

## Pengkulturan nanas MD2 secara kepadatan tinggi di dalam bioreaktor yang diubah suai (High density cultivation of MD2 pineapple in a modified bioreactor)

Zuraida Ab Rahman, Ayu Nazreena Othman, Hartinee Abbas, Nur Najwa Arifah Basiron, Nur Syafiqah Suraya Razali dan Fazilatun Abdul Malek

### Pengenalan

Nanas MD2 merupakan varieti nanas yang popular pada masa kini dan masih mendapat perhatian serta permintaan pasaran yang tinggi bukan sahaja untuk pasaran tempatan, tetapi juga untuk pasaran eksport. Nanas MD2 berasal dari Maui, Hawaii dan telah dibawa ke Costa Rica. Nanas ini berbentuk silinder, berat buah antara 1.3 – 2.5 kg, nilai kemanisan melebihi 14 °Brix dan nilai asidnya antara 0.4 – 0.45%. Disebabkan kemanisannya yang tinggi, ia telah diberi nama dagang oleh beberapa syarikat di Malaysia sebagai 'Golden Ripe', 'Super Sweet', 'Rompine' atau 'Gold'. Nanas MD2 sangat diminati di pasaran antarabangsa kerana aroma, kandungan gula dan vitamin yang tinggi serta jangka hayat buah selepas penuaian yang lebih panjang daripada varieti lain. Tambahan pula, varieti nanas MD2 kaya dengan vitamin C dan mengandungi empat kali ganda sumber vitamin seperti vitamin A, B6, E dan K. Selain itu, nanas MD2 mempunyai kandungan sebatian bioaktif seperti bromelain yang paling tinggi serta mempunyai keupayaan sebagai antioksidan. Ia juga mempunyai keasidan yang lebih rendah, kulit lebih nipis dan jangka hayat yang lebih panjang iaitu 30 hari berbanding dengan varieti lain yang mempunyai jangka hayat selama 21 hari menjadikannya lebih baik untuk penghantaran jarak jauh.

Penggunaan sulur sebagai bahan tanaman nanas untuk pembiakan masih tidak mampu untuk menampung permintaan bekalan yang semakin meningkat. Industri nanas negara bergantung kepada bekalan sulur bagi menghasilkan benih nanas berkualiti. Sulur nanas merupakan komponen utama dalam proses penanaman nanas sama ada melalui penanaman semula atau penanaman baharu. Pembibitan nanas secara konvensional melalui sulur akan menghasilkan 1 – 10 anak pokok bagi setiap sulur. Kaedah ini tidak mampu membantu usaha memenuhi permintaan pasaran berskala besar yang semakin meningkat. Sudah pastinya ini akan menjadi masalah utama kepada petani yang ingin mengusahakan projek penanaman berskala besar. Kebergantungan penghasilan anak benih melalui sulur atau jambul bagi mendapatkan anak pokok juga tidak digalakkan dan berisiko tinggi terutama jika pokok induk dijangkiti penyakit.

Teknologi menghasilkan anak benih nanas MD2 dengan menggunakan sistem kultur cecair (*liquid shake culture*) telah

berjaya dihasilkan di MARDI. Teknologi ini boleh dimanipulasi lagi untuk penghasilan anak benih berskala besar dengan penggunaan kaedah bioreaktor. Melalui pendekatan ini, eksplan dikultur di dalam bioreaktor diubah suai dan dirawat dengan manipulasi hormon serta pengudaraan. Ia bertujuan bagi meningkatkan penggandaan anak benih tisu kultur dalam jumlah yang lebih besar. Bioreaktor yang digunakan dalam pembiakan kultur tisu tanaman merupakan balang tertutup yang berkeadaan aseptik serta berkeupayaan untuk dikawal dan dimanipulasi bagi mempercepatkan penghasilan bahan aktif, sel atau organ dalam skala besar. Pengendalian pula dalam keadaan yang optimum dengan penggunaan medium cecair serta penambahan hormon tanaman.

#### ***Ananas comosus L. Merr cv Spanish, nanas MD2***

*Ananas comosus* tergolong dalam subfamili Bromeliodeae dan famili Bromeliaceae yang berasal dari Amerika Latin, iaitu di kawasan sungai Amazon sekitar wilayah utara. Bromeliaceae mengandungi sekitar 2,794 spesies dan 56 genera. *A. comosus* mempunyai nama sinonim, *Bromelia comosa*, *Bromelia ananas*, *Ananas sativus* dan *Ananassa sativa*. Ia kini ditanam di serata dunia secara meluas terutamanya di kawasan tropika dan subtropika. Tanaman nanas merupakan tanaman komersial yang ketiga di dunia serta merupakan tanaman buah tropikal yang keempat paling banyak ditanam. Nanas MD2 juga dikenali sebagai *Ananas comosus* L. Merr cv Spanish antara buah-buahan tropikal yang menjadi permintaan tinggi pasaran di serata dunia disenaraikan sebagai antara tanaman kultivar yang paling berjaya. Ia direkodkan lebih 13 juta tan metrik nanas dituai secara global. Di Malaysia, nanas MD2 berada pada kedudukan 23 tempat di dunia antara negara pengeluar nanas dunia dengan pengeluaran 340 ribu tan metrik nanas setahun. Ia juga telah disenaraikan sebagai salah satu daripada tujuh tanaman bernilai tinggi dan penting dari segi ekonomi di bawah *Malaysia's National Key Economic Areas* (NKEA).

Di Malaysia, terdapat banyak jenis nanas ditanam seperti Moris, N36, Josapine, Maspine, Sarawak, Gandul dan Yankee. Walau bagaimanapun, nanas MD2 dipilih sebagai varieti utama untuk penanaman di Malaysia terutama untuk industri pengeksportan disebabkan permintaan yang sangat tinggi. Nanas MD2 juga mempunyai rasa yang paling manis berbanding dengan varieti nanas yang lain menjadikannya sangat popular dalam kalangan pengguna dan menjadi varieti pilihan utama ditanam bagi tujuan komersial. Harga pasaran yang tinggi iaitu tiga kali ganda dengan pulangan penjualan sehingga 200% berbanding dengan varieti nanas lain merupakan satu petanda baik yang mampu memberi kesan atau menyumbang kepada ekonomi di Malaysia. Secara konvensional, nanas dibiakkan melalui kaedah vegetatif menggunakan sulus nanas. Walau bagaimanapun, kaedah ini memakan masa yang lama mencecah sehingga lapan tahun

untuk menghasilkan tunas (*propagule*) yang banyak daripada satu tanaman induk. Kaedah ini lebih mudah menyebarkan banyak penyakit dari ladang nanas lama ke ladang yang baharu. Oleh itu, kaedah alternatif dengan menggunakan teknik kultur tisu tumbuhan untuk menghasilkan anak pokok nanas dalam kuantiti yang banyak serta bebas penyakit dibangunkan bagi memenuhi permintaan pasaran yang semakin meningkat.

### **Bioreaktor**

Bioreaktor merupakan satu peralatan atau sistem tertutup yang boleh diguna pakai dan dimanipulasi sebagai medium untuk pertumbuhan organisme hidup. Ia menyediakan persekitaran luaran yang optimum untuk memenuhi keperluan sistem tindak balas biologi sehingga hasil bioproses yang terbaik dapat dicapai. Dalam tindak balas atau sistem biologi ia boleh merangkumi enzim, mikroorganisma, sel haiwan, sel tumbuhan atau tisu. Sebagai contoh, bioreaktor digunakan bagi pertumbuhan sel, penghasilan enzim biokatalisis, penghasilan makanan, pemprosesan susu, sintesis protein dan juga boleh digunakan dalam teknik kultur tisu tanaman bagi memperbanyakkan dan mempercepatkan pertumbuhan sel dan organ kultur. Sistem bioreaktor yang digunakan dapat memastikan persekitaran optimum untuk perkembangan sel tumbuhan dengan menyediakan nutrien yang diperlukan dan sistem pengudaraan yang baik tanpa menyebabkan berlakunya kerosakan pada sel. Walau bagaimanapun, perkara tersebut memberikan cabaran besar dalam melengkapkan reka bentuk dan menyediakan bioreaktor yang boleh berfungsi dengan baik. Hal yang demikian kerana parameter utama yang terlibat dalam reka bentuk bioreaktor termasuklah bekalan oksigen, penukaran karbon dioksida, pH, mineral, kandungan karbohidrat, pengawal atur pertumbuhan, ketumpatan sel dan pergerakan medium cecair. Kandungan gas utama yang terdapat dalam balang tertutup bioreaktor ialah nitrogen (78%), oksigen (21%) dan karbon dioksida (0.036%) manakala etilena, etanol, asetaldehid serta hidrokarbon yang lain adalah komponen tambahan. Komposisi gas tersebut dipengaruhi oleh isi padu balang dan juga tahap pengudaraan dalam balang tersebut. Gas oksigen, karbon dioksida dan etilena sangat mempengaruhi perkembangan pertumbuhan tanaman secara *in vitro* terutama untuk pengkulturan secara cecair.

Kandungan oksigen yang terdapat dalam bioreaktor bergantung kepada kewujudan oksigen pada buih udara yang terdapat dalam medium, kawasan atmosfera bioreaktor dan juga kandungan oksigen yang larut dalam medium. Secara umumnya, tempoh pengudaraan yang tinggi dapat mengurangkan pertumbuhan biojisim kerana ia mampu menghalang pertumbuhan sel dalam ampaian sel yang dikultur dalam bioreaktor pengangkut udara (*airlift bioreactors*). Keperluan kandungan oksigen adalah berbeza mengikut spesies tanaman dan oksigen perlu dibekalkan secara berterusan bagi menyediakan

sistem pengudaraan yang mencukupi kerana ia memberi kesan kepada aktiviti metabolismik dan sumber tenaga. Kandungan aras oksigen boleh ditingkatkan di dalam bioreaktor melalui kawal atau proses pengacauan, pergerakan gas dan juga saiz buih udara. Bagi kandungan gas karbon dioksida pula, ia dikatakan tidak perlu jika melebihi 0.36% dalam udara sekiranya keadaan fotoautotrofik tidak berlaku. Kadar pengudaraan yang tinggi berbanding dengan kandungan oksigen yang berlebihan menyebabkan perkembangan sel tumbuhan terbantut dan pengurangan ini adalah disebabkan oleh paras karbon dioksida yang rendah atau penyingkirannya pelbagai kultur mudah meruap seperti karbon dioksida. Keperluan kandungan karbon dioksida tidak berkaitan dengan proses fotosintesis, tetapi terlibat dalam tapak jalan metabolismik seperti biosintesis asid amino.

### **Hormon pengawalaturan pertumbuhan**

Pengenalpastian dan pengelasan fungsi hormon bagi pengawalaturan perkembangan tumbuhan mempunyai perkaitan yang sangat rapat dengan kajian tumbuhan secara *in vitro* dan ia banyak digunakan dalam penyelidikan asas. Terdapat beberapa kategori hormon yang telah dikenal pasti, namun fungsi yang terperinci bagi setiap hormon berdasarkan molekulnya dalam pengawalaturan pertumbuhan masih tiada jawapan. Hal yang demikian menyebabkan kajian mengenai identiti, kesan dan mekanisme tindakan hormon sangat bergantung kepada teknik *in vitro*. Sejarah penggunaan kultur *in vitro* pertama yang berjaya bagi tanaman adalah berkaitan dengan akar yang dipotong secara pengkulturan aseptik. Selepas pengkulturan akar berjaya, proses penghasilan dan pembiakan kalus daripada eksplan pula berjaya dilaksanakan. Ia berjaya berkembang dan ransangan bagi pembelahan dan pembahagian sel adalah dengan penggunaan auksin seperti asid indole-3-asetik (IAA) atau asid naftalenaasetik (NAA) yang dibekalkan ke dalam medium asas yang terdiri daripada garam mineral, sumber karbon (sukrosa) dan vitamin.

Kultur tisu bagi tanaman nanas juga telah berjaya dijalankan yang membolehkan tunas (*propagule*) nanas dapat dihasilkan dalam jumlah yang banyak dengan lebih mudah. Kajian juga melaporkan bahawa penghasilan plantlet bagi nanas adalah melalui penggunaan pengawalaturan perkembangan tumbuhan. Jumlah penghasilan plantlet yang berjaya dihasilkan dan telah dilaporkan ialah 40 – 10,0000 plantlet daripada satu setelah melalui beberapa proses subkultur. Kebanyakan penyelidik menggunakan kombinasi 6-benzylaminopurine (BAP) dan pengawalaturan perkembangan tumbuhan yang lain seperti asid asetik naftalena (NAA), asid indole-3-asetik (IAA) atau asid butirik indol (IBA). Penggunaan hormon BAP paling banyak digunakan oleh penyelidik untuk penghasilan plantlet kerana fungsinya adalah untuk perkembangan dan pertumbuhan tunas pucuk. Hormon NAA juga salah satu hormon yang sering digunakan dalam pembiakan vegetatif tanaman daripada keratan batang

dan daun serta berperanan dalam merangsang pertumbuhan akar. Pembiakan nanas secara in vitro boleh dijalankan sama ada dengan menggunakan hormon BAP sahaja ataupun kombinasi BAP dengan hormon auksin yang lain seperti NAA, 2,4-D, IAA dan IBA.

#### **Penyediaan kultur pemula dan *protocorm-like bodies* (PLBs)**

Sulur nanas MD2 digunakan dalam kajian ini. Bahagian sulur berukuran 25 – 30 cm dan digunakan sebagai eksplan bagi kultur secara in vitro. Nanas MD2 dibersihkan, daun dibahagian paling luar dibuang beberapa helai kemudian bahagian eksplan dipotong 5 – 8 cm. Eksplan kemudiannya dibasuh dengan bersih menggunakan aliran air paip dan *detergent*. Selepas itu, eksplan direndam di dalam larutan 5% (w/v) fungisid Benlate selama satu jam dan dicuci dengan menggunakan air suling yang telah disteril. Eksplan kemudiannya direndam di dalam larutan 50% (v/v) Clorox<sup>TM</sup> (5.25% sodium hipoklorit) selama 15 minit dan diikuti dengan rendaman di dalam larutan 20% (v/v) Clorox<sup>TM</sup> selama 10 minit. Eksplan dibilas sebanyak tiga kali dengan menggunakan air suling steril. Prosedur-prosedur tersebut dilakukan di dalam kabinet aliran udara laminar bagi mengelakkan kontaminasi daripada berlaku. Eksplan yang telah disteril dipotong kepada 1 – 2 cm setiap bahagian. Eksplan yang steril kemudiannya dikultur ke atas medium pepejal Murashige dan Skoog (MS) yang mengandungi 30 mg/L sukrosa, 5 mg/L benzil aminopurin (BAP) dan agar 0.3% (w/v) dan diletakkan di tempat cerah pada suhu  $25 \pm 2$  °C (letak berapa jam cerah dan berapa jam gelap). Eksplan disubkultur di atas medium yang sama selama tiga bulan. Selepas tiga bulan, pucuk bersaiz mikro yang diperoleh dipindahkan ke dalam medium cecair MS yang mengandungi 30 mg/L sukrosa, 1 mg/L BAP dan 0.1 mg/L 2,4-D selama tiga bulan dengan proses subkultur di dalam medium yang sama dijalankan pada setiap bulan. Selepas tiga bulan, *protocorm-like bodies* (PLBs) [Gambar 1(a)] yang diperoleh dipindahkan pula ke dalam medium cecair (100 mL) di dalam kelalang 250 mL dan digoncangkan pada kelajuan 120 rpm untuk pembiakan PLBs yang akan digunakan dalam kajian lanjut menggunakan bioreaktor.

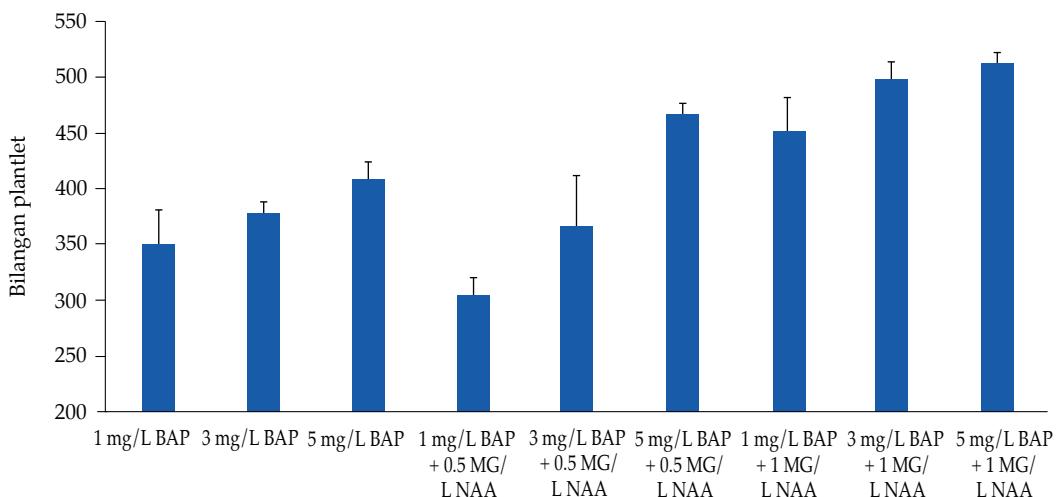
#### **Kesan hormon terhadap pertumbuhan plantlet**

Dalam kajian ini, PLBs digunakan sebagai eksplan pemula dikultur di dalam medium cecair [Gambar 1(b)] untuk rawatan dengan menggunakan hormon BAP dan NAA. Kedua-dua hormon ini digunakan sebagai rawatan dalam kajian untuk melihat kesan pertumbuhan plantlet di dalam bioreaktor yang diubah suai. Terdapat beberapa jenis rawatan yang digunakan dalam kajian iaitu rawatan dengan BAP sahaja pada kepekatan 1, 3 dan 5 mg/L. Juga rawatan BAP dengan kepekatan yang sama, tetapi ditambah dengan hormon NAA pada kepekatan 0.5 mg/L dan 1.0 mg/L. Hasil kajian mendapati rawatan menggunakan hormon 5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA menunjukkan penghasilan plantlet

yang tertinggi iaitu 512 plantlet dengan ketinggian pokok antara 1.5 – 2.5 cm. Ia dikuti dengan rawatan menggunakan hormon 3 mg/L BAP+ 1 mg/L NAA dan 5 mg/L BAP+0.5 mg/L NAA, masing-masing memberi nilai 499 plantlet dan 467 plantlet. Penggunaan BAP pada kadar 1 mg/L BAP memberi hasil bilangan plantlet yang lebih rendah iaitu sebanyak 350 plantlet, namun ketinggian pokok menunjukkan nilai lebih tinggi iaitu 3 – 7 cm. Hasil kajian mendapati saiz plantlet yang diperoleh adalah bergantung kepada rawatan yang digunakan. Saiz plantlet adalah lebih tinggi dengan rawatan 1 mg/L BAP dan lebih kecil dengan rawatan 3 – 5 mg/L BAP [Gambar 1(g), (h)] (Rajah 1).



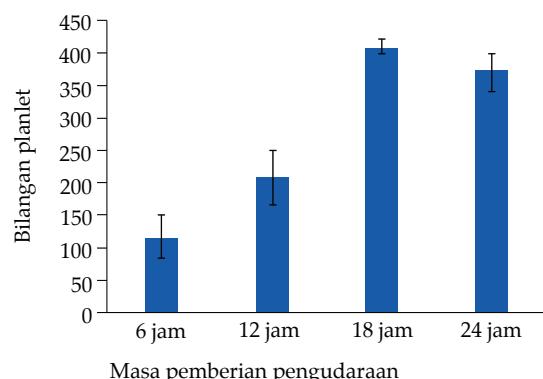
Gambar 1. (a) Protocorm-like bodies (PLBs), (b) Permulaan eksperimen (0 hari), (c) Rawatan 6 jam pengudaraan, (d) Rawatan 18 jam pengudaraan, (e) Rawatan 24 jam pengudaraan, (f) hasil yang dikeluarkan dari bioreaktor yang diubah suai, (g) hasil tuaian selepas rawatan dengan hormon 1 mg/L BAP dan (h) 5 mg/L BAP, (i) anak benih kultur tisu yang telah dipindah ke polibeg



Rajah 1. Bilangan plantlet yang dihasilkan selepas diberi rawatan hormon yang berbeza

### Pengaruh pengudaraan terhadap bilangan plantlet

PLBs digunakan sebagai eksplan pemula dikultur ke atas medium cecair yang mengandungi rawatan menggunakan hormon 1 mg/L BAP dan 0.5 mg/L NAA menunjukkan perbezaan dalam bilangan plantlet yang dihasilkan setelah kajian pengudaraan diberikan pada tempoh masa yang berbeza. Rawatan pengudaraan yang diberikan kepada plantlet ialah 6 – 24 jam bagi penentuan penghasilan plantlet yang tinggi. Masa pengudaraan rawatan 18 jam yang diberikan telah menunjukkan bilangan plantlet yang tertinggi iaitu sebanyak 411 plantlet [Gambar 1(d)] selepas dua bulan. Sebanyak 370 bilangan plantlet yang dihasilkan setelah masa pengudaraan rawatan selama 24 jam diberi [Gambar 1(e)] berbanding hanya 208 dan 118 penghasilan plantlet pada 12 dan 6 jam rawatan masing-masing [Gambar 1(c)] (Rajah 2). Kawalan pengudaraan yang berbeza memberi kesan kepada jumlah penghasilan plantlet dalam bioreaktor yang diubah suai. Tempoh masa pengudaraan rawatan 18 jam merupakan jangka masa pengudaraan yang paling optimum kerana penghasilan plantlet yang tertinggi berbanding dengan masa pengudaraan 6, 12 dan 24 jam. Ini kerana tempoh pengudaraan yang diberikan dapat meningkatkan kecekapan pengudaraan dalam bioreaktor dan pertumbuhan plantlet. Pengaliran udara secara berterusan yang mengandungi karbon dioksida, wap air dan oksigen dapat menyinergikkan gas mudah



Rajah 2. Bilangan plantlet yang dihasilkan selepas diberi rawatan hormon yang berbeza

meruap seperti etilena yang dihasilkan oleh plantlet dengan mengurangkan kepekatananya dalam kultur. Penghasilan plantlet melalui pengudaraan yang mengandungi karbon dioksida yang tinggi dijangka dapat mendorong proses fotosintesis sekali gus meningkatkan tumbesaran plantlet. Selain itu, pengudaraan yang dibekalkan dapat meningkatkan kadar transpirasi plantlet. Masa pengudaraan rawatan 24 jam tidak menghasilkan bilangan plantlet yang tertinggi kerana sistem pengudaraan yang berlebihan dalam bioreaktor boleh mengakibatkan tekanan rincih (*shear stress*), penghasilan buih, proses penyejatan yang berlebihan dan penghasilan gas oksigen yang tinggi. Penghasilan buih yang berlebihan boleh menyebabkan produktiviti proses berkurang kerana buih yang pecah dapat merosakkan protein atau menyebabkan tekanan berlebihan jika buih menekat penapis keluar (*exit filter*). Bagi oksigen pula, kadar pengambilan oksigen (OUR) yang diperlukan adalah tidak terlalu tinggi iaitu  $5 - 10 \text{ mmol}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  berbanding dengan sel mikrob  $10 - 90 \text{ mmol}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Oleh itu, kadar pengudaraan harus berada pada keadaan optimum bagi memastikan penghasilan metabolit yang tinggi pada kultur sel tanaman yang boleh menyebabkan pertumbuhan berlaku pada kadar yang cepat.

### Kesimpulan

Teknologi penggandaan dan pembiakan nanas MD2 menggunakan kaedah bioreaktor yang telah diubah suai, dirawat dengan menggunakan hormon BAP dan NAA bagi menghasilkan anak benih dalam jumlah yang besar telah berjaya dibangunkan. Pada peringkat permulaan, pucuk pemula nanas yang dihasilkan melalui kaedah sistem goncangan dipindahkan ke dalam bioreaktor bagi tujuan penggandaan berskala besar. Ia kemudian digandakan dan dibiak menggunakan kaedah bioreaktor dalam medium cecair yang mengandungi hormon bagi menghasilkan anak benih dalam jumlah yang besar. Teknologi yang dibangunkan ini akan dapat membantu mengatasi masalah pembekalan anak benih nanas sekali gus menyumbang kepada kemajuan industri nanas negara. Pembekalan anak benih nanas MD2 yang mencukupi akan dapat membantu menggalakkan pertumbuhan industri nanas negara. Selain itu, ia juga boleh membuka ruang dan menyediakan peluang pekerjaan kepada pekebun-pekebun kecil.

## Bibliografi

- Ab. Rahman, Z., Abbas, H. dan Othman, A.N. (2018). Research Article Rapid Micropropagation of Md2 Pineapple ( Ananas Comosus L.) Using the Temporary Immersion System (Tis ) and Liquid-Shake Culture (Lsc): 8 – 11
- Be, L. V. dan Debergh, P.C. (2006). Potential low-cost micropropagation of pineapple (Ananas comosus). *South African Journal of Botany* 72(2): 191 – 194
- DeWald, M.G., Moore, G.A., Sherman, W.B. dan Evans, M.H. (1988). Production of pineapple plants in vitro. *Plant Cell Reports* 7(7): 535 – 537
- Dong, Y., Gao, W.Y., Man, S., Zuo, B., Wang, J., Huang, L. dan Xiao, P. (2013). Effect of bioreactor angle and aeration rate on growth and hydromechanics parameters in bioreactor culture of ginseng suspension cells. *Acta Physiologiae Plantarum* 35(5): 1,497 – 1,501.
- Firoozabady, E. dan Gutterson, N. (2003). Cost-effective in vitro propagation methods for pineapple. *Plant Cell Reports* 21(9): 844 – 850
- Hamad, A.M. dan Taha, R.M. (2008). Effect of sequential subcultures on in vitro proliferation capacity and shoot formations pattern of pineapple (Ananas comosus L. Merr.) over different incubation periods. *Scientia Horticulturae* 117(4): 329 – 334
- Huang, X., Liu, J., Feng, H., Ma, Y., Zhang, L. dan Han, H. (2018). Effects of different plant hormones on callus induction and plant regeneration of miniature roses (Rosa hybrida L.). *Horticulture International Journal* 2(4): 201 – 206
- Krikorian, A.D. (1995). Hormones in Tissue Culture and Micropropagation. *Plant Hormones*: 774 – 796
- Mamun, N.H.A., Egertsdotter, U. & Aidun, C.K. (2015). Bioreactor technology for clonal propagation of plants and metabolite production. *Frontiers in Biology* 10(2): 177 – 193.
- Podwyszynska, M. (2003). CELL, TISSUE AND ORGAN CULTURE | Rooting of Micropropagated Shoots. *Encyclopedia of Rose Science*, hlm. 66 – 76
- Routledge, S.J. (2012). Beyond de-foaming: The effects of antifoams on bioprocess productivity. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 3(4): e201210001.
- Sripaoraya, S., Marchant, R., Power, J.B. and Davey, M.R. (2003). Plant regeneration by somatic embryogenesis and organogenesis in commercial pineapple (Ananas comosus L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 39(5): 450 – 454.
- Teixeira, S.L., Ribeiro, J.M. and Teixeira, M.T. (2006). Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (Ananas comosus cv Smooth cayenne) behavior. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 86(3): 375 – 378
- Werner, S., Maschke, R.W., Eibl, D. and Eibl, R. (2018). Bioreactor Technology for Sustainable Production of Plant Cell-Derived Products. *Reference Series in Phytochemistry*: 413 – 432

### **Ringkasan**

Proses menghasilkan anak benih nanas MD2 dengan menggunakan sistem kultur cecair (*liquid shake culture*) telah berjaya dihasilkan di MARDI. Proses ini dimanipulasikan bagi penghasilan benih nanas yang berlipat kali ganda menggunakan kaedah bioreaktor. Kaedah ini dilakukan dengan menggunakan konsep bioreaktor yang diubah suai menggunakan medium cecair dengan bekalan hormon dan menggabungkan dengan pengudaraan. Kajian ini bertujuan untuk meningkatkan penghasilan dan pengeluaran bahan tanaman nanas MD2 melalui kaedah Bioteknologi Organ. Protocorm (PLBs) (*protocorm-like bodies*) telah digunakan sebagai eksplan pemula dan ia dikultur di dalam bioreaktor yang mengandungi medium MS serta hormon pertumbuhan pada kepekatan yang berbeza. Rawatan pengudaraan juga diberikan pada tempoh masa yang berbeza antara 6 – 24 jam bagi penentuan masa pengudaraan yang paling optimum untuk penghasilan plantlet yang tertinggi. Rawatan menggunakan hormon 5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA menunjukkan pengeluaran plantlet yang tertinggi iaitu 512 plantlet. Rawatan ini menunjukkan ketinggian pokok yang rendah iaitu antara 1.5 – 2.5 cm sahaja. Penggunaan BAP pada kadar 1 mg/L BAP memberi hasil bilangan plantlet yang lebih rendah namun ketinggian pokok lebih tinggi iaitu 3 – 7 cm. Masa pengudaraan rawatan 18 jam yang diberikan telah menghasilkan bilangan plantlet yang tertinggi. Penggunaan bioreaktor yang terubah suai ini sangat berpotensi digunakan untuk pengeluaran bahan tanaman nanas secara skala besar.

### **Summary**

The process of producing MD2 pineapple seedlings using a liquid shake culture system has been successfully produced at MARDI. Using the bioreactor method, this process has been manipulated to increase the production of pineapple seedling. This method was performed using the concept of a modified bioreactor with the utilization of a liquid media supplemented with hormones and aeration. This research aimed to increase the production of MD2 pineapple plant material through Organ Biotechnology technique. Protocorm-like bodies (PLBs) with young shoots were used as explants (starting material) and cultured in bioreactors containing MS media as well as growth hormone at different concentrations. Aeration treatments were also given at different time periods between 6 – 24 hours to determine highest plantlet production. Treatment using 5 mg/L BAP+ 1 mg/L NAA showed the highest plantlet production at 512 plantlets followed by treatment using 3 mg/L BAP+ 1 mg/L NAA and 5 mg/L BAP+ 0.5 mg/L NAA, at 499 plantlets and 467 plantlets, respectively. In addition, all these treatment results in a low in plant height that gives only ranged 1.5 – 2.5 cm. The use of BAP at 1 mg/L BAP fewest number of plantlets but taller plantlet at ranged 3 – 7 cm. The 18-hours aeration treatment produced the highest number of plantlets at 411 plantlets. The use of this modified bioreactor has great potential for large scale production of pineapple planting materials.

## **Pengarang**

Zuraida Ab Rahman (Dr.)

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor  
E-mel: azuraida@mardi.gov.my

Ayu Nazreena Othman dan Nur Najwa Arifah Basiron

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Hartinee Abbas (Dr.)

Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, MARDI, Jalan Paya Keladi/Pinang Tunggal  
13200 Kepala Batas, Pulau Pinang

Fazilatun Abdul Malek dan

Nur Syafiqah Suraya Binti Razali

Pusat Biosains & Bioteknology, Fakulti Sains & Teknologi, Universiti Kebangsaan  
Malaysia (UKM)  
43600 Bangi, Selangor, Malaysia