

**LAPORAN PENELITIAN KOMPETITIF
UNIVERSITAS NASIONAL**



**PERBANYAKAN TUNAS PANDAN LAUT (*Pandanus tectorius*)
SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN MEDIUM MS DITAMBAHKAN
KINETIN, BAP DAN THIDIAZURON**

**Drs. Ikhsan Matondang, MSi.
Dr. Sri Endarti Rahayu, MSi.**

**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL JAKARTA
2021**

Halaman Pengesahan

1. Judul Penelitian : Perbanyak Tunas Pandan Laut (*Pandanus tectorius*) Menggunakan Medium MS Ditambahkan Kinetin, BAP dan Thidiazuron
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Drs. Ikhsan Matondang, MSi.
 - b. Tempat dan Tanggal lahir : Medan, 20 Agustus 1963
 - c. NIDN : 0320086301
 - d. Pangkat/Golongan : Penata/III C
 - e. Jabatan Fungsional : Lektor
 - f. Fakultas/Prodi : Biologi
 - g. Alamat Rumah : Perumahan Bunga Pratama Blok C6 Jl. Qurrota A'yun Bedahan Sawangan Depok 16519
 - h. Telepon : 087883900334
 - i. email : matondangikhsan@gmail.com
3. Anggota tim : Dr. Sri Endarti Rahayu, M.Si.
4. Lama Penelitian : 1 tahun
5. Pembiayaan : Rp. 14.000.000 (empat belas juta rupiah)



Mengetahui,
Dekan Fak. Biologi UNAS

Dr. Tatang Mitra Setia, M.Si.
NIP : 0111880269

Jakarta, 31 Agustus 2021

Ketua Peneliti,

Drs. Ikhsan Matondang, M.Si.
NIP : 0111900360



Mengetahui
Wakil Rektor Bidang PPMK

Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS, Apt.
NIP. 1955 0731 1981 03 2 001

RINGKASAN

Pandan laut (*Pandanus tectorius*) merupakan salah satu tumbuhan tepi pantai yang memiliki fungsi ekologis, fungsi estetika, bahan untuk membuat kerajinan tangan dan bahan untuk obat. Fungsi ekologis antara lain untuk mitigasi tsunami dengan cara membentuk hutan pantai atau *coastal greenbelt*. Secara alami tumbuhan ini diperbanyak dengan biji, setek dan pemisahan anakan atau disebut sengke atau sengket. Untuk mendapatkan benih yang banyak, cepat dan seragam diperlukan perbanyakan non konvensional. Penelitian tentang teknik budi daya tumbuhan ini telah berhasil dilakukan, baik melalui biji maupun dengan setek batang. Kendala yang muncul dari teknik budi daya ini adalah lamanya pertumbuhan bibit yang berasal dari biji, hingga 3-6 bulan dan banyaknya setek batang yang harus diambil bila ingin menanam dari setek batang dan ini akan mengurangi potensinya sebagai penahan tsunami. Penelitian tentang kultur *in vitro* pandan laut perlu dilakukan agar diperoleh bibit pandan yang seragam dalam waktu yang singkat dalam mengganti tanaman pandan laut yang hilang di sepanjang pantai. Teknik kultur *in vitro* untuk pandan laut belum banyak dilakukan dan publikasi masih sedikit. Kultur *in vitro* telah dilakukan pada *Pandanus fascicularis* dan *Pandanus furcatus*, sehingga pada penelitian ini akan dicoba metode tersebut dengan sedikit modifikasi pada zat pengatur tumbuh yang diberikan. Tujuan dari penelitian ini mendapatkan metode kultur *in vitro* yang tepat dalam menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium Murashige dan Skoog yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh Benzyl Amino Purine (BAP), kinetin dan thidiazuron. Rancangan penelitian menggunakan faktorial dengan 3 macam zat pengatur tumbuh dan 3 konsentrasi, tiap perlakuan dilakukan pengulangan 10 kali. Eksplan berupa pucuk, disterilkan dengan dithane 3% selama 15-60 menit. Selanjutnya didalam alkohol 70% 2 menit, kaporit 6% 15-30 menit, setelah itu dibilas dengan medium cair 30 menit sebanyak dua kali. Hasil yang didapatkan bahwa eksplan tumbuh dan membentuk tunas sebanyak 3 didapatkan pada perlakuan pemberian BAP 2,5 dan 3mg/L. Sedangkan pemberian kinetin 2mg/L dan thidiazuron 2,5mg/L hanya menumbuhkan eksplan pada satu ulangan. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk membuktikan tunas yang didapatkan dapat tumbuh di lapangan.

SUMMARY

Screw pines (*Pandanus tectorius*) is one of the coastal plants that have ecological functions, aesthetic functions, materials for making handicrafts and materials for medicine. Ecological functions include tsunami mitigation by forming coastal forests or coastal greenbelts. Naturally this plant is propagated by seeds, cuttings and separation of saplings or called sengke or sengket. To get a lot of seeds, quickly and uniformly, non-conventional propagation is needed. Research on this plant cultivation technique has been successfully carried out, either through seeds or by stem cuttings. Constraints that arise from this cultivation technique are the length of growth of seedlings from seeds, up to 3-6 months and the number of stem cuttings that must be taken if you want to plant from stem cuttings and this will reduce its potential as a tsunami barrier. Research on in vitro culture of screw pines needs to be carried out in order to obtain uniform pandan seedlings in a short time in replacing lost sea pandanus plants along the coast. In vitro culture techniques for screw pines have not been widely carried out and publications are still few. In vitro culture has been carried out on *Pandanus fascicularis* and *Pandanus furcatus*, so in this study will try this method with a slight modification of the given growth regulator. The purpose of this study was to obtain an appropriate in vitro culture method to produce large quantities of seedlings. The medium used in this study was Murashige and Skoog medium which were added with growth regulators Benzyl Amino Purine (BAP), kinetin and thidiazuron. The research design used factorial with 3 kinds of growth regulators with 3 concentrations, each treatment was repeated 10 times. Explants in the form of shoots were sterilized with 3% dithane 15-60 minutes. Then in 70% alcohol 2 minutes, 6% chlorine 15-30 minutes, then rinsed with liquid medium 30 minutes twice. The results obtained that explants grew and formed 3 shoots were obtained in the treatment of 2.5 and 3 mg/L BAP. While kinetin 2mg/L and thidiazuron 2.5mg/L grew shoot in one replication. Further research is needed to prove the shoots obtained can grow in the field.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan banyak kemudahan kepada kami sehingga laporan penelitian ini dapat dituliskan. Laporan ini dibuat untuk menyempurnakan penelitian dan sekaligus sebagai bahan untuk dapat dituliskan dalam bentuk yang siap untuk dipublikasi dalam jurnal ilmiah. Meskipun hasil yang didapatkan dari penelitian ini belum maksimal, namun dapat menjadi bahan pijakan untuk lebih mengeksplorasi metoda yang tepat dalam kultur *in vitro*. Dengan memohon kepada Allah SWT semoga semangat untuk mendapatkan metoda yang tepat terus dapat dilaksanakan sehingga diperoleh hasil yang signifikan, sehingga pandan laut yang merupakan tanaman kehidupan dapat diperbanyak secara kultur *in vitro*.

Dalam laporan ini tidak lupa disampaikan ucapan terima kasih kepada Rektor Universitas Nasional yang telah mendukung dan memberi fasilitas penelitian ini dari awal sampai akhirnya dituliskan dalam bentuk laporan. Terima kasih juga disampaikan kepada Wakil Rektor bidang PPMK yang telah membantu dalam penelitian ini, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Allah terus memberikan kemudahan bagi kita semua dalam menyelesaikan semua pekerjaan.

Jakarta, Agustus 2021

Ketua Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN.....	iii
SUMMARY.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	2
C. Manfaat (Urgensi) Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. Pandan laut (<i>Pandanus tectorius</i>).....	3
B. Teknik Kultur <i>In Vitro</i>	4
C. Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin.....	5
BAB III METODE PENELITIAN.....	7
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	7
B. Cara Kerja.....	7
C. Analisis Data.....	9
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	10
A. Persentase Kultur Terkontaminasi.....	10
B. Persentase Eksplan yang Hidup.....	11
C. Persentase Eksplan Tumbuh Menjadi Tunas.....	11
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	13
DAFTAR PUSTAKA.....	14

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	Pemanfaatan <i>Pandanus tectorius</i> Park. untuk pengobatan..... 4
Tabel 2.	Komposisi larutan stok medium Murashige dan Skoog (MS).... 7
Tabel 3.	Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian..... 8
Tabel 4.	Persentase kontaminasi kultur pandan laut 60 hari setelah tanam..... 10
Tabel 5.	Persentase eksplan hidup 60 hari setelah tanam..... 11
Tabel 6.	Persentase eksplan berproliferasi membentuk tunas..... 12

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bunga Pandanus tectorius jantan (kiri), betina (kanan).....	3
Gambar 2. Bagan potongan memanjang tunas yang memperlihatkan Pucuk (shoot-tip) dan jaringan meristem.....	5
Gambar 3. Pucuk tanaman pandan laut sebagai sumber eksplan.....	8
Gambar 4. Eksplan yang masih hidup 42 hari setelah tanam.....	11
Gambar 5. Eksplan berproliferasi membentuk tunas umur 42 hari setelah tanam.....	12

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pandan laut (*Pandanus tectorius* Park.) merupakan tumbuhan tepi pantai yang memiliki banyak fungsi (ekologis, estetika, bahan anyaman dan bahan obat). Fungsi ekologis antara lain untuk mitigasi tsunami dengan cara membentuk hutan pantai atau *coastal greenbelt*. Fungsi mitigasi memerlukan tanaman pandan laut dalam jumlah yang banyak.

Secara alami pandan laut dapat diperbanyak melalui biji dan juga melalui setek batang. Perbanyak tanaman melalui biji memerlukan waktu yang cukup panjang. Pembungaan pertama dari hasil perbanyak biji memerlukan waktu 10-25 tahun sedangkan melalui perbanyak setek batang baru berbunga pada tahun keenam (Thomson *et al.*, 2006; Gallaher, 2014). Cara lain dalam perbanyak tanaman pandan laut ini dengan memisahkan anakan atau sengke atau sengkret (Rahayu *et al.*, 2008; Susiarti & Rahayu, 2010; Gurmeet & Amrita, 2015). Perbanyak vegetatif (setek batang dan anakan) meskipun murah dan mudah dilakukan, namun jumlah benih yang dihasilkan masih sangat terbatas.

Teknik pembibitan tanaman pandan laut ini pernah diteliti Hani & Dendang (2008) dengan menggunakan biji. Adapun Rahayu *et al.* (2015) melakukan perbanyak tanaman pandan laut dengan menggunakan biji dan setek batang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bibit yang berasal dari biji memerlukan waktu sekitar 6 bulan untuk tumbuh. Bibit yang berasal dari setek batang memerlukan waktu yang jauh lebih singkat, yaitu 2-3 bulan untuk tumbuh.

Bibit yang berasal dari biji tersedia banyak di alam, namun jenis kelamin tanaman yang dihasilkan tidak diketahui mengingat tanaman ini termasuk tanaman dioecious. Bibit yang berasal dari setek batang akan menimbulkan masalah bila diambil dalam jumlah yang sangat banyak meskipun jenis kelaminnya dapat diketahui langsung. Pengambilan setek yang banyak akan merusak tanaman inang. Perbanyak dengan memisahkan anak juga jumlahnya sangat sedikit. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menemukan suatu metoda perbanyak tumbuhan yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dan seragam. Hal tersebut dapat diperoleh dengan menggunakan kultur *in vitro*.

Produksi bibit pandan laut secara *in vitro* dapat dilakukan melalui pendekatan embriogenesis somatik maupun melalui proses organogenesis. Namun demikian kedua

metode tersebut memerlukan waktu yang lama untuk proses pengembangan dan pengaplikasikannya. Metode embriogenesis somatik dan organogenesis mampu memproduksi bibit secara massal (Roostika *et al.*, 2005; Devy *et al.*, 2012). Salah satu teknik kultur *in vitro* yang banyak digunakan untuk produksi bibit tanaman secara cepat meskipun dengan jumlah anakan yang relatif terbatas dibandingkan dengan teknik kultur *in vitro* yang lain adalah dengan menggunakan kultur pucuk (*shoot-tip culture*).

Eksplan pucuk terdiri dari bagian meristem dan primordia daun serta tunas ketiak. Pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dapat meniadakan dominansi apikal sehingga menumbuhkan lebih dari satu tunas. Tunas yang dihasilkan dari eksplan pucuk tidak sebanyak yang dihasilkan melalui teknik organogenesis dan embriogenesis, meskipun demikian, kultur pucuk masih dianggap sebagai pilihan perbanyakan massal karena dapat menjaga kestabilan genetik eksplan dan dapat menghasilkan bibit yang *true to type*.

Kultur *in vitro* pandan laut (*Pandanus tectorius*) belum banyak dilakukan dan publikasi tentang hal inipun masih sangat sedikit. Jose *et al.*, 2016 telah melakukan perbanyakan bibit *Pandanus fascicularis* dan *Pandanus furcatus* secara *in vitro* menggunakan pucuk sebagai eksplan. Pada penelitian ini dilakukan perbanyakan tanaman pandan laut secara *in vitro* dengan metode yang dilakukan Jose *et al.*, 2016 dengan modifikasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium Murashige dan Skoog.

B. Tujuan Penelitian

Memperoleh metode kultur *in vitro* yang tepat untuk pandan laut (*Pandanus tectorius*) untuk menghasilkan bibit yang banyak.

C. Manfaat (Urgensi) Penelitian

Mendapatkan bibit yang banyak buat *coastal greenbelt* untuk penahan tsunami. Hal ini hanya dapat dipenuhi bila diperoleh metoda perbanyakan secara *in vitro* yang tepat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Pandan laut (*Pandanus tectorius*)

Pandan laut merupakan tumbuhan tepi pantai, yang dapat dikategorikan sebagai tumbuhan mangrove ikutan (Hani dan Dendang, 2008; Sukarno, 2016). Penyebaran tumbuhan ini ada di seluruh pantai Indonesia. Tumbuhan ini berhabitus pohon yang tingginya 3-7 m, bercabang kadang-kadang batang berduri dengan akar tunjang sekitar pangkal batang. Batang berwarna abu-abu, diameter 9,1-14cm dan memiliki lentisel. Daun tunggal bentuk pita panjang 2-3 m dan lebar 8-12 cm ujung runcing dan tepi daun memiliki duri. Bunga jantan dan bunga betina terdapat pada tumbuhan yang berbeda (Gambar 1). Bunga warna merah ungu, terletak pada ujung batang, benang sari banyak, formasi seperti payung. Buah letaknya terminal atau lateral, soliter atau berbentuk bulir atau malai yang besar. Buah seperti buah nanas, ketika masak berwarna kuning jeruk (Hani dan Dendang, 2008; Rahayu dan Handayani, 2008).



Gambar 1. Bunga *Pandanus tectorius* jantan (kiri), betina (kanan)
Foto C. Elevitech.

Pandan laut memiliki fungsi dan manfaat yang banyak. Fungsi ekologi untuk menahan abrasi pantai, mengurangi dampak pasang terhadap ekosistem darat, mitigasi tsunami dan memberi dampak meminimalisir kerusakan pada daerah di belakang vegetasi pandan laut. Daun tanaman pandan laut merupakan bahan untuk pembuatan tikar, kerajinan tangan, bahan atap rumah. Batang digunakan untuk konstruksi rumah. Buah dikonsumsi dan untuk ramuan parfum sedangkan bunga jantan untuk karangan bunga. Masyarakat Kiribati menggunakan daun sebagai bahan untuk mengobati demam/flu, hepatitis, disuria, asma, bisul dan kanker. Adapun rebusan akar untuk mengobati wasir (Thomson, *et al.*, 2006). Tabel 1 berikut memperlihatkan pemanfaatan pandan laut sebagai sumber pengobatan.

Tabel 1. Pemanfaatan *Pandanus. tectorius* Park. untuk pengobatan.

Aktivitas	Bagian tanaman	Metoda pengujian	Sumber
Antioksidan	daun, buah, biji	Radikal bebas DPPH	Rahayu <i>et al.</i> , 2019
	buah		Andriani, Ramli, <i>et al.</i> , 2019
Antibakteri	daun, buah, biji	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus sp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rahayu <i>et al.</i> , 2019
Antibakteri	buah	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Andriani, Ramli, <i>et al.</i> , 2019
Aterosklerosis	buah	Sel HepG2	Andriani, Pangestika, <i>et al.</i> , 2019
Antihiperlipidemik	buah	Sel HepG2	Liu <i>et al.</i> , 2013
Antikanker	buah	T47D	Holle <i>et al.</i> , 2013
Antianalgesik	buah	Mencit putih	Febrina <i>et al.</i> , 2016
Antidiabetes	akar tunjang	Mencit albino Swiss	Rajeswari <i>et al.</i> , 2012
	akar		Venkatesh <i>et al.</i> , 2012

B. Teknik kultur *in vitro*

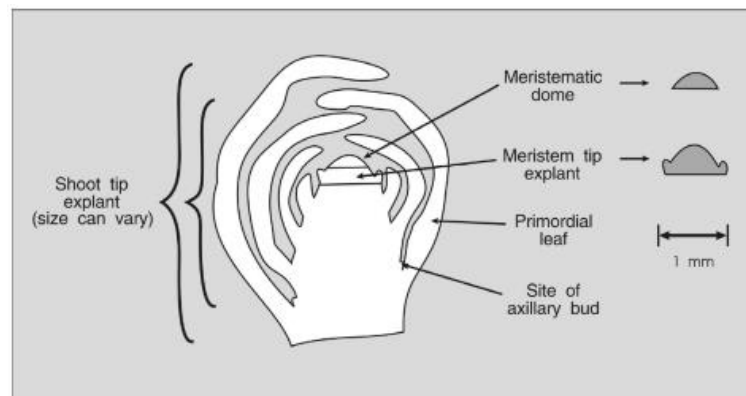
Kultur *in vitro* dikenal sebagai satu teknik menumbuhkan sel, jaringan, atau organ menjadi tumbuhan lengkap. Pertumbuhan berlangsung pada medium buatan yang aseptik. Prinsip dasar kultur *in vitro* adalah teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, bahwa sel merupakan unit biologis terkecil yang dapat melakukan aktivitas hidup seperti metabolisme, reproduksi dan tumbuh.

Perkembangan Laboratorium kultur *in vitro* di Indonesia cukup pesat. Hampir semua komoditi yang berpotensi untuk dikembangkan sudah diperbanyak melalui kultur *in vitro*. Beberapa komoditas telah diperbanyak dan dikembangkan dengan teknik ini antara lain: kopi, kakao, teh, jati, cendana, gaharu, pisang abaka, pisang raja, anggrek, kelapa sawit, anturium, nepentes, chrysan dan kentang (Lestari, 2008)

Banyak teknik yang dapat digunakan untuk memproduksi benih tanaman menggunakan metoda *in vitro*, seperti melalui teknik organogenesis, embriogenesis somatik, ataupun kultur meristem (Suman, 2017). Organogenesis merupakan proses

terbentuknya organ yaitu akar atau pucuk dan daun. Terbentuknya organ dapat secara langsung dari pertumbuhan meristem sebagai sumber eksplan atau melalui pertumbuhan kalus terlebih dahulu. Pemberian zat pengatur tumbuh auksin lebih tinggi dibandingkan sitokinin akan membentuk akar, sebaliknya bila sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin akan membentuk pucuk (Skoog & Miller, 1957).

Salah satu teknik kultur *in vitro* yang paling banyak digunakan untuk memperbanyak benih tanaman adalah menggunakan teknik kultur pucuk. Kultur pucuk menggunakan eksplan ujung tunas apikal atau tunas aksilar yang berukuran 3-20 mm yang masih menyertakan primordia daun dan jaringan pembuluh. Pada daerah pucuk terdapat jaringan meristem yang terdiri atas sel-sel yang belum berdiferensiasi serta aktif membelah (Gambar 2). Penggunaan kultur pucuk untuk produksi benih tanaman paling banyak dilakukan karena dengan adanya jaringan meristem tersebut maka eksplan yang ditanam akan lebih mudah untuk tumbuh dan terinduksi tunas sehingga memiliki keberhasilan yang tinggi (Vuylsteke, 1989).



Gambar 2. Bagan potongan memanjang tunas yang memperlihatkan pucuk (shoot-tip) dan jaringan meristem (George, 2008).

C. Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin

Keberhasilan teknik kultur *in vitro* ditentukan adanya pemberian zat pengatur tumbuh eksogen. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan adalah dari golongan senyawa sitokinin dan auksin. Yang termasuk golongan sitokinin adalah BA (Benzyl adenin), BAP (*Benzyl amino purine*), kinetin (*furfuril amino purin*), 2-*Ip* (*dimethy allyl amino purin*) zeatin dan thidiazuron. Contoh zat pengatur tumbuh auksin adalah IAA (*Indole acetic acid*), 2,4-D (*dichlorophenoxy acetic acid*), IBA (*Indole acetic acid*) dan picloram (*4-amino-3,5,6-tricloropicolinic acid*).

Fungsi sitokinin didalam proses metabolisme adalah pembelahan sel dan dalam kultur jaringan fungsi sitokinin untuk menumbuhkan tunas. BAP yang ditambahkan pada medium MS berhasil menumbuhkan 20 tunas pada multiplikasi tunas *Musa acuminata* (Jafari, *et al.* 2011). Pada penelitian Jose *et al.* (2016) penambahan 2,5 mg/L BAP dapat menumbuhkan 3 tunas dari eksplan yang berasal dari pucuk tanaman *Pandanus fascicularis* dan *Pandanus furcatus*.

Lestari (2011) melaporkan penggunaan senyawa BA dan kinetin dalam medium MS dapat merangsang pertumbuhan tunas pada tanaman jahe, poko, panili, nilam, rami, lada, pyrethrum, seruni, pulasari, pule pandak, purwoceng, inggu, daun dewa, manggis dan kencur. Pada medium WPM dengan penambahan BA menumbuhkan tunas pada tanaman sukun, sedangkan penambahan zeatin menumbuhkan tunas tanaman belimbing.

Thidiazuron yang ditambahkan dalam medium kultur *in vitro* dapat meningkatkan laju multiplikasi tunas. Thidiazuron menginduksi tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Thidiazuron dapat menstimulus terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi ribonukleosida yang secara biologis lebih aktif (Lestari, 2011).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Biologi Universitas Nasional Jakarta. Penelitian berlangsung dari bulan Februari sampai bulan Mei 2021. Penelitian dilakukan dalam beberapa langkah kerja, sebagai berikut:

1. Pembuatan komposisi medium kultur *in vitro*
2. Penanaman dan pemeliharaan
3. Analisis hasil

B. Cara Kerja

- Sterilisasi alat

Botol kultur, alat-alat gelas, medium, akuades disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 17 *psi* (*pounds per square inch*) selama 60 menit, sedangkan *Petri disk* dan alat-alat tanam yaitu pinset dan scalpel dibungkus dengan kertas HVS dan disterilkan dengan oven pada suhu 100°C selama 2 jam.

- Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok dilakukan untuk mempermudah dalam pembuatan medium. Pembuatan larutan stok dilakukan berdasarkan tabel 2 berikut. Garam-garam sumber elemen ditimbang berdasarkan tabel 2 kemudian dilarutkan dalam akuades steril. Larutan stok kemudian disimpan dalam kulkas dan siap untuk dibuat medium MS.

Tabel 2. Komposisi larutan stok Medium Murashige dan Skoog (MS).

Nama Stok	Garam	Konsentrasi (mg/L)	Jumlah ditimbang (mg)	Volume larutan stok (mL)	Volume untuk pembuatan 1 L (mL)
A	NH ₄ NO ₃	1650	16.500	200	20
B	KNO ₃	1900	19.000	200	20
C	Ca Cl ₂ . 2H ₂ O	440	4.400	200	20
D	H ₃ BO ₃	6,2	629	100	1
	KH ₂ PO ₄	170	17.000		
	KI	0,83	83		
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25	25		
	CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,025	2,5		
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	37.000	100	1
	MnSO ₄ .4H ₂ O	16,9	1.690		
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	860		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	2,5		
F	Na ₂ EDTA	37,3	373	100	10
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	278		
G	Thiamine-HCl	0,1	10	100	1
	Nicotinic acid	0,5	50		

	Pyridoxin-HCl	0,5	50		
	Glisin	2	200		
H	Inositol	100	1000	200	20

- Pembuatan medium perlakuan

Pembuatan medium dilakukan dengan cara memipet larutan stok sesuai volume yang tertera di botol larutan stok. Selanjutnya ditambahkan gula 30g. Larutan medium ditambahkan akuades hingga 1L. Kemudian diberikan zat pengatur tumbuh perlakuan seperti yang tertera dalam tabel 3. pH diatur berkisar 5,6-5,8 dengan penambahan NaOH 0,1 N atau larutan HCl 0,1 N. Medium yang telah ditentukan nilai pHnya kemudian ditambahkan agar 8g. Selanjutnya dipanaskan di atas kompor sampai mendidih. Setelah itu dituangkan kedalam botol kultur. Proses berikutnya sterilisasi medium dalam autoklaf selama 25 menit pada suhu 121°C tekanan 15-17 *psi*.

Tabel 3. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian.

Konsentrasi	2 mg/L	2,5 mg/L	3 mg/L
Zat Pengatur Tumbuh			
BAP	B1	B2	B3
Kinetin	K1	K2	K3
Thidiazuron	T1	T2	T3

- Penyiapan eksplan

Tanaman pandan laut yang ditumbuhkan dari biji berumur lebih kurang 4 bulan merupakan sumber eksplan. Eksplan yang digunakan merupakan pucuk tanaman pandan laut. Daun-daun tanaman pandan laut ini dilepaskan dari tanaman, sedemikian rupa sehingga didapatkan bagian dari pucuk sepanjang lebih kurang 6 cm seperti terlihat pada gambar 3 di bawah ini. Selanjutnya bagian pucuk ini dipotong sepanjang lebih kurang 1,5cm.



Gambar 3. Pucuk tanaman pandan laut sebagai sumber eksplan.

- **Penanaman**

Eksplan pucuk yang berukuran 1,5 cm disterilkan di dalam *laminar air flow*. Eksplan disterilisasi dengan dithane 3% selama 15-60 menit. Selanjutnya di dalam alkohol 70% 2 menit, kaporit 6% 15-30 menit, setelah itu dibilas dengan medium cair 30 menit sebanyak dua kali. Kemudian ditanam pada botol perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Botol-botol yang telah ditanam dengan eksplan disusun dalam rak-rak kultur.

- **Pengamatan**

Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat respons eksplan terhadap medium pertumbuhan. Pengamatan dilakukan dengan mencatat persentase kultur yang terkontaminasi. Persentase eksplan yang tumbuh. Selanjutnya mencatat saat mulai tumbuh tunas, dan jumlah tunas. Pencatatan diakhiri sampai pekan ke 8.

C. Analisis Data

Model rancangan dalam analisis data adalah Rancangan Faktorial, perlakuan 3 macam zat pengatur tumbuh sitokinin dengan 3 konsentrasi, 10 kali ulangan. Analisis sidik ragam dilakukan dengan menggunakan uji F. Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka hasil ujinya dinyatakan berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95%. Hasil uji yang berbeda nyata (signifikan) dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT). Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 20,0 for Windows.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Kultur Terkontaminasi

Kultur pucuk pandan laut yang ditanam dalam botol masih terdapat kontaminan. Berdasarkan pengamatan, kontaminan yang tumbuh di dalam botol kultur berasal dari kelompok organisme bakteri dan jamur. Pertumbuhan awal kedua kelompok mikroorganisme ini lebih banyak dari bagian medium. Keadaan ini menunjukkan bahwa proses sterilisasi medium belum berlangsung dengan baik. Selain itu ada kemungkinan kondisi *laminar air flow* belum terbebas dari sumber kontaminan secara menyeluruh atau adanya kecerobohan peneliti dalam pengerjaan penanaman. Persentase kontaminan berkisar 10-80% seperti terlihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Persentase kontaminasi kultur pandan laut 60 hari setelah tanam.

Perlakuan	B1	B2	B3	K1	K2	K3	T1	T2	T3
Persentase kontaminasi (%)	10	40	40	30	50	50	60	80	80

Kontaminan yang berawal dari eksplan dapat disebabkan belum sempurnanya proses sterilisasi. Selain itu sumber eksplan yang berasal dari alam di dalam jaringannya terdapat jamur yang hal ini sulit untuk dihilangkan. Tingginya tingkat kontaminan pada perlakuan thidiazuron mungkin ada pengaruh perendaman dalam senyawa sterilan yang waktunya cukup singkat. Lama perendaman pada perlakuan T1, T2 dan T3 dalam dithane 3% 15 menit sedangkan pada perlakuan B1, B2 dan B3 lama perendaman 60 menit.

Adanya kontaminan di dalam botol kultur akan menghambat eksplan untuk tumbuh. Sumber makanan yang terdapat di dalam botol akan cepat dimanfaatkan mikroorganisme, dibanding kemampuan eksplan memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam medium.

B. Persentase Eksplan yang Hidup

Persentase eksplan yang hidup pada penelitian ini masih rendah. Berdasarkan tabel 5 perlakuan pemberian BAP dengan konsentrasi 2,5 dan 3mg/L merupakan perlakuan yang eksplannya mampu hidup sampai umur kultur 60 hari. Pemberian arang aktif selain

membantu untuk mencegah proses pencokelatan eksplan, juga dapat menyerap senyawa yang terdapat dalam medium. Keadaan ini membuat eksplan tidak mampu hidup, karena makanannya diserap oleh arang aktif.

Tabel 5. Persentase eksplan hidup 60 hari setelah tanam.

Perlakuan	B1	B2	B3	K1	K2	K3	T1	T2	T3
Persentase eksplan hidup (%)	0	40	30	10	0	0	0	10	0

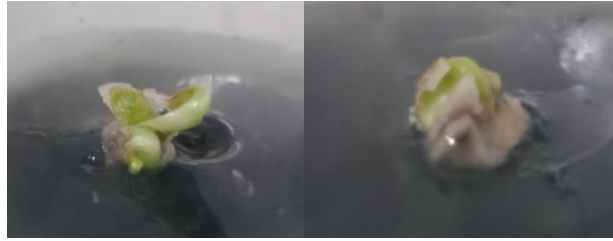
Eksplan yang terdapat dalam perlakuan B2 dan B3 dikatakan hidup karena adanya warna eksplan yang masih tetap berwarna putih kehijau-hijauan (Gambar 4). Kemampuan hidup eksplan dapat dihambat dengan adanya proses sterilisasi. Mungkin lamanya perendaman dalam senyawa sterilan menyebabkan sel-sel atau jaringan eksplan menjadi mati.



Gambar 4. Eksplan yang masih hidup 42 hari setelah tanam.

C. Persentase Eksplan Tumbuh Menjadi Tunas

Eksplan pucuk yang dapat hidup dan berproliferasi membentuk tunas didapatkan pada perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh BAP. Perlakuan yang paling banyak menumbuhkan tunas terdapat pada B2 yaitu pemberian BAP 2,5mg/L (Gambar 5). Selanjutnya medium dengan konsentrasi 3mg/L merupakan urutan kedua yang banyak menumbuhkan tunas. Perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh kinetin 2mg/L dan thidiazuron 2,5mg/L dapat memicu proliferasi membentuk tunas hanya pada satu ulangan.



Gambar 5. Eksplan berproliferasi membentuk tunas umur 42 hari setelah tanam.

Berdasarkan tabel 6 pemberian BAP 2,5 dan 3mg/L memperlihatkan persentase pembentukan tunas yang paling tinggi. Sedangkan pemberian 2mg/L kinetin serta 2,5mg/L thidiazuron dapat menumbuhkan tunas sebesar 10%. Pemberian BAP ke dalam medium MS dapat menumbuhkan tunas sebanyak 5,46 pada tanaman *Saccharum officinarum* (Biradar *et al.*, 2009), pada tanaman *Musa acuminata* menumbuhkan tunas sampai 20 (Jafari *et al.*, 2011). Penelitian ini hanya menghasilkan tunas sebanyak 3 untuk semua perlakuan yang membentuk tunas.

Tabel 6. Persentase eksplan berproliferasi membentuk tunas.

Perlakuan	B1	B2	B3	K1	K2	K3	T1	T2	T3
Persentase pertumbuhan tunas (%)	0	40	30	10	0	0	0	10	0

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil di atas kultur pucuk pandan laut dapat tumbuh dan berproliferasi membentuk 3 tunas diperlihatkan pada medium dengan pemberian BAP 2,5 dan 3mg/L sampai umur kultur 60 hari.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutnya untuk membuktikan bahwa tunas yang terbentuk dapat hidup di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, Y., Pangestika, I., Oksal, E., Mohamad, H., Amir, H., Muhammad, T. S. T., & Wahid, M. E. A. (2019). Anti-atherosclerosis potency of *Pandanus tectorius* fruit rich by trangeretin and ethyl trans-caffeate, and their cytotoxicity against HepG2 cell line. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1–7. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012155>
- Andriani, Y., Ramli, N. M., Syamsumir, D. F., Kassim, M. N. I., Jaafar, J., Aziz, N. A., Marlina, L., Musa, N. S., & Mohamad, H. (2019). Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxicity properties of keys and cores part of *Pandanus tectorius* fruits. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 3555–3564. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.00>
- Biradar, S., Biradar, D. P., Patil, V. C., Patil, S. S., & Kamar, N. S. (2009). In vitro plant regeneration using shoot tip culture in commercial cultivar of sugarcane. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 22(1), 21–24.
- Devy, N. F., Yulianti, F., & Hardiyanto, H. (2012). Pengaruh densitas awal kalus dalam perbanyakan melalui embriogenesis somatik terhadap daya multiplikasi dan stabilitas genetik planlet siam kintamani. *Jurnal Hortikultura*, 22(4), 309–315. <https://doi.org/10.21082/jhort.v22n4.2012.p309-315>
- Febrina, E., Dana, N., Anas, S., & Destiani, D. P. (2016). Aktivitas analgesik ekstrak fraksi N-heksana, etil asetat, dan air buah pandan laut (*Pandanus tectorius*) pada mencit metode geliat. *Farmaka*, 14(2), 1–10.
- Gallaher, T. (2014). The past and future of hala (*Pandanus tectorius*) in Hawai'i. In *'Ike Ulana Lau Hala: The Vitality and Vibrancy of Lau Hala Weaving Traditions in Hawai'i* (pp. 1–18). <https://doi.org/10.21313/hawaii/9780824840938.003.0008>
- George, E. F. (2008). Plant tissue culture procedure-background. In G.-J. George, E. F.; Hall, M. A.; De Klerk (Ed.), *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Gurmeet, S., & Amrita, P. (2015). Unique pandanus -flavour, food and medicine. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 5(3), 08–14.
- Hani, A., & Dendang, B. (2008). Teknik pembibitan pandan *Pandanus tectorius* Parkinson ex Z. *Balai*, V(3), 255–260.
- Holle, M. J. ., Farkhah, Y., Arfiana, F. R., & Nuriliani, A. (2013). Cytotoxic activity and apoptotic induction of leaves and fruit extract of screw pine (*Pandanus tectorius*) to T47D cell line. *The 1st Annual International Scholars Conference in Taiwan., April*, 580–586.
- Jafari, N., Othman, R. Y., & Khalid, N. (2011). Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2446–2450. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1149>
- Jose, B., Harikumar, K., Krishnan, P. N., & Satheeshkumar, K. (2016). In vitro mass multiplication of screw pines (*Pandanus* spp.) - an important costal bio- resource.

Journal of Coastal Conservation, 20, 443–453. <https://doi.org/10.1007/s11852-016-0458-4>.

- Lestari, E.G. 2008. Kultur Jaringan Menjawab Persoalan Pemenuhan Kebutuhan akan Peningkatan Kualitas Bibit Unggul & Perbanyakannya secara Besar-besaran. Penerbit Akademia. Bogor.
- Lestari, E. G. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63–68. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Liu, H., Zhang, X., Wu, C., Wu, H., Guo, P., & Xu, X. (2013). Anti-hyperlipidemic caffeoylquinic acids from the fruits of *Pandanus tectorius* soland. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(08), 016–019. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.38>
- Rahayu, M., Sunarti, S., & Keim, A. R. Y. P. (2008). Kajian etnobotani pandan samak (*Pandanus odoratissimus* L . f .): pemanfaatan dan peranannya dalam usaha menunjang penghasilan keluarga di Ujung Kulon , Banten. *Biodiversitas*, 9(4), 310–314.
- Rahayu, S. ., Sinaga, E., & Noverita. (2015). Kajian *Pandanus tectorius* dalam upaya mitigasi tsunami dan pemanfaatannya sebagai tumbuhan obat dan bahan kerajinan anyama. *Laporan Akhir Penelitian Strategis Nasional*, 114.
- Rahayu, S. E., & Handayani, S. (2008). Keanekaragaman morfologi dan anatomi *Pandanus* (Pandanaceae) di Jawa Barat. *VIS VITALIS*, 01(2), 29–44.
- Rahayu, S. E., Sinaga, E., Herzagovina, S., Noverita, & Jaelani, M. R. (2019). Phytochemical constituents, antioxidant, antibacterial and cytotoxicity properties of *Pandanus tectorius*. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 10(1), 289–295. <https://doi.org/10.5530/srp.2019.1.45>
- Rajeswari, J., Kesavan, K., & Jayakar, B. (2012). Antidiabetic activity and chemical characterization of aqueous/ethanol prop roots extracts of *Pandanus fascicularis* Lam in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S170–S174. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60152-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60152-X)
- Roostika, I., Mariska, I., & Purnamaningsih, R. (2005). Regenerasi tanaman sedap malam melalui organogenesis dan embriogenesis somatik. *Jurnal Hortikultura*, 15(4), 233–241. <https://doi.org/10.21082/jhort.v15n4.2005.p%p>
- Skoog, F., & Miller, C. O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, v(11), 118–131.
- Sukarno, N. S. (2016). Sintesis membran elektrolit selulosa asetat dari daun pandan laut (*Pandanus tectorius*) dengan pemlastis DBP (Dibutylphthalate) untuk aplikasi baterai ion lithium. In *Skripsi Jurusan Kimia Universitas Negeri Yogyakarta*.
- Suman, S. (2017). Plant tissue culture: A promising tool of quality material production with special reference to micropropagation of banana. In *Biochemical and Cellular Archives* (pp. 1–26).
- Susiarti, S., & Rahayu, M. (2010). Kajian etnobotani pandan samak (*Pandanus tectorius* Sol.) di kabupaten Tasikmalaya, Jawa Barat. *Berita Biologi*, 10(1), 113–121.

- Thomson, L. A. J., Englberger, L., Guarino, L., Thaman, R. R., & Elevitch, C. R. (2006). *Pandanus tectorius* (Pandanus) Pandanaceae (screwpine family). In *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry* www.traditionaltree.org (Issue April ver 1.1, pp. 1–29).
- Venkatesh, S., Kusuma, R., Sateesh, V., Madhava, R. B., & Mullangr, R. (2012). Antidiabetic activity of *Pandanus odoratissimus* root extract. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 46(4), 340–345.
<https://doi.org/10.5530/ijper.47.3.4>
- Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. *Practical Manuals for Handling Crop Germplasm In Vitro*, 2, 1–56.