

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Nenas merupakan salah satu tanaman buah yang banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis. Volume ekspor terbesar untuk komoditas hortikultura berupa nenas olahan yaitu 49,32% dari total ekspor hortikultura Indonesia tahun 2004. Penelitian yang telah dilakukan oleh Lembaga Penelitian Tanaman Industri (LPTI) - Bogor, hasil rata-rata satu hektar adalah sekitar 36 ton batang basah dengan rendemen antara 3,5% - 4,0% sehingga hasil akhirnya diperkirakan sekitar 1,3 ton/ha serat kering. Tanaman nenas per hektar per tahun sebesar 125 ton terdiri dari daun hijau 40% (50 ton) dan batang basah 60% (75 ton). Dari batang basah akan dihasilkan serat kering 3,5% (2,625 ton) dan limbahnya 16%(12 ton) (Attayaya, 2008).

Produktivitas tanaman nenas baru mencapai 2700-4500 buah nenas. Produktivitas ini masih bisa ditingkatkan menjadi 6750 buah. Nenas yang kerap dikonsumsi sebagai buah segar dapat tumbuh dan berbuah didataran tinggi hingga 1.000 meter diatas permukaan laut. Berdasarkan potensi tersebut maka pengembangan agribisnis nenas, khususnya industri pengolahan buah nenas diarahkan ke Provinsi Riau, Jambi dan Lampung di wilayah Sumatera, Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur di wilayah Jawa, Provinsi Kalimantan Barat di wilayah Kalimantan, dan Provinsi Sulawesi Utara dan Sulawesi Tengah di wilayah Sulawesi (Ariawan, 2008).

Dari buah nenas dapat dikembangkan berbagai industri yang menghasilkan produk pangan dan nonpangan, mulai dari produk primer yang masih menampilkan ciri-ciri nenas. Buah nenas yang dulu hanya digunakan sebagai bahan makanan atau selai, sekarang sudah merupakan bahan baku industri cukup penting. Oleh karenanya dewasa ini pengembangan teknologi

komposit mengarah ke komposit serat alam(organik) dikarenakan sifatnya yang *renewable* (terbarukan) sehinggamengurangi gangguan lingkungan hidup juga harganya yang relatif murah,dan memiliki kemampuan mekanik tinggi yang dapat memenuhikebutuhan industri.

Provinsi Sumatera Utara berkontribusi sebanyak 8% dari produksi buah nenas di Indonesia.Kabupaten Tapanuli Utara adalah kabupaten penghasil nenas terbesar dari produksi nenas di Provinsi Sumatera Utara.Sentral produksi nenas di kabupaten Tapanuli Utara berada di Kecamatan Sipahutar.

Kabupaten Tapanuli Utara adalah kabupaten penghasil nenas terbesar pada tahun 2011 dengan produksi mencapai 144.210 ton atau 78,72% dari produksi nenas di Provinsi Sumatera Utara (Pusdatin, 2013). Sentra produksi nenas di kabupaten Tapanuli Utara berada di Kecamatan Sipahutar yang cukup terkenal dengan nenas Sipahutar.Buah nenas asal Sipahutar (Tapanuli Utara) terkenal dengan rasa manisnya, tidak terlalu berair, berukuran besar, serta warna kulit kuning dengan ujung warna kehijauan.Buah ini menjadi salah satu komoditi unggulan tanaman hortikultura di Kabupaten Tapanuli Utara.

Menurut Rukmana (2007), meskipun peluang ekspor nenas cukup cerah, namun produksi nasional masih rendah. Salah satu penyebab rendahnya produksi nenas adalah bentuk kultur budidayanya yang masih bersifat usaha sampingan belum intensif dalam skala agribisnis. Selain itu, panen buah nenas dilakukan setelah nenas berumur 12-24 bulan, tergantung dari jenis bibit yang digunakan.Bibit yang berasal dari mahkota bunga berbuah pada umur 24 bulan, hingga panen buah setelah berumur 24 bulan. Tanaman yang berasal dari tunas batang dipanen setelah umur 18 bulan, sedangkan tunas akar setelah berumur 12 bulan. Hal inilah yang juga menyebabkan produksi masih rendah karena membutuhkan waktu yang lama untuk memetik hasil (IPTEKnet, 2005).

Menurut Supriati (2011), kultur jaringan sesuai diterapkan untuk tanaman yang sulit diperbanyak dengan biji, varietas baru yang jumlahnya terbatas, tanaman bernilai ekonomi tinggi seperti anggrek atau tanaman hias lainnya, bahkan bibit tanaman yang diperlukan dalam skala massal seperti pisang, nenas dan jati. Keberhasilan penanaman nenas sangat ditentukan oleh kualitas bibit yang digunakan. Kualitas bibit yang baik harus berasal dari tanaman dengan pertumbuhan normal, sehat serta bebas hama dan penyakit. Budidaya tanaman nenas secara konvensional biasanya menggunakan bibit dari anakan. Tetapi sekarang ini untuk penanaman nenas secara komersial dalam skala besar telah menggunakan bibit hasil perbanyakan kultur jaringan. Salah satu komponen yang menentukan pola pertumbuhan tanaman pada kultur jaringan adalah zat pengatur tumbuh (Marzuki dkk, 2008).

Penggunaan teknik *in vitro* untuk menumbuhkan plantlet tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya komposisi media yang digunakan, asal eksplan tanaman dan lingkungan tumbuh dari tanaman tersebut dan perlu penambahan zat pengatur tumbuh auksin, sitokinin, dan giberelin (Karjadi, 2007).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan NAA serta interaksinya terhadap pertumbuhan plantlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) kultur jaringan.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *6-Benzyl Amino Purin* dan *Naphtalene Acetid Acid* serta interaksinya terhadap pertumbuhan plantlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) secara kultur jaringan.

## **1.3 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian adalah :

1. Diduga adanya pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) secara kultur jaringan
2. Diduga ada pengaruh konsentrasi NAA terhadap pertumbuhan planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) secara kultur jaringan
3. Diduga ada pengaruh interaksi antara BAP dan NAA terhadap pertumbuhan planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) secara kultur jaringan

#### **1.4 Kegunaan Penelitian**

Kegunaan penelitian adalah:

1. untuk memperoleh konsentrasi optimum BAP dan NAA terhadap pertumbuhan planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) secara kultur jaringan
2. sebagai bahan penyusun skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian sarjana pada Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan
3. sebagai bahan informasi bagi berbagai pihak yang terkait di dalam usaha budidaya nenas sipahutar

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Nenas Sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr)**

##### **2.1.1 Taksonomi Nenas Sipahutar**

Nenas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan tanaman buah yang berasal dari Amerika tropis yaitu Brazil, Argentina dan Peru. Tanaman nenas telah tersebar ke seluruh penjuru dunia, terutama di sekitar daerah khatulistiwa yaitu antara 25 °LU dan 25 °LS. Di Indonesia tanaman nenas sangat terkenal dan banyak dibudidayakan di tegalan dari dataran rendah sampai ke dataran

tinggi. Daerah penghasil nenas di Indonesia yang terkenal adalah Subang, Bogor, Riau, Palembang dan Blitar (Rakhmat dan Fitri, 2007).

Tanaman nenas dalam sistematika diklasifikasikan sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Class: Angiospermae, Family: Bromeliaceae, Genus: *Ananas*, Species: *Ananas comosus* L. Merr. (Collins, 1968).

### **2.1.2 Morfologi Nenas Sipahutar**

Nenas merupakan tanaman yang dapat hidup dalam berbagaimusim. Tanaman ini digolongkan dalam kelas monokotil yang bersifat tahunan yang mempunyai rangkaian bunga yang terdapat di ujung batang, tumbuhnya meluas dengan menggunakan tunas samping yang berkembang menjadi cabang vegetatif. Pada cabang tersebut kelak dihasilkan buah (Sari, 2002). Bagian tanaman nenas meliputi akar, batang, daun, tangkai buah, buah, mahkota dan anakan (tunas tangkai buah atau *slip*), tunas yang muncul di ketiak daun (*shoots*), tunas yang muncul dari batang di bawah permukaan tanah (*suckers*).

Bagian tanaman nenas yang dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak yaitu mahkota, sucker dan slips. Menurut D'eckenbrugge dan Leal 2003 melaporkan bahwa bibit nenas yang berasal dari *sucker* memiliki umur panen 18-20 bulan, mahkota (*crown*) 22-24 bulan, dan slip 20 bulan. (Ardisela, 2010) menambahkan bahwa bibit dari *crown* hasilnya atau umurnya lebih lama, tapi pertumbuhannya merata, tanaman dari *slip* tanaman berdaun banyak tapi kematangan tidak merata, dari *sucker* tanaman berdaun banyak dan kematangan tidak merata, tapi sukar sekali dalam penanamannya.

Adapun morfologi dari tanaman nenas, antara lain:

#### **1. Akar**

Nenas memiliki akar serabut dengan sebaran ke arah vertikal dan horizontal. Perakaran dangkal dan terbatas walaupun ditanam pada media yang paling baik. Kedalaman akar nenas tidak akan lebih dari 50 cm. Berdasarkan pertumbuhannya, akar nenas dibedakan menjadi akar primer dan sekunder. Akar primer hanya dapat ditemukan pada kecambah biji, dan setelah itu digantikan oleh akar adventif yang muncul dari pangkal batang dan berjumlah banyak. Pada pertumbuhan selanjutnya, akar-akar tersebut akan bercabang membentuk akar sekunder untuk memperluas bidang penyerapan dan membentuk sistem perakaran yang kuat (Samson, 1980b).

## 2. Batang

Batang tanaman nenas dapat dilihat apabila daun-daun dihilangkan. Hal ini disebabkan batang nenas sangat pendek yaitu 20-25 cm dengan diameter bawah 2-3,5 cm, sedangkan diameter bagian tengah 5,5 sampai 6,5 cm dan mengecil pada bagian puncak 2.0-3.5 cm. Batang tanaman nenas beruas-ruas dengan panjang masing-masing ruas bervariasi antara 1 sampai 10 cm. Batang berfungsi sebagai tempat melekat akar, daun, bunga, tunas, dan buah, sehingga secara visual batang tersebut tidak nampak karena di sekelilingnya tertutup oleh daun. Tangkai bunga atau buah merupakan perpanjangan batang (Collins, 1968b).

## 3. Daun

Daun berbentuk memanjang dan sempit, panjang daun dapat mencapai 130-150 cm, dengan daun tua lebih pendek dari daun muda yang ada di atasnya. Pertumbuhan daun nenas biasanya satu dalam seminggu. Pada mulanya pertumbuhannya lambat, kemudian cepat. Pada fase vegetatif pertumbuhan panjang daun terus meningkat sampai panjang maksimum sejalan dengan bertambahnya umur tanaman. Tanaman nenas yang mempunyai pertumbuhan

dan perkembangan normal akan mempunyai daun sempurna lebih dari 35 helai pada sekitar umur 12 bulan setelah tanam (Samson, 1980).

Berdasarkan bentuk dan umur, daun nenas dibedakan menjadi daun C yaitu daun yang paling tua, daun D biasanya paling panjang dan daun E yaitu daun yang masih muda. Panjang daun dapat mencapai 1.6 m dan lebar 7 cm. Jumlah daun tiap batang tanaman sangat bervariasi antara 40 - 80 helai yang tataletaknya seperti spiral, yaitu mengelilingi batang mulai dari bawah sampai ke atas arah kanan dan kiri. Daun nenas berbentuk pedang, agak kaku, berserat, beralur dan tidak mempunyai tulang daun utama. Daunnya ada yang tumbuh duri tajam dan ada yang tidak berduri. Ada juga yang durinya hanya terdapat di ujung daun (Collins, 1968b).

#### 4. Bunga

Bunga tanaman nenas bersifat majemuk terdiri dari 50-200 kuntum bungatunggal atau lebih. Letak bunga duduk tegak lurus pada tangkai buah kemudian berkembang menjadi buah majemuk. Bunga nenas bersifat hermaphrodit, mempunyai tiga kelopak, tiga mahkota, enam benang sari dan sebuah putik dengan kepala putik bercabang tiga. Penyerbukan tanaman nenas bersifat *self incompatible* atau *cross pollinated* dengan perantara burung dan lebah. Bunga akan membuka setiap hari dan jumlahnya sekitar antara 5-10 kuntum, pertumbuhan bunga dimulai dari bagian dasar menuju bagian atas dan memakan waktu antara 10-20 hari. Waktu dari tanam sampai berbentuk bunga sekitar 6-16 bulan (Ashari, 1995).

Polen nenas tidak berfungsi jika terjadi penyerbukan sendiri. Sifat *self incompatible* pada nenas dapat terjadi karena adanya lokus tunggal dengan multiple alel, sehingga tanaman nenas akan steril apabila menyerbuk sendiri, tetapi biji akan terbentuk jika terjadi penyerbukan silang

Biji yang terbentuk setelah penyerbukansilang berwarna coklat, panjang 5 mm, lebar 1-2 mm, mengandung endosperm keras dan embrio kecil. Tanaman nenas tidak bersifat musiman, tetapi dapat berbunga setiap saat (Collins, 1968b).

## 5. Buah

Buah nenas merupakan buah majemuk yang terbentuk dari gabungan 100 sampai 200 bunga, berbentuk silinder, dengan panjang buah sekitar 20.5 cm dengan diameter 14.5 cm dan beratnya sekitar 2.2 kg (Collins, 1960a). Kulit buah keras dan kasar, saat menjelang panen, warna hijau buah mulai memudar. Riana (2012), menyatakan bahwa diameter dan berat buah nenas semakin bertambah sejalan dengan pertambahan umurnya, sebaliknya untuk tekstur buah nenas, semakin tua umur buah maka teksturnya akan semakin lunak. Buah dapat dipanen sekitar 5-6 bulan setelah berbunga, dibagian atas terdapat mahkota yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman. Buah nenas berbentuk silinder dihiasi oleh suatu roset daun-daun yang pendek, tersusun spiral, yang disebut mahkota. Ujung buah biasanya tumbuh tunas mahkota tunggal, tetapi adapula tunas yang tumbuh lebih dari satu yang biasa disebut *multiple crown* (mahkota ganda). Selain tunas mahkota juga terbentuk tunas batang (*slips*) yaitu tunas yang tumbuh pada batang dibawah buah dan tunas ketiak daun (*suckers*) yang kedua-duanya dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan (Sari, 2002).

## 2.2 Kultur Jaringan Tanaman Nenas

Kultur jaringan memperbanyak tanaman dalam kondisi aseptik, menghasilkan tanaman dengan sifat yang identik dengan induk atau sifat yang diinginkan, bebas dari penyakit, tidak membutuhkan lahan yang luas, dan dapat menghasilkan banyak bibit unggul dalam waktu yang singkat.



Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1992). Teknik ini disebut teknik *in vitro* karena bagian-bagian tanaman yang dikulturkan diletakkan dalam tabung gelas (George dan Sherrington, 1984).

Pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam bidang agronomi antara lain: membantu memperbanyak vegetatif tanaman dalam rangka penyediaan bibit dari induk superior, membersihkan bahan tanaman/bibit dari virus yang ada dalam tubuh induk, membantu program pemuliaan tanaman untuk menghasilkan tanaman yang lebih baik, membantu proses konservasi dan preservasi plasma nutfah tanaman, dan produksi persenyawaan kimia untuk keperluan farmasi dan pewarna untuk industri makanan dan kosmetik didalam kultur sel (Gunawan, 1992).

Selanjutnya studi mengenai kultur jaringan *in vitro* banyak dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis eksplan dan media untuk memaksimalkan pertumbuhan tunas, baik melalui organogenesis (induksi tunas secara langsung) maupun somatik embriogenesis (induksi embrio dari sel somatik). Dengan berbagai pengembangan teknologi, setiap eksplan tanaman nenas dapat menghasilkan hingga ribuan plantlet (benih).

Teknik memperbanyak tanaman nenas secara *in vitro* secara umum tidak jauh berbeda dengan tanaman lain. Karena sifatnya yang tidak berkayu, tanaman nenas pada kondisi *in vitro* dapat tumbuh dengan relatif cepat. Eksplan yang digunakan pada metode tersebut antara lain mahkota buah, tunas anakan, tunas batang, dan tunas tangkai. Penggunaan tunas akan menghasilkan pertumbuhan yang lebih cepat daripada eksplan mahkota.

### **2.3 Zat Pengatur Tumbuh**

Berkembangnya pengetahuan biokimia dan dengan majunya industri kimia, maka ditemukan banyak senyawa-senyawa yang mempunyai pengaruh fisiologis yang serupa dengan tanaman. Senyawa-senyawa sintetik ini pada umumnya dikenal dengan nama zat pengatur tumbuh tanaman (*Plant Growth Regulator*). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mendorong, menghambat, atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Widyastuti,2006).

Di dalam kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya, Bahkan Pierik (1997) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Proses multiplikasi juga melibatkan faktor eksternal lain berupa ZPT. Fungsi ZPT dalam hal ini adalah membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan. Sitokinin adalah salah satu jenis hormon tumbuhan yang berperan dalam pembelahan sel serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan. Mekanisme kerja sitokinin hampir sama dengan kinetin namun dalam praktek kultur jaringan umumnya peneliti menggunakan sitokinin (Zulkarnain, 2014)

### **2.3.1 BAP (6-Benzyl Amino Purin)**

Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang ditemukan pada tanaman. Sitokinin berfungsi memacu pembelahan sel dan pembentukan organ.Salah satu jenisnya adalah BAP (*6-benzyl Amino Purine*) (Pranata, 2004). Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong pembelahan (sitokinesis). Ahli biologi juga menemukan bahwa sitokinin dapat meningkatkan pembelahan,pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Sitokinin juga menunda penuaan daun, bunga dan buah dengan cara mengontrol dengan baik proses kemunduran yang menyebabkan kematian sel-sel tanaman. Penuaan pada daun melibatkan penguraian klorofil dan

protein-protein, kemudian produk tersebut diangkut oleh floem ke jaringan meristem atau bagian lain dari tanaman yang membutuhkan (Gunawan, 1992).

Zat pengatur tumbuh BAP dapat memacu terjadinya proses fotosintesis karena pengaruhnya dalam memacu peningkatan produksi klorofil. Dengan peningkatan produksi klorofil pada tanaman *A.hookeri* mengakibatkan proses fotosintesis juga meningkat sehingga akan membentuk senyawa organik seperti karbohidrat untuk pembentukan daun (Yusnita, 2003)

Jenis sitokinin yang paling sering dipakai adalah BAP (*6-Benzyl Amino Purin*). *6-Benzyl Amino Purin* merupakan golongan sitokinin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong ploriferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu. Selain itu BAP juga dapat digunakan sebagai komposisi media kultur dalam hal induksi kalus (Yusnita, 2003).

*6-Benzyl Amino Purin* mempunyai struktur yang sama dengan kinetin. Akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin. Karena memiliki gugus *benzyl*. Umumnya tanaman memiliki respon yang baik dengan BAP, efektif untuk memproduksi tunas *in vitro* dengan induksi kalus *in vitro* (Ramasami, 2005).

*6-Benzyl Amino Purin* merupakan ZPT yang tergolong sitokinin sintetik yang memiliki berat molekul sebesar 225,26 dengan rumus molekul  $C_{12}H_{11}N_5$  yang dalam penggunaannya di pengaruhi oleh ZPT lainnya. Media kultur yang berisi 1 mg/l BAP menghasilkan induksi dan multiplikasi tunas yang terbaik pada perbanyakan dan perkecambahan gaharu secara *in vitro* (Wattimena, 1998)

### **2.3.2 NAA (*Naphtalene Acetid Acid*)**

Penggunaan auksin dalam kultur jaringan digunakan untuk pemebelahan sel dan diferensiasi akar. NAA secara luas digunakan untuk perakaran dan interaksi antara sitokinin

untuk ploriferasi tunas. Auksin sangat berpengaruh terhadap ekspresi gen di berbagai jaringan dan menyebabkan perubahan fisiologi juga morfologi pada tanaman. Auksin juga memperpanjang batang, internode, tropism, apikal dominan, absisi, dan perakaran (Abbas, 2011).

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat mengubah proses fisiologi tumbuhan. Fungsi ZPT tersebut merangsang pertumbuhan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Gunawan, 1992). Salah satu jenis auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA (*Naphtalene Acetid Acid*) karena NAA mempunyai sifat kimia stabil dari pada IAA (Fitriani, 2006). Sedangkan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP, karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah (Purwani dkk, 2012).

Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan, 1992). Bentuk-bentuk auksin yang ditambahkan kedalam media kultur adalah 2.4-D (*2.4 DiclorophenoxyAs Etic Acid*), IBA (*Indole Butryic Acid*), NAA (*Naphtalene Acetid Acid*), dan IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Setelah ditemukan IAA sebagai salah satu fitihormon yang penting, maka sintesis senyawa-senyawa serupa dan diuji keaktifan biologis dari senyawa-senyawa tersebut. *Asam naftelena asetat* (NAA) dan 2.4-D merupakan senyawa tanpa ciri indol tapi mempunyai aktivitas biologis seperti IAA. NAA banyak digunakan sebagai hormon akar dan selang konsentrasi yang mendorong pembesaran sel-sel pada akar adalah sangat rendah. Menurut Zaer dan Mapes (1985), NAA memiliki sifat lebih stabil dibanding IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim. Anwar (2007) menambahkan bahwa NAA merupakan IAA sintetik yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi dan lebih murah. *Naphtalene Acetid*

*Acid/Naphtyl Acetic Acid*(NAA) memiliki berat molekul 18666.21 dengan rumus molekul  $C_{12}H_{10}O_2$ (Alitalia, 2008).

### **BAB III**

## METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian pada bulan Juni 2020 sampai Agustus 2020.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet/tunas mikro nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) yang berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Media MS(Lampiran 1). BAP (*6-Benzyl Amino Purin*), NAA (*Naphtalene Acetit Acid*), fungisida, benlate tween 20, agar-agar, NaOH 1 N, HCl 1 N, aquades vitamin, sukrosa, myoinositol, alkohol 70% dan 95%, sodium hipoklorit 5% (*Clorox* atau *bayclin*), pH meter atau kertas lakmus, kertas label, kertas aluminium.

Alat yang digunakan adalah *Laminar air flow cabinet* (L AFC), lampu *florescence*, botol kultur, Erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, Petridis, *scalpel*, gunting, bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, kertas millimeter, dan pinset.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan, yaitu:

1. Faktor pemberian konsentrasi BAP yaitu:

B0= BAP 0 mg/l

B1= BAP 1,5mg/l

B2= BAP 3,0 mg/l

Menurut Sukawan (2000) konsentrasi optimum BAP terhadap jumlah tunas nenas (*Ananas comosus* L. Merr) 1,0 mg/l

2. Faktor pemberian konsentrasi NAA yaitu:

N0= NAA 0 mg/l

N1= NAA 1,0mg/l

N2= NAA 2,0mg/l

Menurut Ernitha (2005) konsentrasi optimum NAA terhadap jumlah tunas anggrek (*Dendrobium sp*) adalah 0,75 mg/l.

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak  $3 \times 3 = 9$  kombinasi yaitu:

B0N0	B1N0	B2N0	
	B0N1	B1N1	B2N1
	B0N2	B1N2	B2N2

Jumlah perlakuan = 9 kombinasi

Jumlah ulangan = 3 ulangan

Jumlah tunas/botol = 1 tunas

Jumlah botol per perlakuan = 4 botol

Jumlah sampel yang dijadikan parameter = 3 botol

Jumlah seluruh botol sebanyak  $9 \times 3 \times 4 = 108$ botol

### 3.4 Metode Analisis

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

dimana :

$Y_{ijk}$  = Hasil pengamatan dari perlakuan BAP taraf ke-i dan perlakuan NAA taraf ke-j pada ulangan ke-k

$\mu$  = Nilai tengah

$\mu_i$  = Pengaruh perlakuan BAP taraf ke-i

$\mu_j$  = Pengaruh perlakuan NAA taraf ke-j

$(\mu)_{ij}$  = Pengaruh interaksi zat pengatur tumbuh BAP taraf ke-i dan NAA taraf ke-j

$\epsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat pada perlakuan BAP pada taraf ke-i dan pupuk NAA pada taraf ke-j pada ulangan ke-k

Untuk mengetahui pengaruh faktor perlakuan yang diberikan dan interaksinya maka data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Hasil sidik ragam yang nyata atau sangat nyata pengaruhnya dilanjutkan dengan uji jarak Duncan pada taraf uji  $\alpha = 0,05$  dan  $\alpha = 0,01$  untuk membandingkan perlakuan dan kombinasi perlakuan (Malau, 2005).

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa kegiatan yaitu:

#### **3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Tanaman**

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) yang sudah dikulturkan dengan ciri planlet yang sudah memiliki organ planlet lengkap (akar, batang, daun).

#### **3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruangan Kultur**



Alat yang digunakan untuk membuat stok media, seperti: Erlenmeyer, labor ukur dan gelas piala, dicuci dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan aquades. Dilakukan juga terhadap botol kultur cawan petri dan alat-alat tanam. Alat-alat tersebut distrelisasikan dengan menggunakan *autoklaf* pada tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121°C selama minimal 1 jam. Ruangan dalam teknologi kultur jaringan harus dalam kondisi steril agar tingkat keberhasilan tinggi. Sterilisasi ruangan dilakukan dengan menyemprot ruangan dengan alkohol 95%, sedangkan sterilisasi lantai dengan lisol kemudian ruangan tertutup rapat selama 12 jam dan orang dilarang memasuki ruangan karena berbahaya bagi kesehatan.

### **3.5.3 Pembuatan Media Kultur**

Media kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS).Komponen formula Murashige dan Skoog (MS) disajikan pada Lampiran 1. Tujuan dari pembuatan larutan stok untuk menghindari penimbangan yang berulang-ulang. Larutan stok sebaiknya disimpan di tempat gelap dan bertemperatur rendah. Pembuatan larutan stok kimia terdiri dari hara makro dengan pembesaran 10x, hara mikro dengan pembesaran 100x, larutan iron, Sukrosa, Agar-agar, myo-inositol, dan larutan vitamin. Tahap selanjutnya, sukrosa dimasukan kedalam beaker glass yang berisi aquades 500 ml, diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian myo-inositol ditambahkan dan diaduk sampai larut. Lalu iron, vitamin dan larutan hara mikro serta makro dimasukan dan volume larutan tepat 1000 ml. pH yang dikehendaki adalah 5,8 diukur menggunakan pH meter. Menaikan pH menggunakan larutan NaOH sebanyak 0,1 N, dan untuk menurunkan pH kembali menggunakan larutan HCl 0,1 N.

Pada setiap perlakuan agar-agar dimasukan kedalam erlenmeyer dipanaskan dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik ini bertujuan semua agar-agar larut. Media siap dipindahkan

ke dalam botol yang sudah steril sebanyak 25 ml/botol (Taji, 2002). Kemudian tutup botol kultur dengan *alluminium foil* dan diberi label. Lalu botol kultur disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121°C selama 30 menit. Kemudian botol-botol kultur disimpan dalam ruangan kultur sebelum digunakan.

#### **3.5.4 Pemberian Zat Pengatur Tumbuh**

Penggunaan zat pengatur tumbuh diawali dengan pembuatan stok. ZPT sebanyak yang dibutuhkan dengan konsentrasi stok optimum 100 ml. Zat pengatur tumbuh yang digunakan, diberikan terlebih dahulu kedalam botol kultur dengan menggunakan pipet tetes sesuai konsentrasi perlakuan. Kemudian media dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah berisi ZPT tersebut dan botol kultur ditutup menggunakan kertas aluminium untuk distrerilisasi ke dalam autoklaf.

#### **3.5.5 Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)**

Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (L AFC) dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% kemudian dibiarkan terlebih dahulu sekitar 10 menit, dan lampu UV (*ultra violet*) berwarna biru dapat dihidupkan Selama 30-36 menit.

#### **3.5.6 Penanaman Planlet Pada Media Penelitian**

Bahan tanam yang digunakan berupa planlet nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) hasil kultur jaringan. Planlet-planlet dari botol kultur dimasukan kedalam petridis lalu dilakukan pemisahan kumpulan planlet menjadi planlet tunggal. Setiap botol kultur ditanam satu eksplan tunggal dan ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan.

### **3.5.7 Pemeliharaan Kultur**

Botol kultur yang telah berisi planlet tersebut ditempatkan didalam rak kultur jaringan dan di susun sedemikian rupa pada rak kultur dengan temperatur yang di butuhkan untuk pertumbuhan yang optimum adalah 20-25°C, ditempatkan pada kondisi terang dengan penyinaran lampu TL Neon dengan jarak 50 cm dari botol-botol kultur. Untuk pemeliharaan kelembaban, lingkungan harus mendekati 100% karena kelembaban di sekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Ruangan ini harus diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari botol-botol eksplan harus di semprot dengan menggunakan alkohol 95% dan rak-rak kultur di taburi dengan fungisida benlate.

### **3.6 Parameter**

Pengamatan terhadap perkembangan planlet dimulai dari 1 minggu setelah tanam (MST) sampai dengan 8 MST. Parameter yang diamati adalah:

#### **3.6.1 Persentase Planlet Hidup**

Perhitungan jumlah planlet hidup nenas sipahutar (*Ananas comosus* L. Merr) dengan menggunakan rumus (Nurchayani dkk, 2014).

$$\text{Persentase planlet yang hidup} = \frac{\text{jumlah planlet yang hidup}}{\text{jumlah planlet per perlakuan}} \times 100\%$$

#### **3.6.2 Waktu Tunas Terbentuk**

Menghitung secara manual jumlah hari kapan tunas mulai terbentuk dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam sampai 8 MST.

#### **3.6.3 Jumlah Tunas**

Jumlah tunas nenas sipahutar yang tumbuh dihitung secara manual dengan cara mengamati langsung dari botol kultur dan dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam sampai 8 MST.

#### **3.6.4 Jumlah daun**

Jumlah daun dihitung secara manual dengan cara menghitung jumlah daun pada setiap planlet dilakukan mulai dari jumlah daun awal dan 1 minggu setelah tanam sampai dengan 8 MST.

#### **3.6.5 Panjang Daun**

Panjang daun diukur mulai dari pangkal daun sampai ujung daun dengan menggunakan penggaris dilakukan mulai dari panjang daun awal dan 8 MST.

#### **3.6.6 Tinggi Planlet**

Tinggi planlet diukur mulai dari pangkal batang sampai dengan ujung daun terpanjang dengan menggunakan penggaris dilakukan mulai dari tinggi planlet awal dan 8 MST.

#### **3.6.7 Jumlah Akar**

Semua akar yang terdapat pada planlet di hitung jumlahnya. Dihitung secara manual dengan menghitung satu persatu jumlah akar pada planlet dilakuakn pada 8 MST.