: *Pineapple (*Ananas comosus* L.) is one of the most potential fruit crop cultivating in Indonesia. However, it is difficult to meet the demand for planting materials using the conventional propagation techniques due to production inefficiency. This research aim to know the influence solid medium of Murashige and Skoog (MS) composed of Indol-3-Butiric Acid and Thidiazuron, upon pineapple Var Smooth Cayenne shoot multiplication response. Shoot multiplication using a factorial complete random design. The first is a 3-level IBA concentration (0.3 ppm, 0.6 ppm, 0.9 ppm), a 3-level TDZ concentration (0.2 ppm, 0.4 ppm, 0.6 ppm). The finding shows that MS richly composed IBA and TDZ with low concentration gives 100% shoot the fastest periodic appearance (two weeks after incubation). Varians analysis finding shows that there is no interaction between IBA and TDZ. Low IBA concentration gives the highest quantity of shoot 9.32 (5.60 data transformation) at 5 week after incubation, at the end of the analysis tends to give the highest shoot 11.17 (6.18 data transformation) even though it is statistically not slightly difference. The highest TDZ concentration (0,6 ppm) give a few number of roots 0.89 (2,65 data transformation) and the lowes shoots leaf 3.84 (4.04 data transformation). The higher the TDZ is, the more nodal may appear.*

Kata Kunci: *Ananas comosus*, IBA, In Vitro, multiplication, TDZ

PENDAHULUAN

Salah satu kultivar tanaman nenas yang banyak dibudidayakan adalah nenas cv Smooth Cayenne. Kelebihan nenas kultivar ini adalah kulit mata besar tetapi rata karena dangkal, mengandung banyak air, rasa manis, serta mahkota buah tidak berduri. Sehingga nenas cv Smooth Cayenne cocok sebagai bahan nenas kaleng, sirup, dan sari buah (Cahyana, 2006).

Kebutuhan bibit nenas untuk memproduksi buah segar adalah 60.000-100.000/ha, sedangkan untuk pengalengan sebesar 40.000 sampai 50.000/ha (Samsons, 1980). Kendala utama penyediaan bibit nenas terutama cv Smooth Cayenne adalah jumlah anakan yang terbatas. Hal ini dikarenakan sulit memperoleh lebih dari 2 tunas setiap tanaman untuk dijadikan bibit (Selamat, 1996). Mikropropagasi tanaman nenas telah diadopsi untuk produksi nenas komersial, khususnya untuk kultivar Smooth Cayenne yang tidak mudah diperbaiki melalui pemuliaan secara konvensional (Smith *et al.*, 2005).

Keberhasilan pendekatan mikropropagasi tanaman nenas untuk mendukung penyediaan bibit nenas secara massal telah banyak dilaporkan. Zapeda dan Sagawa (1981), aplikasi teknik kultur jaringan minimal menghasilkan 5.000 planlet dan dapat diproduksi dalam waktu 12 bulan hanya dari satu mahkota buah. Penggunaan media cair dengan menggunakan satu pucuk menghasilkan 200 tunas dalam waktu 12-15 minggu. Masing masing tunas dapat di sub kultur kembali untuk memproduksi lebih banyak lagi tunas. Dapat dispekulasikan bahwa satu mahkota buah memungkinkan untuk menghasilkan sekitar 10.000 tanaman dalam 9 bulan (Mhatrc dan Rao, 2002). Danso *et al.*, (2008) juga melaporkan bahwa media yang diperkaya 7,5 mg l⁻¹ dan 2 g/l NAA menggunakan bagian dasar eksplan nenas MD2 yang terdiri dari dua atau tiga *proliferasi* tunas mampu menghasilkan 28,5 dan 16,1 planlet masing masing hanya dalam satu sub kultur..

Optimalisasi media menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin, baik secara terpisah ataupun dikombinasikan sebagai media multiplikasi tunas nenas telah dilakukan. Penggunaan BAP (benzilaminopurin) pada konsentrasi 2,0 mg/l diketahui memberikan jumlah tunas terbaik, yaitu 23 tunas

dari eksplan mahkota buah (*crown*) nenas cv Smooth Cayenne pada sub kultur kedua selama inkubasi dua bulan (Al-Saif *et al.*, 2011). Penggunaan sitokinin golongan adenine yaitu BA (benzyl adenine) 2 mg/l⁻¹ menggunakan eksplan *slips* sub kultur pertama memberikan rata rata multiplikasi tunas sebanyak 13,17 dalam waktu enam minggu (Ayenew *et al.*, 2013). Meskipun demikian Ibrahim *et al.*, (2013) mengemukakan bahwa penggunaan sitokinin dari golongan kinetin justru lebih efektif dibandingkan penggunaan BA. 2 µM TDZ yang dikombinasikan dengan 2 µM NAA memberikan jumlah nodul nenas cv Smooth Cayenne terbanyak (Enggaringati, 2006). Sedangkan Nursandi *et al.*, (2006) melaporkan bahwa eksplan tunas nenas cv Smooth Cayenne pada media MS dengan 0,23-0,46 µM TDZ memproduksi 56 sampai 65 tunas per eksplan dalam waktu 31 minggu.

Penggunaan auksin NAA dan IAA (asam indol asetat) lebih banyak digunakan untuk menginduksi tunas. Sedangkan sumber auksin indol-3-butiric acid (IBA) dalam perbanyakan nenas secara in vitro terbatas sebagai media induksi perkaratan. Penggunaan IBA dan BA pada kegiatan multiplikasi *Simmondsia chinensis* yang menggunakan eksplan nodul memberikan hasil kurang bagus dengan memberikan jumlah tunas paling sedikit (Bashir *et al.*, 2007). Berbeda pada respon tanaman jarak pagar (*Jathropa curcas* L.), kombinasi 2,22 µM BA dan 0,049 µM IBA merupakan perlakuan multiplikasi tunas terbaik, dengan menghasilkan 5,9 tunas aksilar dalam enam minggu (Thepsamran *et al.*, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh IBA dan thidiazuron terhadap multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayenne secara in vitro.

METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan Mitra Anggrek Indonesia Junrejo Batu Malang. Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan nenas cv Smooth Cayenne berasal dari perbanyakan kultur jaringan sub kultur ke-3 dalam media MS0 (tanpa zat pengatur tumbuh). Bagian eksplan yang digunakan adalah pangkal batang, dengan ukuran ± 0,5 cm.

Media Tumbuh

Media yang digunakan adalah media Murashige and Skoog diperkaya glukosa 30 gr/l dan zat pengatur tumbuh auksin IBA (indol-3-butiric acid) dan sitokinin thidiazuron (TDZ). Prosedur pembuatan media mengacu pada Santoso dan Nursandi (2004). Semua larutan yang dibutuhkan sudah terlebih dahulu dibuat dalam larutan stok. Larutan stok unsur hara makrodibuat dalam kepekatan 10 kali. Stok mikro dan FeSO₄.7H₂O dan NA₂EDTA dibuat dalam kepekatan 10 kali. Sedangkan larutan stok vitamin dibuat 100 kali.

Sterilisasi

Media yang telah dibuat kemudian disterilisasi dalam autoclave (suhu 121 °C dan tekanan 1,5 atm) selama 15 menit. Setelah itu media diletakkan dalam ruang inkubasi untuk melihat tingkat keberhasilan sterilisasi. Inokulasi eksplan dilakukan 3 hari setelah media dibuat.

Inokulasi

Inokulasi dilakukan dalam laminar air flow (LAF), sebelumnya telah dilakukan penataan peralatan dalam kegiatan inokulasi. Semua peralatan yang telah disterilisasi dalam autoclave disinari lampu UV selama satu jam dalam LAF. Inokulasi eksplan dilakukan dengan memisahkan masing masing tanaman nenas dari botol kultur. Sebelumnya, pangkal batang dibersihkan dari daun dan juga sisa media agar. Cara membersihkan eksplan dari daun dan juga membuat ukurannya seragam adalah dengan memotong tepat dibawah daun terakhir dan memotong sedikit bagian pangkal tanaman nenas. Selain itu dilakukan pembelahan bagian titik tumbuh nenas. Hal ini dilakukan agar pertumbuhan tunas apikal dapat dihambat, sehingga pembentukan tunas aksilar menjadi optimal.

Inkubasi Eksplan

Botol berisi eksplan diinkubasi dan diletakkan dalam rak kultur dengan pencahayaan dibantu oleh lampu TL. Inkubasi dilakukan sampai penelitian berakhir yaitu selama 7 minggu. Pengamatan dilakukan setiap 1 minggu sekali.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 faktor perlakuan yang disusun secara rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin (IBA) terdiri atas 3 taraf yaitu A1 (0.3 ppm), A2 (0.6 ppm), dan A3 (0.9 ppm). Faktor kedua adalah konsentrasi sitokinin (TDZ) dengan tiga taraf perlakuan S1 (0,2 ppm), S2 (0.4 ppm), S3 (0.6 ppm).

Pengambilan data dilakukan secara non-destruktif serta dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan kualitatif berkaitan dengan keadaan eksplan dan respon visual yang dimunculkan eksplan. Variabel pengamatan yang diamati secara kuantitatif antara lain persentase muncul tunas, jumlah daun setiap tunas, jumlah akar, jumlah nodul.

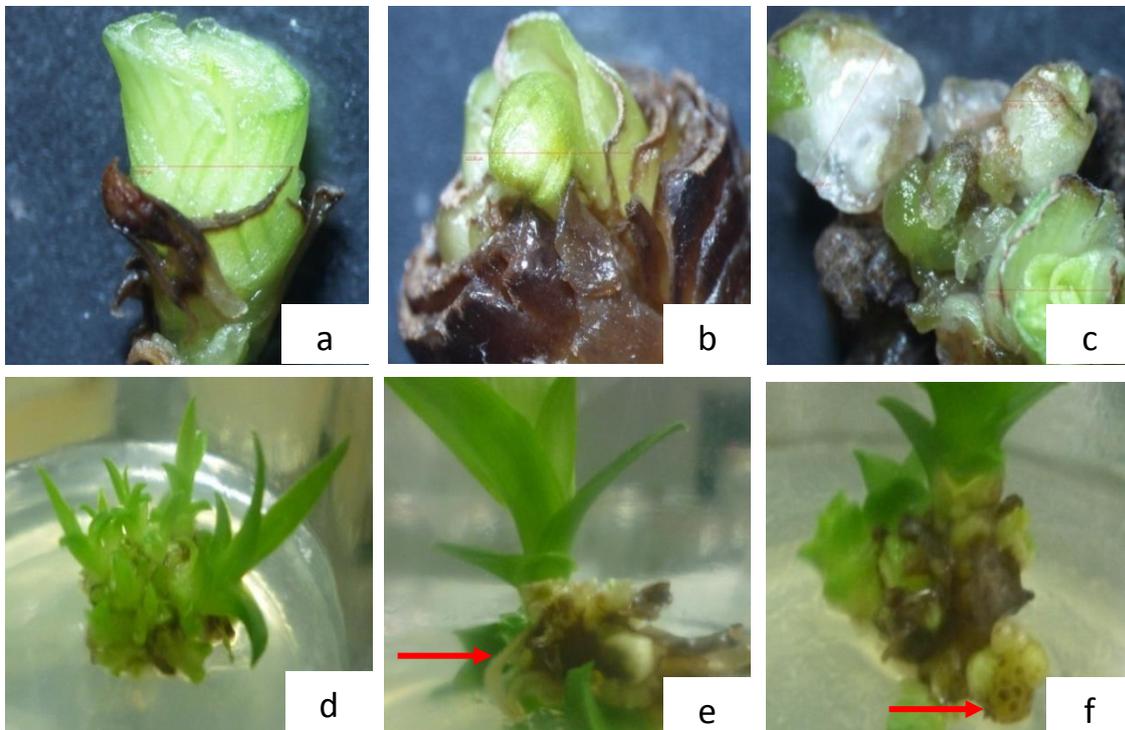
Data dianalisis menggunakan analisis sidik ragam, jika ada perbedaan nyata dilakukan uji lanjut Duncan 5%. Transformasi data yang digunakan mengacu pada (Hanafiah, 2008; Sasrosapudi, 2000). Selain itu dilakukan pengamatan terhadap keadaan planlet yang diamati secara visual.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan Kultur

Pengamatan pada 1 MSI planlet nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv Smooth Cayenne hanya merespon pembentukan tunas aksilar. Daun baru terbentuk pada minggu ke-2, inisiasi akar membutuhkan waktu lebih lama yaitu 6 MSI, sedangkan nodul muncul saat pengamatan terakhir (7 MSI).

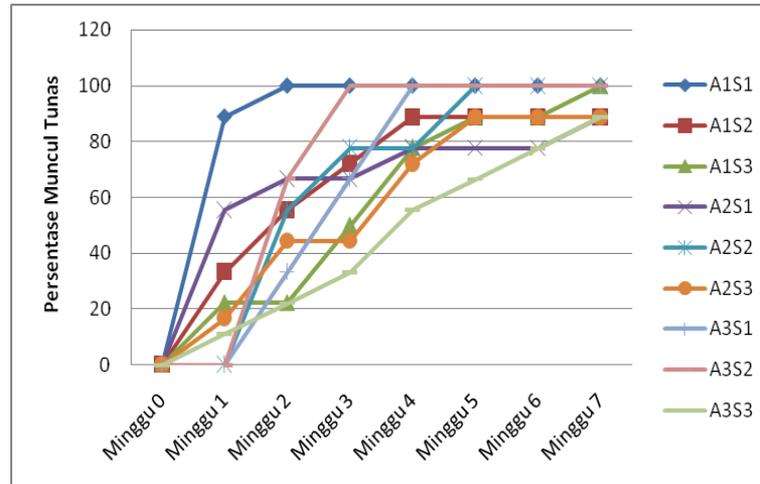
Eksplan nenas cv Smooth Cayenne yang diinokulasi dalam media MS diperkaya berbagai konsentrasi IBA dan TDZ menunjukkan pola perkembangan awal sama. Eksplan pangkal batang nenas yang telah dihambat perkembangan dominasi apikal dengan membelah tepat pada titik tumbuh membuat arah perkembangan tunas aksilar menjadi aktif. Keadaan tersebut terlihat dari respon bagian pangkal daun dekat titik tumbuh terlihat tetap berwarna hijau dan memanjang, diikuti merekahnya pangkal batang (Gambar 1b). Bagian pangkal daun yang merekah memunculkan tunas sebagai respon pemberian zat pengatur tumbuh (Gambar 1c).



Gambar 1. Perkembangan Planlet Nenas Cv Smooth Cayenne. (a) Eksplan Asal (b) Respon Awal (c) Tunas Muncul Dari Ketiak Daun (d) Multiplikasi Tunas (e) Akar Planlet (f) Nodul

Waktu dan Persentase Muncul Tunas

Pemberian 0,3 ppm IBA dan 0,2 ppm TDZ (A1S1) memberikan respon muncul tunas tercepat. Perlakuan A2S2 (0,9 ppm IBA dan 0,4 ppm TDZ), A3S2 (0,9 ppm IBA dan 0.4 ppm TDZ), dan A3S3 (0.9 ppm IBA dan 0.6 ppm TDZ) memberikan respon waktu muncul tunas paling lambat. Perlakuan A1S1 (0,3 ppm IBA dan 0,2 ppm TDZ) dan A3S2 (0,9 ppm dan 0.4 ppm TDZ) memunculkan tunas 100% pada minggu ke-3. Perlakuan A3S3 (0,9 ppm IBA dan 0,6 ppm TDZ) memberikan respon muncul tunas paling lambat.



Gambar 2. Persentase Eksplan Muncul Tunas

Jumlah Tunas

Berdasarkan analisis sidik ragam terhadap jumlah tunas, diketahui bahwa penggunaan IBA dan TDZ terhadap multiplikasi eksplan nenas cv Smooth Cayenne tidak memunculkan interaksi pada semua pengamatan.

Tabel 1: Rata Rata Jumlah Tunas Akibat Perbedaan Konsentrasi IBA dan TDZ

| Perlakuan | Pengamatan Ke | | | | | | |
|-----------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 1 MSI | 2 MSI | 3MSI | 4MSI | 5 MSI | 6 MSI | 7 MSI |
| A1 | 3.32 b | 3.80 a | 4.65 b | 5.42 b | 5.60 b | 5.66 a | 6.10 a |
| A2 | 2.32 a | 3.23 a | 3.65 a | 4.22 a | 4.71 a | 4.84 a | 5.38 a |
| A3 | 2.23 a | 3.17 a | 3.53 a | 4.27 a | 4.35 a | 4.72 a | 5.28 a |
| UJD 5% | ** | ns | ** | * | * | Ns | ns |
| S1 | 2.98 a | 3.86c | 4.14 b | 5.14b | 5.49 a | 5.64 a | 6.23 a |
| S2 | 2.43 a | 3.52 b | 4.25 c | 4.50a | 4.59 a | 4.73 a | 5.08 a |
| S3 | 2.45 a | 2.82 a | 3.44 a | 4.09a | 4.59 a | 4.85 a | 5.44 a |
| UJD 5% | ns | * | ** | * | ns | ns | ns |

Keterangan:

- “*” berbeda nyata, “**” berbeda sangat nyata, “ns” tidak berbeda nyata berdasarkan analisis sidik ragam.
- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan UJD 5%.

Pemberian 0,3 ppm IBA memberikan respon paling baik dibandingkan konsentrasi IBA yang lain. Respon pemberian IBA terhadap peningkatan multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayenne cenderung berbanding terbalik. Semakin tinggi pemberian IBA semakin rendah proses multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayenne. TDZ dengan konsentrasi 0,2 ppm (paling rendah) memberikan hasil terbaik pada beberapa waktu

inkubasi (2 MSI dan 4 MSI). Jumlah tunas terendah terdapat pada perlakuan S3 (0.6 ppm TDZ) kecuali pada pengamatan 1 MSI.

Jumlah Daun Setiap Tunas

Tidak terjadi interaksi antara pemberian IBA dan TDZ pada jumlah daun nenas cv Smooth Cayenne sampai pengamatan 7 minggu setelah inokulasi (MSI). Secara terpisah pemberian IBA tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun setiap tunas. Sedangkan pengaruh tunggal TDZ memberi pengaruh nyata terhadap jumlah daun setiap tunas pada pengamatan 7 MSI. Pemberian TDZ 0.4 ppm (S2) dan 0,2 ppm (S1) memberikan jumlah daun tertinggi, berbeda sangat nyata dibandingkan perlakuan S3 (0,6 ppm).

Tabel 2: Rata Rata Jumlah Daun Setiap Tunas Akibat Perbedaan Konsentrasi IBA dan TDZ

| Perlakuan | Pengamatan ke | | | | |
|-----------|---------------|--------|--------|--------|--------|
| | 3 MSI | 4 MSI | 5 MSI | 6 MSI | 7 MSI |
| A1 | 2.45a | 3.19 a | 3.41 a | 4.14 a | 4.48 a |
| A2 | 3.05a | 3.47 a | 3.66 a | 4.39 a | 4.43 a |
| A3 | 2.53 a | 3.33 a | 3.76 a | 4.21 a | 4.60 a |
| UJD 5% | ns | ns | Ns | ns | ns |
| S1 | 2.99 a | 3.50 a | 4.00 a | 3.99 a | 4.61 b |
| S2 | 2.71 a | 3.60 a | 3.89 a | 5.04 a | 4.87 b |
| S3 | 2.32 a | 2.89 a | 2.94 a | 3.17 a | 4.04 a |
| UJD 5% | ns | ns | ns | ns | ** |

Keterangan:

- “*” berbeda nyata, “***” berbeda sangat nyata, “ns” tidak berbeda nyata berdasarkan analisis sidik ragam.
- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan UJD 5%.

Jumlah Akar

Tabel 3: Jumlah Akar Akibat Perbedaan Konsentrasi IBA dan TDZ

| Perlakuan | Pengamatan ke | |
|-----------|---------------|--------|
| | 6 MSI | 7 MSI |
| A1 | 0.50 | 3.87 a |
| A2 | 0.39 | 3.55 a |
| A3 | 0.06 | 2.87 a |
| UJD 5% | - | ns |
| S1 | 0.28 | 3.44 b |
| S2 | 0.61 | 4.20 b |
| S3 | 0.06 | 2.65 a |
| UJD 5% | - | * |

Keterangan:

- “*” berbeda nyata, “***” berbeda sangat nyata, “ns” tidak berbeda nyata.
- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan UJD 5%.

Akar nenas cv Smooth Cayenne muncul 5 minggu setelah inokulasi. Pengaruh tunggal dari berbagai konsentrasi IBA yang diberikan (0,3 ppm, 0,6 ppm, 0,9 ppm) tidak memberikan perbedaan nyata terhadap jumlah akar pada semua waktu pengamatan. Sedangkan pengaruh tunggal TDZ memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah akar pada 7 MSI. Perkembangan pesat jumlah akar terjadi pada 7 MSI dengan menghasilkan rata rata 0,9 sampai 3,8 akar/eksplan. TDZ konsentrasi 0,4 ppm (A2) pada media MS padat memberikan jumlah akar terbanyak yaitu 4,20, tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,2 ppm TDZ (A1).

Pemberian TDZ konsentrasi 0,6 ppm memberikan jumlah akar paling sedikit yaitu 2,65 berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Jumlah Nodul

Pertumbuhan nodul baru terdeteksi setelah planlet telah berumur 7 MSI. Berdasarkan analisis sidik ragam terhadap jumlah nodul, diketahui bahwa tidak terdapat interaksi IBA dan TDZ terhadap jumlah nodul. Pengaruh tunggal masing masing perlakuan juga tidak berbeda nyata.

Tabel 4: Rata Rata Jumlah Nodul Akibat Perbedaan Konsentrasi IBA dan TDZ

| Perlakuan | Pengamatan ke |
|-----------|---------------|
| | 7 MSI |
| A1 | 3.50 a |
| A2 | 2.61 a |
| A3 | 2.17 a |
| UJD 5% | ns |
| S1 | 2.77 a |
| S2 | 1.83 a |
| S3 | 3.67 a |
| UJD 5% | ns |

Keterangan:

- “*” berbeda nyata, “**” berbeda sangat nyata, “ns” tidak berbeda nyata berdasarkan analisis sidik ragam.
- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan UJD 5

Pembahasan

Regenerasi eksplan nenas cv Smooth Cayyene dapat terjadi secara langsung ataupun tidak langsung melalui perkembangan nodul. Pada kegiatan multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayyene menggunakan 0,5-2,0 µM NAA sebagai sumber zat pengatur tumbuh dilaporkan membuat arah regenerasi eksplan terjadi langsung dan tidak langsung (Rosmaina, 2007). Dalam penelitian ini, penggunaan eksplan pangkal batang nenas cv Smooth Cayyene yang diinokulasi kedalam media MS padat dengan berbagai konsentrasi IBA dan TDZ membuat regenerasi eksplan terjadi secara langsung. Regenerasi eksplan secara langsung memiliki keunggulan secara genetik karena tunas majemuk (ganda) yang terbentuk lebih stabil secara genetik sehingga akan meminimalisasi variasi somaklonal yang mungkin terjadi selama proses perbanyakannya secara in vitro (Lestari, 2011).

Penggunaan TDZ dan IBA pada penelitian ini memberikan total jumlah eksplan bertunas sebesar 95,06%. Kegagalan beberapa eksplan untuk membentuk tunas disebabkan oleh gejala nekrosis dan klorosis. Penggunaan zat pengatur TDZ diduga menjadi salah satu pemicu terjadinya nekrosis dan klorosis pada eksplan. Meskipun demikian persentase eksplan mengalami gejala tersebut cukup rendah (4,94%). Başalma *et al.*, (2008) melaporkan bahwa pada morfogenesis kultur *Chartamus tinctorius* L. yang menggunakan kotiledon atau tipe eksplan lain tidak ditemukan adanya abnormalitas, nekrosis atau klorosis. Hal ini karena penggunaan IBA yang dikombinasikan dengan TDZ mungkin merupakan perlakuan terbaik untuk mengeliminasi sekresi substansi fenolik, dan efek ini mungkin juga disebabkan oleh oksidasi fenol oleh auksin oksidase.

Proses multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayenne pada masing masing perlakuan, tidak menunjukkan adanya interaksi antara pemberian IBA dan TDZ. Hal ini terjadi pada semua parameter pengamatan dan selama proses penelitian dilakukan. Menurut Murti *et al.*, (2012), pengaruh interaksi antara IBA dan TDZ pada parameter morfologi planlet mungkin berkaitan dengan akumulasi zat pengatur tumbuh, sementara efeknya telah terjadi pada tahap kultur sebelumnya. Sehingga hal yang sama juga terjadi pada kegiatan kultur strawberi albion (*fragaria x ananassa*) yang tidak ditemukan adanya interaksi antara TDZ dan IBA kecuali pada pengamatan berat basah. Penggunaan TDZ yang dikombinasikan dengan IAA pada multiplikasi pisang raja bulu grub AAB juga tidak terjadi interaksi pada jumlah akar dan jumlah tunas

(Isnaeni, 2008). Hal ini mengindikasikan bahwa interaksi antara pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin tergantung jenis tanaman, asal eksplan, serta konsentrasi yang diberikan.

Secara terpisah pemberian IBA konsentrasi rendah (0,3 ppm) memberikan pengaruh paling baik terhadap parameter jumlah tunas dibandingkan perlakuan lain. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, semakin menurunkan jumlah tunas yang terbentuk. Meskipun mekanisme IBA dalam menginduksi terbentuknya tunas dalam kegiatan multiplikasi tunas belum terungkap, Bertoni (2011) berspekulasi bahwa IBA merupakan perantara dalam *de novo* pathway sintesis IAA. Penggunaan IBA sebagai sumber auksin juga dianggap lebih baik dibandingkan IAA karena secara signifikan lebih stabil dan tidak banyak mengalami degradasi dalam proses autoclave (Scootet *et al.*, 1990).

Guo *et al.*, (2011) mengemukakan bahwa fraksi TDZ memainkan peranan penting seperti morfogenesis. Konsentrasi yang lebih rendah menginduksi proliferasi tunas aksilar, sedangkan sedikit lebih tinggi menyebabkan perkembangan tunas adventif. Jika dibandingkan dengan fitohormon lain TDZ lebih efektif pada konsentrasi 10 sampai 1000 kali lebih sedikit. Lebih lanjut Trigano dan Grey (2011) mengemukakan bahwa TDZ pada kondisi yang jauh lebih rendah daripada jenis adenin lainnya digunakan untuk pembentukan tunas adventif. Pada kegiatan multiplikasi tunas nenas cv Smooth Cayenne menggunakan eksplan berupa pangkal batang dalam penelitian ini, konsentrasi TDZ terendah (0,2 ppm) juga memberikan jumlah tunas terbaik dibandingkan perlakuan lain kecuali pada 3 MSI. Sedangkan pemberian TDZ konsentrasi tinggi 0,9 ppm memberikan jumlah terendah sampai 4 MSI. Konsentrasi TDZ sangat rendah yaitu 0,01 ppm juga dilaporkan memberikan pembentukan tunas secara langsung pada tanaman *Albelmoschus moschatus* (Sharma dan Anwar, 2008). Penggunaan sitokinin golongan BAP untuk multiplikasi nenas cv Smooth Cayenne dilaporkan membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi (1,75 ppm, 2,25 ppm dan 3,5 ppm) untuk menginduksi tunas terbaik (12 tunas) (Al-Saif *et al.*, 2011).

Pada awal pertumbuhan (1 MSI) tunas yang muncul tidak langsung membentuk daun. Daun baru muncul pada 2 MSI, meskipun tidak semua tunas yang muncul membentuk daun. Hal tersebut membuat jumlah daun setiap tunas pada minggu awal tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Eksplan masih terus memproduksi tunas, tetapi tidak diimbangi pembentukan daun baru. Konsekuensi dari hal tersebut adalah fluktuasi data jumlah daun setiap tunas seperti pada data pada pengamatan 5 MSI dan 6 MSI.

Salah satu fungsi auksin pada pembentukan daun adalah membantu perkembangan jaringan meristem calon daun (Arimasetiowati dan Fitria, 2012). Meskipun demikian pada perlakuan IBA secara tunggal pada berbagai konsentrasi tidak menunjukkan terjadinya perbedaan yang signifikan berdasarkan analisis sidik ragam. Perlakuan TDZ konsentrasi lebih rendah (0,2 ppm dan 0,4 ppm) memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan dengan pada perlakuan S3 dengan konsentrasi TDZ sebesar 0,6 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah tunas yang banyak belum tentu menghasilkan jumlah daun yang banyak pula.

Menurut Rosmaina (2011) eksplan yang memiliki laju multiplikasi tinggi, jika dihubungkan akan menghasilkan jumlah daun relatif sedikit. Berbeda dengan Hutchinson *et al.*, (2010) bagaimanapun konsentrasi TDZ tinggi (5,0 μ M) secara signifikan mereduksi jumlah tunas yang dibentuk, tetapi tidak memiliki pengaruh nyata terhadap jumlah daun setiap tunas yang dibentuk eksplan *Alstroemeria aurantiaca* cv. Rosita. Pada eksplan lidah buaya (*Aloe vera*), penambahan sitokinin (BAP) juga tidak nampak pada pertumbuhan jumlah daun. Penambahan BAP yang terlalu tinggi justru menghambat pertumbuhan daun (Sari, 2005).

Pemberian IBA tunggal pada rentang 0,2 ppm, 0,4 ppm, dan 0,6 ppm tidak memberikan jumlah akar yang berbeda nyata. Hasil penelitian Hamad *et al.*, (2013) menggunakan IBA sebagai media perakaran nenas cv smooth cayenne dengan rentang konsentrasi lebih tinggi yaitu 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L, dan 2,5 mg/L juga dilaporkan memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Pemberian thidiazuron (TDZ) konsentrasi tinggi pada perlakuan ini seperti terlihat pada perlakuan S3 (0,6 ppm) menghambat pembentukan akar. Hal ini selaras dengan hasil penelitian Anwar (2007) pemberian TDZ yang semakin tinggi justru menekan pertumbuhan akar nenas cv Smooth Cayenne.

Nodul yang baru terbentuk berwarna putih dan kompak dan dalam setiap nodul dapat memunculkan lebih dari satu nodul (Gambar 1f). Nodul mirip dengan kalus, memiliki karakteristik proliferasi nodul baru dan regenerasi membentuk tunas. Selama proliferasi nodul baru, tunas keluar dari nodul tua. Kurang lebih 70%

dari nodul beregenerasi menjadi tunas (Teng, 1994). Firoozabady dan Moy (2004) mengemukakan bahwa pemberian TDZ dengan atau tanpa 0,5 μ M IBA dapat memunculkan struktur nodul globular yang optimal.

Semakin tinggi konsentrasi IBA pada media MS padat menunjukkan kecenderungan penghambatan jumlah nodul yang terbentuk meskipun secara statistik tidak berbeda nyata. Berbeda dengan media MS padat yang diperkaya konsentrasi TDZ (0,2 ppm, 0,4 ppm, dan 0,6 ppm). Semakin tinggi jumlah TDZ yang diberikan cenderung menghasilkan jumlah nodul lebih tinggi meskipun secara statistik tidak berbeda nyata. Hal ini mengindikasikan bahwa TDZ konsentrasi tinggi menghambat pembentukan tunas, tetapi justru meningkatkan proliferasi nodul nenas cv Smooth Cayenne.

KESIMPULAN

1. Eksplan pangkal batang nenas (*Ananas comosus* (L) Merr) cv Smooth Cayenne memberikan respon beragam terhadap media MS pada yang diperkaya IBA dan TDZ pada konsentrasi.
2. Tidak terjadi interaksi antara pemberian IBA dan TDZ dalam multiplikasi tunas nenas Smooth Cayenne yang ditumbuhkan dalam media MS padat sampai 7 MSI.
3. Pemberian kombinasi 0,3 ppM IBA dan 0,2 ppm TDZ memberikan pengaruh persentase muncul tunas terbaik. Secara tunggal pemberian IBA konsentrasi 0,3 ppm memberikan jumlah tunas terbaik pada 5 MSI sebanyak 5,60. Pemberian TDZ secara tunggal menghasilkan jumlah tunas tertinggi sebesar 5,14 pada 4 MSI. Pemberian 0,2 ppm TDZ dan 0,4 ppm TDZ memberikan jumlah daun setiap tunas, dan jumlah akar tertinggi dibandingkan pemberian TDZ konsentrasi tinggi (0,6 ppm).

Daftar Pustaka

- Al-Saif AM, Sharif ABMH, Rosna MT. 2011. Effect of Benzilaminopurine and Naphtalena Acetic Acid on Proliferasi and Shoot Growth of Pineapple. (*Ananas comosus* L. Merr) In Vitro. African Journal of Biotechnology Vol. 10(27).pp 5291-5295.
- Anwar N. 2007. Pengaruh Media Multiplikasi Terhadap Pembentukan Akar Pada Tunas In Vitro Nenas (*Ananas comosus* (L) Merr.) cv. Smooth Cayenne di Media Pengakaran. [Skripsi] Prodi Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih Fakultas Pertanian IPB: Bogor
- Arimasetiowati R dan Fitria A. 2012. Pengaruh Penambahan Auksin Terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyakkan Somatik Embriogenesis. Pelita Perkebunan Vol. 28(2):82-90.
- Ayenev B, Tewodros T, Elias G, Ayelign M, Wondyifraw T. 2013. Efficient Use of Temporary Immersion Bioreactor (TIB) on Pineapple (*Ananas comosus* L.) Multiplication and Rooting Ability. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science Vol. 2(4):2456-2465.
- Başalma D, Serkan U, Semra M, Özer K. 2008. TDZ x IBA Induce Shoot Regeneration from Cotyledonary Leaves and In Vitro Multiplication in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). African Journal of Biotechnology Vol. 7(8): 960-966.
- Bertoni G. 2011. Indolbutiryc Acid-Derivade Auxin and Plant Development. The Plant Cell Vol. (23):845.
- Bhasir MA, Rashid H, Anjum MA. 2007. In vitro Shoot Multiplication of Six Promising Strains of Jojoba (*Simmondsia chinensis*). Biotechnology Vol. (6) 3: 309-315.
- Cahyana D. 2006. Nanas Deli Raksasa dari Tanah Datar. Trubus 440 Juli 2006/XXXVII: pp 106-107.
- Danzo KE, KO Ayeh, V Oduro, S Amiteye, HM Amoatey. 2008. Effect of 6-Benzilaminopurine and α -Naphthalene Acetic Acid on In Vitro Production of MD2 Pineapple Planting Materials. World Applied Sciences Journal Vol. 3(4): pp 614-619 ISSN 1818-4952.
- Firoozabady E dan Moy Y. 2004. Regeneration of Pineapple Plants Via Somatic Embriogenesis and Organogenesis. In Vitro Cell. Dev. Biol._Plant Vol. 40: 67-74.
- Guo B, Bilal HA, Amir Z, Xu LL, Wei YH. 2011. Thidiazuron: A Multi-Dimension Plant Growth Regulator. African Journal of Biotechnology Vol. 10(45): 8984-9000.

- Hamad AHM, Taha RM, Mohajer S. 2013. In Vitro Induction and Proliferation of Adventitious Roots in Pineapple (*Ananas comosus* L.) Cultivars Smooth Cayenne and Morris. Australian Journal of Crop Science Vol. 7(7): 1038-1045.
- Hutchinson MJ, Onamu R, Kipkosgei L, Obukosia SD. 2010. Effect of Thidiazuron, NAA, and BAP on In Vitro Propagation of *Alstroemeria aurantiaca* cv. Rosita From Shoot Tip Explants. JGST Vol. 12(2):60-69.
- Ibrahim MA, Huda AA, A Seheem. 2013. Effect of Cytokinin Type and Concentration, and Source Explant on Shoot Multiplication of Pineapple Plant (*Ananas comosus* 'Queen') In Vitro. Acta Agriculturae Slovenica Vol. 101(1).
- Isnaeni 2008. Pengaruh TDZ terhadap inisiasi dan Multiplikasi Kultur In Vitro Pisang Raja Bulu (*Musa paradisiacal* L. AAB Groub). <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/44832>
- Mhatrc M dan Rao PS. 2002. High Efficiency Regeneration of Multiple Shoots an Planlets Dormant Axillary Buds of Pineapple. International Society for Horticultural Science: pp 10-11.
- Murti RH, Samir C, Debnath, Young RY. 2012. Effect of High Concentration of Thidiazuron Combined With 1H-Indol-3-Butanoic Acid (IBA) on Albion Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Cultivar Planlets Induction. African Journal of Biotechnology Vol. 11(81): 4696-14702.
- Nursandi F. 2006. Studi Perbanyak In Vitro Tanaman Nenas (*Ananas comosus* L. Merr.) dan Analisis Kestabilan Genetik Berdasarkan KarakterMorfologi, Isozim dan RAPD. [Abstrak Disertasi] Pasca Sarjana IPB: Bogor.
- Rosmaina. 2007. Optimasi BA/TDZ dan NAA Untuk Perbanyak Masal Nenas (*Ananas comosus* L (Merr.) Kultivar Smooth Cayenne Melalui Teknik In Vitro. [Tesis] Sekolah Pasca Sarjana IPB: Bogor.
- _____. 2011. Pengaruh Perlakuan BA dan NAA Terhadap Pembentukan Akar Nenas (*Ananas comosus* (L) Merr) cv Smooth Cayenne Secara In Vitro. Jurnal Agroekoteknologi Vol. 2(2): 37-43.
- Samson JA. 1980. Tropical Agriculture Series: Tropical Fruits. Longman. London dan New York, 250.
- Sari L. 2005. Optimalisasi Media Untuk Jumlah Daun dan Multiplikasi Tunas Lidah Buaya (*Aloe Vera*) dengan Pemberian BAP dan Adenin. Biodiversitas Vol. 6(3): 178-180.
- Selamat MM. 1996. Pineapple Nursery Setup and Production on Petland Area. Proceeding of the International Conference on Tropical Fruits Vol 3:164-265.
- Sharma R dan Anwar S. 2008. Thidiazuran (TDZ) Induced Regeneration from Cotyledonary Node Explant of *Abelmoschus moschantus* Medik. L., (A Valuable Medicinal Plant). World Journal of Agricultural Sciences Vol. 4(4): 449-452.
- Smith MK, H-Lo Ko, GM Sanewski, JR Botella. 2005. *Ananas Comosus*. Di Dalam Litz [Ed] RE. Biotechnology of Fruit and Nut Crop. CABI Publishing: USA.
- Teng WL. 1997. An Alternatif Propagation Method of Ananas Through Nodule Culture. Plant Cell Report 16:454-457.
- Thepsamran N, Thepsitar C, Thongpukdee. 2006. In Vitro Multiple Shoot Induction of Physic Nut(*Jatropha curcas* L). Makalah Khusus. Departement of Biology Faculty of Science Sipakorn University.
- Trigano RN dan Grey DJ. 2011. Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology. Sanfransico: CRC Press.
- Zapeda C dan Sagawa Y. 1981. In Vitro Propagation of Pineapple. HortScience Vol. 16(4):495.

Corresponding authors email address: tokometro103@gmail.com