PENGARUH NAA DAN KINETIN TERHADAP PERTUMBUHAN PANDAN *(Pandanus tectorius)* SECARA *IN VITRO*

(Effect of NAA and Kinetin on the growth of Pandanus (Pandanus tectorius) *cultured* In Vitro)

Aprizal Zainal, Aswaldi Anwar, Musliar Kasim [*)]

ABSTRACT

The experiment about " Effect of NAA and Kinetin on the Growth of Pandanus *(Pandanus tectorius)* on *In Vitro*" was conducted at tissue culture laboratory of Faculty of Agriculture Andalas University from September to Desember 1997. This experiment was aimed to get the best medium composition with NAA and Kinetin to the growth of pandanus cultured *in vitro*.

This experiment used the Completely Randomized Design in factorial. First factor (A) was NAA with 4 compositions : 0,0 mg/l (A0), 1,0 mg/l (A1), 2,0 mg/l (A2), and 3,0 mg/l (A3). Second factor (B) was given Kinetin with 5 compositions : 1,5 mg/l (B0), 0,5 mg/l (B1), 1.0 mg/l (B2), 1,5 mg/l (B3), and 2,0 mg/l (B4).

It was found that medium composition of MS + 3 mg/l NAA + 0 mg/l Kintein (A3B0) was the best composition for callus propagation. This experiment did not produce planlet.

PENDAHULUAN

Pandan *(Pandanus tectorius)* merupakan tanaman yang bernilai ekonomi tinggi dan mempunyai prospek cerah serta berpotensi untuk dikembangkan dimasa depan.

Tanaman pandan dapat digunakan sebagai bahan baku kerajinan seperti tikar, tas, dan topi. Dapat menghasilkan alkaloid untuk penggunaan etnomedikal yang namanya pandamerin. Beberapa spesies pandan juga menghasilkan alkaloid yang punya anti mikrobiologis, anti tubercular, dan mutagenik. Dalam bidang industri digunakan sebagai pemberi warna masakan, pewaangi minyak rambut dan parfum.

Melihat pentingnya peranan pandan ini maka kebutuhannya akan selalu meningkat. Untuk penyediaan bibit pandan dalam skala besar merupakan salah satu usaha untuk meningkatkan produksi. Penggunaan biji sebagai bahan perbanyakan membutuhkan waktu yang lama, karena biji pandan mempunyai kulit yang keras dan punya masa dormansi yang panjang. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu pilihan untuk pengembangan pandan dalam skala besar.

Murashige (1973) menjelaskan empat hal yang perlu diperhatikan dalam pelaksanaan kultur jaringan yaitu karteristik eksplan, kondisi fisik media, komposisi kimia media dan lingkungan kultur.

Untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan bahan tanaman yang dikulturkan, ke dalam media sering ditambahkan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dan sitokinin.

Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dalam keseimbangannya merupakan kunci keberhasilan penggunaan kultur jaringan.

Sitokinin sebagai senyawa organik yang dikombinasikan dengan auksin akan mendorong pembelahan dan menentukan arah differensiasi sel tanaman (Wattimena, 1988).

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian ini berlangsung mulai dari bulan September sampai Desember 1998.

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah tunas pucuk pandan. Media yang digunakan adalah media MS yang ditambah dengan ZPT sesuai dengan perlakuan yakni NAA, BAP, Kinetin, 2,4-D, Air kelapa. Dalam 1 liter media MS ditambahkan 3% sukrosa dan 4 gram agar. Bahan lain yang digunakan adalah senyawa kimia untuk sterilisasi eksplan, alkohol, spiritus, dan aquades.

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan, gelas piala, gelas ukur, labu ukur, corong gelas, kertas saring, pemanas elektrik, autoclave, oven, botol kultur, pH meter, lemari es, botol semprot, pipet isap, bola isap, pinset, gunting, skalpel, petridish, laminar air flow cabinet, alat suntik, aluminium foil, plastik isolasi.

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial yang disusun secara Rancangan Acak Lengkap. Faktor pertama adalah NAA dengan 4 taraf kosentrasi, yaitu : 0,0 , 1,0 , 2,0 , dan 3,0 mg/l. Faktor kedua adalah kinetin dengan 5 taraf kosentrasi, yaitu : 0,0 , 0,5 , 1,0 , 1,5 , dan 2,0 mg/l.

[*)] Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang

Penelitian ini terdiri dari 20 kombinasi perlakuan dengan 10 kali ulangan Untuk menguji statistika digunakan analisis ragam, dilanjutkan dengan uji BNJ pada hasil sidik ragam yang berbeda nyata pada taraf nyata 5%.

Sterilisasi alat

Semua alat yang akan digunakan dicuci dan dibilas hingga bersih, kemudian disterilkan dalam autoclave dan disimpan dalam oven. Sterilisasi Air Flow Cabinet dilakukan dengan alkohol 70% dan penyinaran lampu ultra violet.

Pembuatan media

Bahan nutrisi ditimbang, kemudian larutan stok nutrisi dikelompokkan menjadi 6 kelompok dan 1 kelompok vitamin. Selanjutnya diencerkan dan ditambahkan arang aktif, serta 2,4-D, NAA, dan Kinetin sesuai dengan perlakuan, lalu ditambahkan aquades steril hingga volumenya satu liter. Kemudian ditetapkan pH-nya menjadi 5,8. Larutan tersebut dipanaskan, dan sebelum tercapainya titik didih, ditambahkan agar sebanyak 8,0 gram. Setelah larutan menjadi jernih, pemanasan dihentikan dan dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 10 ml perbotol dan diberi label, lalu disterilkan dengan autoclave.

Penanaman eksplan

Eksplan tunas pucuk dipotong dengan ukuran sekitar 1 x 1 cm, disterilkan, kemudian ditanam dalam media yang telah disediakan. Selanjutnya botol kultur disusun dalam rak kultur. Setelah lebih kurang 3 minggu, kalus yang terbentuk dipindahkan ke media regenerasi kalus.

Pemeliharaan

Ruang pengkulturan selalu diamati suhu dan kelembabannya agar tidak terjadi pengembunan di dalam botol kultur. Jika ada eksplan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri), segera dipindahkan.

Pengamatan

Peubah yang diamati adalah : persentase eksplan yang mengalami pencoklatan, persentase eksplan yang terkontaminasi, persentase eksplan yang hidup, persentase ekplan yang membentuk kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Eksplan yang Mengalami Pencoklatan (Browning)

Dari Tabel 1 terlihat bahwa persentase eksplan yang mengalami pencoklatan tertinggi dijumpai pada komposisi perlakuan (A1B3) yaitu 80%. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh zat pengatur tumbuh cytokinin endogen yang ada dalam jaringan eksplan dan cytokinin exogen yang ditambahkan kepada media tumbuh sehingga akan mempercepat terjadinya sintesa polyfenolyang akhirnya menyebabkan pencoklatan pada eksplan dan media.

Tabel 1. Persentase eksplan yang mengalami pencoklatan pada komposisi media MS dengan penambahan NAA dan kinetin secara in vitro umur 60 HST.

No	Perlakuan	Porsentase browning
1	MS+0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (AoBo)	20
2	MS+0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (AoB1)	40
3	MS+0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (AoB2)	40
4	MS+0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (AoB3)	40
5	MS+0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (AoB4)	10
6	MS+1,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A1Bo)	60
7	MS+1,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A1B1)	60
8	MS+1,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A1B2)	10
9	MS+1,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A1B3)	80
10	MS+1,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A1B4)	50
11	MS+2,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A2Bo)	20
12	MS+2,0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (A2B1)	40
13	MS+2,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A2B2)	40
14	MS+2,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A2B3)	50
15	MS+2,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A2B4)	10
16	MS+3,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A3Bo)	0)
17	MS+3,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A3B1)	10
18	MS+3,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A3B2)	20
19	MS+3,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A3B3)	10
20	MS+3,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A3B4)	30

Keterangan: 0) persentase eksplan yang tidak mengalami pencoklatan

Pendapat Zaid (1985) bahwa penambahan zat pengatur tumbuh exogen terutama cytokinin dalam media kultur dapat memicu terjadinya pencoklatan pada jaringan eksplan yang dikulturkan, karena cytokinin adalah salah satu faktor yang mampu merangsang sintesa polyfenol.

2. Persentase jumlah eksplan yang terkontaminasi

Dari tabel 2 terlihat persentase eksplan yang tertinggi terkontaminasi pada komposisi perlakuan (AoBo), (AoB1), AoB4) yaitu 60%.

Penyebab terjadinya kontaminasi tersebut adalah bakteri dan jamur. Hal ini diduga karena masih terdapat di dalam jaringan eksplan mulai dari pengambilan di lapangan sampai saat diinokulasi sehingga kontaminan tersebut sukar dieleminir. Garam makro pada media dasar dengan penambahan NAA dan kinetin berperanan pada berkembangnya mikroorganisme.

Tabel 2. Persentase jumlah eksplan yang terkontaminasi pada komposisi media MS dengan penambahan NAA dan kinetin secara in vitro umur 60 HST.

No	Perlakuan	Persentase Kontaminasi
1	MS+0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin AoBo)	60
2	MS+0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (AoB1)	60
3	MS+0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (AoB2)	50
4	MS+0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (AoB3)	50
5	MS+0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (AoB4)	60
6	MS+1,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A1Bo)	20
7	MS+1,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A1B1)	30
8	MS+1,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A1B2)	30
9	MS+1,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A1B3)	20
10	MS+1,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A1B4)	30
11	MS+2,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A2Bo)	30
12	MS+2,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A2B1)	20
13	MS+2,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A2B2)	20
14	MS+2,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A2B3)	0)
15	MS+2,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A2B4)	50
16	MS+3,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A3Bo)	20
17	MS+3,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A3B1)	40
18	MS+3,0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (A3B2)	40
19	MS+3,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A3B3)	50
20	MS+3,0 mg/l NAA+2,0 mg/l kinetin (A3B4)	40

Keterangan: 0) Persentase eksplan yang tidak terkontaminasi.

Kontaminasi oleh bakteri dan jamur pada eksplan yang dikulturkan akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Prahardini, Sudaryono, dan Purnomo, 1993).

3. Persentase jumlah eksplan yang hidup

Dari tabel 3 terlihat persentase eksplan yang hidup tertinggi pada komposisi media (A3Bo) yaitu 80% dimana eksplannya lebih bewarna hijau, sedangkan komposisi (AoB1) dan (A1B3) penurunan jumlah eksplan yang tumbuh tertinggi (yaitu nol).

Pemberian zat pengatur tumbuh exogen secara langsung dapat perangsang perkembangan morfogenesis dari jaringan eksplan tetapi pada kosentrasi yang tinggi menghambat perkembangan morfogenesis dari jaringan eksplan tanaman.

Tabel 3. Persentase jumlah eksplan yang hidup pada komposisi media MS dengan penambahan NAA dan kinetin secara in vitro umur 60 HST.

No	Perlakuan	Persentase Hidup
1	MS+ 0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (AoBo)	20
2	MS+0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (AoB1)	0)
3	MS+0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (AoB2)	10
4	MS+0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (AoB3)	10
5	MS+0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A1B4)	30
6	MS+1,0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (A1Bo)	20
7	MS+1,0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (A1B1)	10
8	MS+1,0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (A1B2)	60
9	MS+1,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A1B3)	0)
10	MS+1,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A1B4)	20
11	MS+2,0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (A2Bo)	50
12	MS+2,0 mg/l NAA+0,5 mg/l kinetin (A2B1)	40
13	MS+2,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A2B2)	40
14	MS+2,0 mg/l NAA+1,5 mg/l kinetin (A2B3)	50
15	MS+2,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A2B4)	40
16	MS+3,0 mg/l NAA+0 mg/l kinetin (A3Bo)	80
17	MS+3,0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (A3B1)	50
18	MS+3,0 mg/l NAA+1,0 mg/l kinetin (A3B2)	40
19	MS+3,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A3B3)	40
20	MS+3,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A3B4)	30

Keterangan: 0) Persentase eksplan yang tidak hidup

Menurut Moore (1979), zat pengatur tumbuh dapat berfungsi merangsang dalam kosentrasi yang sangat rendah, pada kosentrasi yang sangat tinggi menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel.

4. Persentase terbentuknya kalus.

Tabel 4. Persentase terbentuknya kalus pada komposisi media MS dengan penambahan NAA dan kinetin secara in vitro umur 60 HST

No	Perlakuan	Persentase terbentuk kalus
1	MS+ 0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (AoBo)	20
2	MS+ 0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (AoB1)	0)
3	MS+ 0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (AoB2)	0)
4	MS+ 0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (AoB3)	0)
5	MS+ 0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (AoB4)	10
6	MS+ 1,0 mg/l NAA + 0 mg/l kinetin (A1Bo)	0)
7	MS+ 1,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin (A1B1)	0)
8	MS+ 1,0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (A1B2)	20
9	MS+ 1,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A1B3)	0)
10	MS+ 1,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A1B4)	0)
11	MS+ 2,0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (A2Bo)	20
12	MS+ 2,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin (A2B1)	20
13	MS+ 2,0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (A2B2)	30
14	MS+ 2,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A2B3)	40
15	MS+ 2,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A2B4)	30
16	MS+ 3,0 mg/l NAA+ 0 mg/l kinetin (A3Bo)	60
17	MS+ 3,0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l kinetin (A3B1)	30
18	MS+ 3,0 mg/l NAA+ 1,0 mg/l kinetin (A3B2)	20
19	MS+ 3,0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l kinetin (A3B3)	20
20	MS+ 3,0 mg/l NAA+ 2,0 mg/l kinetin (A3B4)	20

Keterangan: 0) tidak terbentuknya kalus.

Dari tabel 4 terlihat bahwa pada komposisi media (A3Bo) yaitu 60% menunjukkan persentase eksplan membentuk kalus tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini diduga bahwa komposisi media MS dengan NAA + kinetin tersebut dapat mendukung perkembangan dari jaringan eksplan untuk membentuk kalus. Dari parameter sebelumnya terlihat bahwa semakin rendah persentase eksplan yang mengalami pencoklatan dan terkontaminasi, akan semakin besar persentase eksplan yang membentuk kalus. Karena terbentuknya kalus merupakan fase selanjutnya setelah sel jaringan eksplan mampu berdifferensiasi bagi yang tidak terkontaminasi dan tidak mengalami pencoklatan.

Sesuai dengan pendapat Rao, Sin, Kothagoda dan Hutchison, (1981) bahwa pertumbuhan kalus pada eksplan, terjadi pada media kultur ditambah zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin, dan pertumbuhan akan lambat sekali jika pada media hanya ditambahkan kinetin saja.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disimpulkan bahwa ; komposisi media MS + 3 mg/l NAA + 0 mg/l kinetin (A3Bo) menunjukkan persentase eksplan membentuk kalus tertinggi.

Saran

Penelitian pertumbuhan pandan secara in vitro dengan penambahan NAA dan kinetin ini belum berhakir dengan sepenuhnya. Untuk itu perlu dilanjutkan pengamatan dalam penelitian sampai terbentuk tunas, akar, dan planlet. Sehingga didapatkan data yang valid dalam penentuan komposisi media dan zat pengatur tumbuh dalam pertumbuhan pandan secara in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

Moore, T.C. 1979. Biochemestry and physiology of plant hormones. Springer-Verlag. New York. 174 p.

Murashige, T. 1973. Somatic plant cells. In. Paul F.K., Jr. and M.K. Patterson Jr. (eds). Tissue culture methods and application. Academic Press. New York. P. 170 – 172.

Nonato, G.M. 1996. The genus Pandanus; its chemical and biological patential dalam kumpulan Abstrak International Seminar on Tropical Rainforest Plant and Their Utilization Development. 29-20 Oktober 1996. Padang.

P.E.R. Prahardini, T. Sudaryanto dan S. Purnomo. 1993. Komposisi media dan eksplan untuk inisiasi dan proliferasi salak secara in vitro. Balai Penelitian Tanaman Hortikultura. Solok. 5(2). Hal. 15-27

Rao, A.N., Y.M. Sin Kothagoda and J.F. Hutchinson. 1981. Cotyledon tissue culture of some tropical fruits. Pp. 124-140. In Prod. Costed Symp. On Tissue Culture of Economically Important Plants, Singapore. 1991. Ed. A.N. Rao, Ridge, Road. Singapore.

Wattimena, G.A. 1988. Zat pengatur tumbuh tanaman. PAU IPB dan Sumberdaya Informasi IPB. Bogor. 145 hal.

Zaid, A. 1985. In Vitro browning and media with special emphasis to date palm culture a review. Pp. 561-566. In Acta Horticulture Vol II. Simposium on In Vitro Proplems Related to Mass Propagation of Horticulture Plants.

----------oo0oo----------