LAJU MULTIPLIKASI TUNAS NENAS (*Ananas comosus* L. Merr) PADA MEDIA DASAR *MURASHIGE AND SKOOG* HASIL PERLAKUAN BA DAN NAA SECARA IN VITRO

(Multiplication Rate of Pineapple (Ananas comosus l. Merr*) Shoots on Basal Medium Murashige and Skoog (MS) from BA and NAA Treatment by In vitro culture)*

Rosmaina

Department of Agrotechnology, Faculty of Agricultural and Animal Science, State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau, UIN SUSKA Campus at Panam, PO Box 1004, Pekanbaru 28293, Riau, Indonesia, Tel.+62-761-562051, Fax +62-761-562052. e-mail: rosmainabarat@yahoo.com

ABSTRACT

The objectives of this research are to study shoots multiplication rate of Pineapple (Ananas comosus L. Merr) on Murashige and Skoog (MS) basal medium from BA, NAA and its combination treatment by in vitro culture. The experimental design was completely randomize design with two factorials. The first factor is BA consists of 0.00 µM, 4.44 µM, 8.88 µM, 13.32 µM and 17.76 µM, and the second factor is NAA consist of 0.00 µM, 0.50 µM, 1.00 µM and 2.00 µM. The result of this study showed that BA, NAA and its combination could increase the shoot multiplication rate of pineapple on basal medium Murashige and Skoog. BA and NAA combination produce high multiplication rate than BA without NAA or NAA no added of BA. The best treatment in this study was 4.44 µM NAA + 0.5 µM NAA, produce 107.001,20 planlets/year in Murashige and Skoog basal Medium with uniform, normal and healthy planlet.

Keywords*: Pineapple, Benzyl Adenine (BA), α-Naphthl alenea Acetic Acid (NAA), shoot multiplication rate.*

PENDAHULUAN

Nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) termasuk salah satu komoditas hortikultura yang penting dilihat dari kegunaan dan nilai ekonomis serta mempunyai nilai gizi yang tinggi. Tanaman nenas banyak jenisnya, Wee & Thongtham (1997) mengelompokkan nenas berdasarkan ukuran tanaman dan ukuran buah, warna dan rasa daging buah, serta pinggiran daunnya yang rata atau berduri, sehingga dapat dibedakan menjadi lima kelompok yaitu : *Cayenne, Queen, Red Spanish, Singapore Spanish, Abacaxi, dan Cabezona.*

Nenas jenis Cayenne disebut juga Smooth cayenne karena sepanjang daunnya tidak berduri kecuali di ujung daun saja. Nenas jenis ini selain dikonsumsi segar juga diproduksi dalam bentuk olahan. Produk olahan dapat berupa buah kaleng, selai, *juice*, sari buah, dan keripik buah nenas. Hasil sampingan pengalengan dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan untuk membuat anggur nenas atau cuka. Protease dari nenas dapat digunakan sebagai pengempuk daging, begitu juga serat daunnya ditenun menjadi kain 'pina' yang halus (Wee & Thongtham, 1997).

Salah satu kendala yang dihadapi dalam pengembangan agroindustri nenas adalah terbatasnya penyediaan bibit dalam jumlah besar, seragam, cepat, dan kontinyu. Tanaman nenas kultivar *Smooth cayenne* diketahui memiliki jumlah anakan di lapang yang sedikit (maksimal 3-4 anakan), berbeda dengan kultivar Queen yang dapat mencapai 20 anakan (PKBT, 2004). Kendala tersebut diharapkan dapat diatasi dengan teknik perbanyakan mikro (*in vitro*).

Teknik kultur jaringan tanaman nenas telah banyak digunakan untuk memenuhi kebutuhan bibit, antara lain telah dilaporkan oleh Zepada & Sagawa (1981) yang menghasilkan 5000 planlet/tahun dengan menggunakan media ½ MS + 1 mg/l BAP. Firoozabady & Gutterson (2003) dan Kiss *et al.* (1995) menghasilkan 2.025 planlet/tahun dengan penambahan 20 µM kinetin, regenerasi tanaman nenas melalui embrio somatik (Firoozabady & Moy, 2004; Sripoaraya *et al*., 2003), kultur kalus (Fernadez & Pomilia, 2003), kultur nodul (Teng, 1997), metode perbanyakan dengan menggunakan *Temporary immersion system* (Escolana *et al.,* 1999). Keberhasilan dalam perbanyakan secara *in vitro* dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain: jenis tanaman, komposisi media kultur, jenis dan konsentrasi hormon (Conger, 1987; Kiss *et al.,* 1995).

Kendala yang banyak dihadapi dalamkultur jaringan adalah laju multiplikasi yang rendah. Pada nenas kultivar Perolera dihasilkan 210-380 planlet/tunas aksilar selama 13 bulan, PRI-67 menghasilkan 300-350 planlet dan Smooth Cayenne menghasilkan 40-85 planlet (Dewald *et al*. 1998). Perbanyakan mikro

menggunakan tunas aksilar dorman dari mahkota buah menghasilkan rata-rata 1000 tanaman/tahun/mata tunas (Mhatre *et al*., 2002).

Pada perbanyakan tanaman secara *in vitro* komposisi media dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang dibutuhkan pada umumnya berbeda tiap tanaman, antar klon atau varietas dalam satu spesies. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Dalam menginduksi tunas adventif, sitokinin dan auksin memiliki peran yang sangat penting. Nisbah auksin dan sitokinin menentukan apakah suatu kalus akan membetuk tunas adventif atau akar. Sitokinin bersinergi dengan auksin dalam menstimulasi pembelahan sel (Hartman dan Kester, 1983).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Bahan tanaman yang digunakan adalah planlet dan nodul yang berasal dari media multiplikasi BA dan NAA pada berbagai taraf konsentrasi di Laboratorium kultur Jaringan PKBT (Pusat Kajian Buah-buahan Tropika) IPB. Bahan kimia yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962), agar, dan, bakterisida. Alat yang digunakan adalah peralatan tanam kultur jaringan, pH meter, timbangan, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), dan autoklaf.

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah eksplan hasil perbanyakan dari perlakuan BA dengan 5 taraf konsentrasi yaitu 0 µM, 4.44 µM, 8.88 µM, 13.32 µM, dan 17.76 µM. Faktor kedua adalah eksplan yang berasal dari media multiplikasi NAA dengan 4 taraf konsentrasi yaitu 0 µM, 0.5 µM, 1.0 µM dan 2.0 µM. Terdapat 20 kombinasi perlakuan, dengan 10 kali ulangan untuk setiap kombinasi perlakuan, sehingga terdapat 200 satuan percobaan. Setiap satu satuan percobaan terdiri dari 1 botol kultur dengan 3 eksplan per botol kultur.

Planlet nenas hasil perlakuan BA dan NAA Subkultur 1 (SK-1), Subkultur 2 (SK-2) dan Subkultur 3 (SK-3) dibuang daun dan akarnya kemudian dipotong sepanjang 0.5-1.0 cm dari pangkal batang, selanjutnya ditanam pada media dasar MS selama 30-35 hari. Sedangkan nodul yang diperoleh dari perlakukan BA dan NAA dipisahkan dari kelompoknya, dan diambil 1 nodul yang kemudian ditanam pada media dasar MS. Parameter yang diamati adalah jumlah tunas yang terbentuk. Pengamatan dilakukan setiap minggu dimulai dari satu minggu) setelah tanam (MST sampai 4 minggu setelah tanam (MST).

Data yang diperoleh dari perbanyakan secara in vitro dilakukan analisis Anova, jika berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Semua analisis dilakukan dengan menggunakan program SAS System.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Kultur

Kultur telah menunjukkan pertumbuhan pada umur satu minggu setelah tanam (MST), ditandai dengan pemanjangan daun-daun yang terpotong dan terbentuknya daun baru. Selain itu pada dasar eksplan mulai terlihat munculnya mata tunas dan langsung beregerasasi membentuk tunas. Tunas mulai terbentuk pada 1 MST, dan terus meningkat sampai 4 MST. Eksplan sangat responsif dan langsung membentuk tunas dalam media MS0. Apabila eksplan mempunyai titik tumbuh dengan sel-sel meristematik ditanam dalam media regenerasi yang tepat, maka sel tersebut dapat langsung membentuk tunas (Zhang & Lemaux, 2005).

Hasil analisis ragam jumlah tunas dari eksplan subkultur 1, subkultur 2 dan subkultur 3 dalam media MS0 dapat dilihat pada Tabel 1. BA, NAA dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk dalam media dasar MS. Sitokinin bersama-sama auksin sangat berperan dalam pembentukan tunas (Mattjik, 2005).

Tabel 1. Rekapitulasi hasil analisis ragam jumlah tunas dari ekplan subkultur 1, subkultur 2 dan subkultur 3 dalam media MS pada 4 MST

Subkultur	BA	NAA	BA*NAA
1	**	**	**
2	**	**	**
3	**	**	**

Keterangan : ** : berbeda sangat nyata (α=1%)

Pada subkultur 1 perlakuan 44.4-17.76 µM BA + 0.5-2.0 µM NAA menghasilkan rata-rata 3.6-11.2 tunas/eksplan pada 4 MST, dimana jumlah tunas tertinggi diperoleh padaperlakuan 4.44 µM BA + 0.5 µM NAA dengan rata-rata jumlah tunas 11.20 dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 13.32 µM BA + 0.5 µM NAA , sedangkan jumlah tunas terendah diperoleh pada perlakuan 8.88 µM BA + 0.0 µM NAA dan 0.5 µM NAA + 0.0 µM BA yaitu 3.6 tunas/eksplan. Nilai ini lebih tinggi dari kontrol yang menghasilkan 0.2 tunas/eksplan.

Nodul yang ditanam ke media MS0 80% berhasil membentuk tunas, sisanya membentuk nodul kembali. Rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan dari nodul pada media MS0 adalah 3-5 tunas/nodul pada 4 MST dan meningkat 8-15 tunas/nodul pada 8 MST (data tidak ditunjukkan). Teng (1997) melaporkan bahwa nodul baru dapat terbentuk dari nodul yang sudah tua, dan 70% dari nodul tersebut dapat membentuk tunas. Dari hasil ini terlihat multiplikasi masih terjadi pada media dasar MS tanpa tambahan ZPT, hal ini di duga karena konsentrasi sitokinin dan auksin yang digunakan masih tinggi, sehingga pengaruhnya masih terbawa dalam media MS0.

Tunas dan nodul hasil perlakuan subkultur 2 yang di pindah ke media MS0 menghasilkan rataan jumlah tunas 5.0-17.6 tunas/eksplan pada 4 MST. Perlakuan faktor tunggal BA menghasilkan rata-rata 6-9 tunas/eksplan, sedangkan perlakuan NAA faktor tunggal menghasilkan 5.8-15 tunas/eksplan, dimana jumlah tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan 1.0 μM NAA. Kombinasi auksin dan sitokinin memberikan rataan tunas yang lebih tinggi yaitu 17.6 tunas/eksplan pada perlakuan 4.44 μM BA + 0.5 μM NAA. Peningkatan konsentrasi NAA pada 1.0 μM dan 2.0 μM menyebabkan penurunan jumlah tunas yaitu masing-masing 5.0 dan 6.4 tunas/eksplan (Tabel 2).

Pada subkultur 3 jumlah tunas tertinggi diperoleh dari perlakuan 13.32 μM BA + 0.5 μM NAA yaitu 17 tunas/eksplan. Rataan jumlah tunas terendah diperoleh dari perlakuan 4.44 μM BA + 1.00 μM NAA yaitu 4.4 tunas/eksplan, tetapi tidak berbeda secara statistik dengan perlakuan 0.5 μM NAA dan 4.44 μM BA. Sedangkan tanaman kontrol (media dasar MS) tidak menghasilkan tunas (Tabel 2). Pada subkultur 1, subkultur 2 dan subkultur 3, BA yang dikombinasikan dengan 0,5 μM NAA menghasilkan rataan jumlah tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, walaupun secara statistik tidak berbeda. Secara umum jumlah tunas yang dihasilkan pada media MS0 lebih rendah dibandingkan pada media perlakuan (multiplikasi). Laju multiplikasi nenas *Smooth cayenne* semakin meningkat dengan adanya penambahan tunas pada media MS0.

Tabel 2. Jumlah tunas dari ekplan subkultur 1, subkultur 2 dan subkultur 3 dalam media MS pada 4 MST

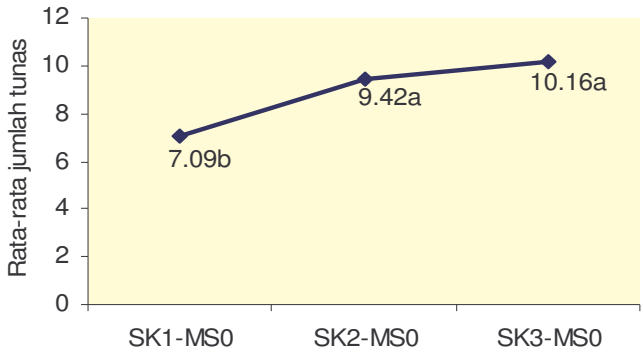
Subkultur	BA (μM)	Rata-rata Jumlah Tunas			
		NAA (μM)			
		0.0	**0.5**	**1.0**	**2.0**
1-MS0	0.00	0.2 g	3.6 ef	7.8 abcd	5.2 cde
	4.44	8.8 abcd	11.2 a	4.0 def	6.2 bdef
	8.88	3.6 f	6.6 abcdef	9.4 abc	9.0 abc
	13.32	7.6 abcde	11.2 a	10.4 ab	5.6 abcdef
	17.76	6.6 abcdef	7.2 abcdef	10.6 ab	7.0 abcdef
2-MS0	0.00	0.2 g	10.6 abcdef	15.0 ab	5.8 ef
	4.44	6.2 ef	17.6 a	5.0 f	6.4 ef
	8.88	7.6 cdef	10.6 abcde	9.7 def	10.0 abcdef
	13.32	6.0 ef	14.0 ab	12.6 abcd	10.0 abcdef
	17.76	9.0 bcdf	10.4 abcdef	13.4 abc	8.4 bcdef
3-MS0	0.00	0.0 i	7.0 fgh	16.2 ab	9.0 defg
	4.44	5.8 gh	15.2 abc	4.4 h	8.2 efg
	8.88	9.2 defg	10.4 cdef	12.0 abcde	-
	13.32	9.0 defg	17.0 a	13.2 abcd	11.0 bcde
	17.76	8.8 defg	11.2 bcde	15.2 abc	-

Keterangan : Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%, - tidak ada pengamatan

Pengaruh subkultur terhadap jumlah tunas pada media MS0

Secara umum semakin sering frekwensi subkultur dilakukan semakin banyak jumlah tunas yang dihasilkan, hal ini dapat dilihat pada Gambar 1. Eksplan yang berasal dari subkultur 3 yang dipindah ke media MS0 memiliki rataan jumlah tunas yang lebih tinggi dan tidak berbeda nyata dengan subkultur 2, tetapi berbeda sangat nyata dengan subkultur 1 yang menghasilkan rata-rata 7.0 tunas/eksplan. Hal ini berarti semakin lama eksplan berada dalam media yang mengandung sitokinin dan auksin, maka semakin banyak jumlah tunas yang terbentuk pada saat eksplan dipindah ke media dasar tanpa ZPT. Hal ini diduga karena kandungan sitokinin dan auksin endogen eksplan semakin meningkat dengan semakin lamanya eksplan tersebut berada dalam media yang diberi tambahan sitokinin dan auksin. Subkultur (SK) berulang dilakukan untuk meningkatkan kecepatan multiplikasi. Fiorino &

Loreti (1987) menyatakan jumlah tunas baru yang terbentuk dari suatu eksplan meningkat sampai subkultur ketiga atau keempat kemudian stabil. Frekwensi subkultur yang berlebihan dapat menginduksi variasi somaklonal (Skirvin *et al*., 1994). Tetapi pada perlakuan ini tidak ditemukan adanya variasi somaklonal sampai pada subkultur ketiga.



Gambar 1. Rata-rata jumlah tunas/eksplan dari perlakuan BA dan NAA pada media MS0. SK1-MS0: eksplan dari subkultur 1, SK2-MS0: eksplan dari subkultur 2, SK3-MS0: eksplan dari subkultur 3.

Hasil perbanyakan pada media MS0 pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Nursandi (2005) pada kultivar *Smooth Cayenne* yaitu 4.7-6.0 tunas/eksplan pada 17 MST dan pada kultivar *Queen* yaitu 13.0-26.3 tunas/eksplan pada 11 MST dengan penambahan 2.2-17.7 µM BAP dan penelitian Prahardini (1995) pada tanaman nenas yang memperoleh 9 tunas/eksplan dengan penambahan 8 mg BA + 0.5 mg GA3 selama 5 bulan. Perbedaan laju multiplikasi tersebut diduga karena perbedaan kultivar, sumber eksplan, metode, jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan.

Kemampuan membentuk tunas adventif secara langsung dari jaringan eksplan berbeda pada tiap tanaman. Mudah tidaknya suatu tanaman membentuk tunas secara *in vitro* dapat dilihat dari kemampuannya diperbanyak secara vegetatif dilapang (*in vivo*). Perbedaan ini sangat terlihat jelas antara kultivar *Cayenne dan Queen*, dimana kultivar *Queen* menghasilkan jumlah anakan yang lebih banyak 8-12 tanaman (Sari, 2002), sedangkan *Cayenne* hanya mampu membentuk kurang dari 3 anakan (Nakasone & Paull, 1999). Daya multiplikasi nenas *Smooth Cayenne* lebih rendah bila dibanding varietas *Queen*. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya genotipe, media kultur, lingkungan tumbuh yaitu keadaan fisik ruang kultur dan fisiologi jaringan tanaman yang digunakan. Pertumbuhan dari kultur jaringan atau organ dan *in vitro* morfogenesis lebih dipengaruhi oleh genotipe, sumber jaringan atau organ yang digunakan dibandingkan dengan faktor lain. Tidak jarang antar varietas yang memiliki sifat dekat namun kebutuhan akan lingkungan dan medianya berbeda. Walaupun jarang orang memikirkan bahwa genotipelah yang berperan dalam inisiasi kultur, namun kemampuan eksplan untuk tumbuh dan berkembang secara nyata berbeda antara tanaman yang memiliki hubungan kekerabatan yang cukup dekat, seperti yang dilaporkan oleh McComb dan Bennet (1982) *dalam* Wattimena *et al*. (1992) pada beberapa spesies *Eucalyptus marginata* memiliki daya tahan yang berbeda terhadap metode sterilisasi yang berbeda.

Estimasi produksi bibit

Pemindahan eksplan dari media perlakuan kemedia dasar MS meningkatkan laju multiplikasi, hal ini karena eksplan dalam media dasar MS masih mengalami multiplikasi yang tinggi, sehingga laju multiplikasi total pada percobaan ini merupakan rataan dari laju multiplikasi dalam media perlakuan ditambah rataan multiplikasi pada media dasar MS. Banyaknya bibit nenas yang dapat dihasilkan pada satuan waktu tertentu dapat diprediksi. Dengan mempertimbangkan beberapa faktor lain yang dapat menyebabkan kehilangan atau kerusakan selama proses perbanyakan dilaboratorium dan rumah kaca, Pennell (1987) *dalam* Sukmadjaja & Mariska (2003) memberikan formulasi untuk menghitung potensi jumlah tanaman yang dapat dihasilkan secara teoritis dalam satu periode (satu tahun), dengan rumus $Y = A^n \times B \times F1 \times F2 \times F3$, dimana Y adalah jumlah planlet/tanaman yang dapat dihasilkan, A adalah jumlah tunas yang dihasilkan pada setiap periode subkultur (faktor multiplikasi), B adalah jumlah eksplan awal yang tumbuh (dianggap 3 ekplan), n adalah jumlah subkultur pada periode

tertentu (pertahun), F1, F2, dan F3 berturut-turut adalah persentase keberhasilan kultur pada saat multiplikasi tunas, pada saat pengakaran, dan pada saat aklimatisasi. Jika diasumsikan dalam satu periode jumlah subkultur yang dapat dilakukan adalah 4 kali, maka jumlah tanaman yang dihasilkan secara teoritis berkisar dari 2.777-1.539.421 tanaman. Detail jumlah tanaman tiap perlakuan ditunjukkan pada Tabel 3.

Dari Tabel 3. terlihat bahwa laju multiplikasi nenas *Smooth Cayenne* sangat dipengaruhi oleh interaksi BA dan NAA, dimana perlakuan NAA dan BA secara tunggal menghasilkan laju multiplikasi yang rendah. Sedangkan media multiplikasi 4.44 µM BA + 0.5 µM NAA menghasilkan jumlah planlet terbanyak yaitu 107.001,20/tahun (Tabel 3), lebih tinggi dari perlakuan 13.32 µM BA + 0.5 µM NAA yang menghasilkan 78.697,48planlet/tahun, padahal perlakuan ini memiliki rataan jumlah tunas yang sama yaitu 14.07 tunas/eksplan pada media multiplikasi, tetapi tingkat keberhasilan pada media multiplikasi rendah.

Secara teoritis jumlah tanaman yang dihasilkan dengan metode ini lebih tinggi dari yang pernah dilaporkan oleh Kiss *et al.* (1995) dengan metode etiolasi menghasilkan 80.000 planlet/tanaman/tahun, Teng (1997) dengan metode kultur nodul dapat menghasilkan 80.00 - 100.000 planlet/tanaman/tahun, Zepada & Sagawa (1981) yang menghasilkan 5000 bibit/tahun. Emelda dan Febryana (2000) menggunakan media MS + 1 mg/l BAP menghasilkan 3.25^{12} (1.4 juta) planlet dari satu mata tunas/tahun.

Tabel 3. Estimasi jumlah tanaman nenas yang dihasilkan melalui kultur jaringan

Perlakuan		A	B	A^4	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	Y
BA (mM)	NAA (mM)							
0	0.5	7.07	3.00	2.493,78	42	100	83	2.608,00
0	1.0	13.00	3.00	28.561,00	85	100	94	68.460,72
0	1.5	6.67	3.00	1.975,31	75	100	89	3.955,56
4.44	0.0	6.93	3.00	2.310,83	85	95	86	4.814,27
4.44	0.5	14.67	3.00	46272,79	82	100	94	107.001,20
4.44	1.0	4.47	3.00	398,05	92	100	89	977,76
4.44	1.5	6.93	3.00	2.310,83	75	100	83	4.315,48
8.88	0.0	6.80	3.00	2.138,14	100	100	100	6.414,41
8.88	0.5	9.20	3.00	7.163,93	92	100	100	19.772,45
8.88	1.0	10.37	3.00	11.549,32	100	100	89	30.836,69
8.88	1.5	9.50	3.00	8.145,06	83	100	89	18.050,27
13.32	0.0	7.53	3.00	3.220,69	75	100	83	6.014,64
13.32	0.5	14.07	3.00	39.152,98	67	100	100	78.697,48
13.32	1.0	12.07	3.00	21.200,65	83	100	100	52.789,63
13.32	1.5	8.87	3.00	6.180,75	75	100	100	13.906,70
17.76	0.0	8.13	3.00	4,375.97	67	100	100	8,795.70
17.76	0.5	9.60	3.00	8,493.47	50	100	94	11,975.79
17.76	1.0	13.07	3.00	29,151.39	75	100	78	51,160.69
17.76	1.5	7.70	3.00	3,515.30	67	100	100	7,065.76
Kontrol		0.13	3.00	0.00	92	83	100	0.00

Keterangan: Nilai A merupakan rataan dari ketiga subkultur

Sehingga dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan metode yang terbaik untuk perbanyakan dengan laju multiplikasi yang tinggi pada media dasar MS, biaya produksi yang relatif murah, dan planlet yang dihasilkan seragam. Dari kreteria tersebut, perlakuan yang terbaik adalah perlakuan 4.44 µM BA + 0.5 µM NAA, karena mampu menghasilkan planlet dalam jumlah besar, dengan penampilan planlet yang relatif seragam, dan pada subkultur selanjutnya perlakuan ini masih memiliki laju multiplikasi yang tinggi. Jika laju multiplikasi pada media dasar MS ditambah dengan laju multiplikasi tunas pada media multiplikasi maka jumlah tunas yang dihasilkan jauh lebih besar, yaitu sekitar 4.725.264 planlet/tahun (data tidak ditunjukkan).

Jumlah tanaman yang dihasilkan merupakan perhitungan yang teoritis, pada pelaksanaanya akan tergantung pada beberapa faktor pendukung lain yang berkaitan dan sangat menentukan seperti jumlah tenaga kerja dan fasilitas yang tersedia. Goerge dan Sherington (1994) menyatakan bahwa dengan menanam 90-100 tunas/orang/jam maka untuk memperoduksi 1 juta tanaman dalam waktu serentak diperlukan beberapa ratus orang pekerja, yang tentunya akan memerlukan sarana laboratorium yang besar.

DAFTAR PUSTAKA

Conger, B. V. 1987. *Principles and Practies of Cloning Agricultural Plant via in vitro Techniques*. Boca Raton, Florida.

DeWald, M. G., G. A. Moore, W. B . Sherman, and M. H. Evans. 1998. Production of pineapple plant in vitro*. Plant Cell Rep.* 7: 535-537

Escalona, M., J. C. Lorenzo, B. Gonzalez, M. Daquinta, J. L. Gonjález, and Y. Desjardins. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion system. *Plant Cell Rep.* 18: 743-748

Firoozabady, E. and N. Gutterson. 2003. Cost-effective in vitro propagation methods for pineapple. *Plant Cell Rep.*2: 844-850

Firoozabady, E. and Y. Moy. 2004. Regeneration of pineapple plants via somatic embryogenesis and organogenesis. *In vitro Cellular and Dev. Biology*. 40: 67-74

Fernández, G. and A. B. Pomilio. 2003. Optimized growth conditions and determination of the catalytic type of the peptidase complex from a novel callus culture of Pineapple (*Ananas comosus*). *Molecular Medicinal Chemistry*. Vol. July-September, 39-49

George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. England. 709 p.

Hartman, Kester. 1994. *Plant Propagation Principle and Practice*. Prentice-Hall of India Private Limited. New delhi. 662p.

Imelda, M. dan E. Febryana. 2000. Perbanyakan in vitro nenas Bogor (*Ananas comosus* (L.) Merr.) melalui proliferasi tunas. *Proseding Seminar HasilPenelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*, Cibinong, 7-9 Maret 2000. LIPI. Bogor: 443-448

Kiss, E., J. Kiss, G. Gylai, and L. E. Heszky. 1995. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience*, 30: 127-129

Mhatre, M., J. Soneji, and P. S. Rao. 2002. Pineapple: High efficiency in vitro regeneration, field performance and PCR/RAPD evaluation of regenerants. *Abstracts* from 4th Symposium (Hawai).

Murashige, T. & F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.,* **15**: 473 – 497

Nakasone, H. Y. and R. E. Paull. 1999. *Tropical Fruits*. CAB International: 292-327

Nursandi, F. 2005. Perbanyakan in vitro tanaman nenas (*Ananas comosus* L. Merr.) dan analisis kestabilan genetik berdasarkan karakter morfologi, isozim dan RAPD. *Desertasi* Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

PKBT, IPB. 2004. Pengembangan Teknologi Produksi Nenas. *Laporan Kemajuan Tahap I RUSNAS*, Pengembangan Buah-buahan Unggulan Indonesia, IPB, Bogor.

Prahardini P.E.R., T. Sudaryono, S. Soertini, dan A. Santi. 1995. Pengaruh Benzyl adenin dan asam giberelat terhadap pertunasan in vitro nenas. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*, Cibinong, 7-8 Maret 2000. LIPI. Bogor: 208-218

Skirvin, R. M., K. D. McPheters, and M. Norton. 1994. Sources and frequency of somaclonal variation. *HortScience* 29: 1232-1237

Sukmadjaja D. dan I. Mariska. 2003. *Perbanyakan bibit jati melalui kultur jaringan*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.

Sripaoraya S, J. R. Mrchant, B. Power, and M. R. Davay. 2002. Plant Regeneration by somatic embryogenesis and organogenesis in comercial Pineapple (*Ananas comosus* L.). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 39: 450-454

Teng W. L. 1997. An alternative propagation method of Ananas through nodule culture. *Plant Cell Rep*. 16: 454-457

Wattimena G. A. 1992. *Bioteknologi Tanaman.* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan direktoral Jenral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Boioteknologi Institut Pertanian Bogor.

Wee, Y. C. and M. L. C. Thongtham. 1997. *Ananas comosus* L. Merr, p. 68-76. *In* Verheij, E.W. M. and R. E. Coronel (Eds.). PROSEA: Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2. Buah – Buahan yang Dapat Dimakan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Zepada, C. and Y. Sagawa. 1981. In vitro propagation of Pineapple. *HortScience* 16(4): 495.