

Induksi Kalus Stroberi (*Fragaria spp.*) Melalui Aplikasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat Secara *in vitro*

GUSTI ARYA JELANTIK DWIPAYANA*)
HESTIN YUSWANTI
IDA AYU MAYUN

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jln. PB. Sudirman, Denpasar 80232

*)E-mail : jelantikd@yahoo.com

ABSTRACT

Induction of Strawberry callus (*Fragaria sp.*) Through Application of 2,4 dichlorophenoxy acetic acid *in vitro*

The study aims to know the concentration of 2,4 Dichlorophenoxy acetic acid for the growth of callus the strawberries. This study was conducted at laboratorium of tissue culture of agriculture faculty, Udayana on January until May 2015. The compiled using a Randomized Complete Block Design (RCBD) with five repetition and five level of treatment combination that is (D0,D1,D2,D3,D4,D5). If in the result found significant effect then followed up with duncan test 5%. Data that can not be analyzed tabulated and discussed descriptively.

The result shows that treatment of D2 give best growth that it showed at percentage of highest deflection (54,765), fastest swelling (12,70 hst), highest swelling procentage (49,34%) and lowest browning procentage (43,05%). Beside that eksplan able to produce callus at D2 treatment with combination of MS media and by giving of 2,4 D 1 ppm.

Keywords: explants, callus, and 2,4 dichlorophenoxy acetic acid.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Stroberi (*Fragaria x ananassa Duch*) merupakan salah satu komoditas buah-buahan yang penting didunia, terutama untuk negara-negara beriklim subtropis. Stroberi ditemukan pertama kali di Chili, Amerika Latin (Rohmayanti, 2013). Stroberi ini dibudidayakan secara besar-besaran di negara besar seperti Amerika Serikat, Polandia, Italia, kemudian disusul oleh Jepang dan Meksiko (Kurnia, 2005).

Stroberi masuk Indonesia pada tahun 1980-an. Stroberi di Bali pertama kali diperkenalkan pada tahun 1983 tepatnya di Dusun Bukit Catu Desa Candi Kuning yang selanjutnya berkembang di tiga dusun lainnya yaitu Dusun Bukit Catu, Dusun

Pemuteran dan Dusun Batu Sesa. Stroberi mulai diusahakan dan dikembangkan secara luas oleh masyarakat sejak tahun 1991 bersamaan dengan keberadaan perusahaan perkebunan PT Bali Berry Farms yang berlokasi di Desa Pancasari (Wandra, 2007). Produksi stroberi di daerah ini dijual untuk memenuhi kebutuhan hotel, restoran, pasar swalayan dan pasar tradisional yang ada di Bali, sehingga kontinuitas produksi menjadi faktor penting yang perlu mendapat perhatian.

Permasalahan yang dihadapi di Bali untuk mempertahankan kontinuitas produksi stroberi dan perlu mendapat perhatian adalah jumlah dan kualitas bibit. Penyediaan bibit stroberi selama ini dilakukan secara konvensional dengan menggunakan stolon. Kelemahannya adalah volume perbanyakan relatif lebih sedikit dan tidak bebas penyakit karena infeksi patogen endogenous (sistem kekebalan turunan) yang ditularkan dari tanaman induk. Bibit tertular patogen ini yang menyebabkan kualitas dan kontinuitas produksi buah semakin menurun setelah tiga periode penanaman (Zebrowska 2004). Oleh karena itu teknik kultur jaringan menjadi salah satu alternatif agar jumlah bibit dan kontinuitas produksi stroberi tetap terjaga.

Boxus (1974), menemukan bahwa dengan metode kultur jaringan, dari satu induk tanaman dapat diperoleh beberapa ribu tanaman dalam jangka waktu satu tahun. Perbanyakan tanaman secara kultur jaringan atau *in vitro* terbukti dapat meningkatkan ketersediaan bibit tanaman dalam jumlah besar dan seragam dalam waktu relatif singkat, melalui teknik kultur *in vitro* induksi pembentukan dan pertumbuhan kalus dapat dilakukan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui : Pengaruh konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat untuk pertumbuhan kalus stroberi; Mengetahui konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat yang bisa mengendalikan kalus.

2 Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Percobaan ini dilakukan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Kultur Jaringan Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana (Jl. Pulau Moyo 16 X, Pegok). Penelitian dimulai dari bulan Januari 2015 sampai Mei 2015

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah daun stroberi yang diambil sebagai bahan tanam (eksplan), media MS, arang aktif, zat pengatur tumbuh 2,4 D, agar, gula, air mineral steril (aquades), dan byclin.

Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah pisau, panci, kompor, lap bersih, gelas ukur, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, pipet, botol infuse, plastik,

karet gelang, sendok, autoklaf, pinset, cawan petri, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), korek, dan lampu bunsen.

2.3 Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan :

D0 : MS + 0ppm 2,4D

D1 : MS + 0,5ppm 2,4D

D2 : MS + 1ppm 2,4D

D3 : MS + 1,5ppm 2,4D

D4 : MS + 2ppm 2,4D

Percobaan di ulang 5x, sehingga diperlukan $1 \times 5 \times 5 = 25$ unit percobaan. Setiap unit percobaan ditanam 3 eksplan.

D3-3	D2-4	D4-1	D1-5	D0-2
D0-3	D4-4	D1-1	D0-5	D3-2
D4-3	D1-4	D2-1	D4-5	D2-2
D1-3	D3-4	D0-1	D2-5	D4-2
D2-3	D0-4	D3-1	D3-5	D1-2

2.4 Pelaksanaan Percobaan

2.4.1 Sterilisasi Tempat kerja

Kebersihan lingkungan kerja dijaga untuk mengurangi tingkat kontaminasi, dengan cara menyapu, dan mengepel lantai.

Laminar air flow cabinet harus di steril dengan menggunakan sinar UV (sinar ultra violet) selama 30 menit agar tidak terjadi kontaminasi saat menanam kultur di dalam laminar.

2.4.2 Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi alat dilakukan dengan perendaman alat dan botol selama 24 jam dengan byclin, setelah itu alat dan botol dicuci dan dibilas pada air mengalir dan dikeringkan. Alat kemudian dibungkus dengan kertas coklat dan botol ditutup dengan aliminuim foil atau plastik, setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 17,5 psi (*pond per square inch*) dengan suhu 121° selama 60 menit.

Sterilisasi media dilakukan dengan memasukan media ke dalam botol yang telah di sterilisasi dan ditutup dengan aluminium foil atau plastik, kemudian dimasukan ke dalam autoklaf dengan tekanan yang sama selama 30 menit.

2.4.3 Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan membuat larutan stok, dimana media MS, arang aktif dan ZPT 2,4 D di pipet sesuai konsentrasi kemudian diberi air hingga 1000 ml. Media kemudian dipanaskan di atas *stirrer* sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga mencapai suhu 80° C, ukur pH media dengan kertas pH pada kisaran pH 5,6-5,8. Media dituangkan ke dalam botol kultur kurang lebih 20ml, kemudian botol ditutup dengan plastik dan masukan kedalam autoklaf pada tekanan 17,5 psi, selama 30 menit.

2.4.4 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan di dalam laminar air flow cabinet, bersihkan laminar air flow cabinet dahulu dengan menyoprotkan alkohol 70% kesemua sisi. Peralatan yang diperlukan dalam penanaman dimasukan. Tutup laminar dan nyalakan lampu UV selama 1 jam, setelah proses UV selesai, nyalakan lampu dan *blowerlaminar* serta nyalakan api pada lampu bunsen didalam laminar.

Eksplan yang akan digunakan yaitu daun stroberi. Setelah eksplan diambil, eksplan dicuci terlebih dahulu dengan detergen cair dan dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Eksplan yang telah bersih kemudian direndam dengan menggunakan Dithane M-45 selama 10 menit dengan takaran 2gram per liter lalu bilas sampai bersih. Eksplan yang telah direndam tadi kemudian di sterilisasi lagi dengan cara di rendam menggunakan larutan clorox 5% dan 10% dengan waktu perendaman yang berbeda. Untuk clorox 5% direndam selama 10 menit, sedangkan clorox 10% dilakukan di dalam laminar selama 5 menit. Setelah perendaman larutan clorox, eksplan dibilas lagi dengan menggunakan air steril sebanyak tiga kali kemudian ditiriskan pada cawan petri. Eksplan yang telah steril, diambil satu per satu dan dipotong dengan ukuran $\pm 1\text{cm}^2$ kemudian letakkan pada cawan petri. Penanaman dilakukan dengan mengambil eksplan pada cawan petri dengan menggunakan pinset dan dimasukan kedalam botol kultur. Media yang telah terisi eksplan ditutup, setelah itu disimpan pada rak dengan suhu ruangan 23° C dengan kelembaban 60 – 70%.

2.4.5 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan rutin setiap dua hari sekali setelah dimulainya penanaman eksplan samapi munculnya kalus. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Saat pelengkungan (hari)
Pelengkungan eksplan diamati setiap hari setelah tanam sampai terjadi pelengkungan.
2. Saat pembengkakan (hari)
Pembengkakan eksplan diamati setiap 2 hari setelah tanam sampai terjadi pembengkakan.

3. Persentase pelengkungan (%)

Dihitung dari jumlah eksplan yang melengkung. Perhitungan persentase berdasarkan rumus :

$$\text{Persentase pelengkungan} = \frac{\text{eksplan yang melengkung}}{\text{eksplan yang ditanam}} \times 100\% \quad (1)$$

4. Persentase pembengkakan (%)

Dihitung dari jumlah eksplan yang membengkak. Perhitungan persentase berdasarkan rumus :

$$\text{Persentase pembengkakan} = \frac{\text{eksplan yang membengkak}}{\text{eksplan yang ditanam}} \times 100\% \quad (2)$$

5. Persentase Brwoning

Ekplan yang mengalami browning berdasarkan warna eksplan yang berubah dari berwarna hijau menjadi kecoklatan atau hitam. Perhitungan persentasi berdasarkan rumus

$$\text{Persentase browning} = \frac{\text{Eksplan yang browning}}{\text{Eksplan yang ditanam}} \times 100\% \quad (3)$$

2.5 Analisis Data

Data pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam yang sesuai dengan rancangan yang digunakan. Apabila dalam hasil terdapat pengaruh yang nyata, akan dilanjutkan dengan uji Duncan 5%. Data yang tidak bisa dianalisis ditabulasi dan dibahas secara deskriptif.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

Hasil analisis sidik ragam pengaruh pemberian ZPT 2,4 D (D) terhadap semua peubah yang diamati dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan contoh analisis secara lengkap disajikan pada Lampiran.

Tabel .1 Signifikansi Pengaruh ZPT 2,4D (D) terhadap Peubah yang diamati.

No	Peubah	Perlakuan
		D
1	Saat eksplan melengkung (HST)	ns
2	Persentase rata-rata jumlah eksplan melengkung (%)	ns
3	Saat eksplan membengkak (HST)	ns
4	Persentase rata-rata jumlah eksplan membengkak (%)	ns
5	Persentase rata-rata browning (%)	ns

Keterangan : ns: berpengaruh tidak nyata
* : berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 1. terlihat bahwa peubah ZPT 2,4 D (D) berpengaruh tidak nyata terhadap semua peubah yang diamati.

3.1.1 Saat Eksplan Melengkung (HST)

Saat pelengkungan eksplan diamati setiap hari setelah tanam dan diamati hari keberapa terjadi pelengkungan eksplan. Tabel 2 menunjukkan kecenderungan saat eksplan melengkung paling cepat dicapai pada media D3 (3,00 HST), sedangkan kecenderungan paling lama pada media D1(3,40 HST) dan D4 (3,40 HST).

3.1.2 Rata-rata Persentase Eksplan Melengkung (%)

Rata-rata persentase eksplan melengkung dihitung dari jumlah eksplan yang melengkung. Perlakuan D2 (54,76%) dan D3 (54,76%) memberikan rata-rata persentase eksplan melengkung tertinggi, sedangkan perlakuan D0 (46,95%), D1 (46,95%) dan D4 (46,95%) menunjukkan rata-rata persentase eksplan melengkung terendah (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan (D) terhadap Saat Eksplan Melengkung (HST) dan Rata-rata Persentase Ekplan Melengkung (%)

Perlakuan	Saat Eksplan Melengkung (HST)	Rata-rata Persentase Eksplan Melengkung (%)
D0	3,20 a	46,95 a
D1	3,40 a	46,95 a
D2	3,20 a	54,76 a
D3	3,00 a	54,76 a
D4	3,40 a	46,95 a
BNT		

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada uji BNT

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan ZPT 2,4 D (D) terhadap Saat Eksplan Membengkak (HST), Rata-rata Persentase Eksplan Membengkak (%), dan Rata-rata Persentase Browning (%)

Perlakuan	Saat Eksplan Membengkak (HST)	Rata-rata Persentase Eksplan Membengkak (%)	Rata-rata Persentase Browning (%)
D0	13,50 a	39,14 a	46,95 a
D1	12,90 a	41,53 a	46,95 a
D2	12,70 a	49,34 a	43,05 a
D3	12,90 a	49,34 a	50,86 a
D4	12,90 a	39,14 a	46,95 a
BNT			

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada uji BNT

3.1.3 Saat Eksplan Membengkak (HST)

Saat pembengkakkan eksplan diamati setiap hari setelah tanam sampai terjadi pembengkakkan dan diamati hari keberapa terjadi pembengkakkan eksplan. Tabel 3. menunjukkan kecenderungan saat eksplan membengkak paling cepat dicapai pada media D2 (12,70 HST), sedangkan kecenderungan paling lama pada media D0 (13,50 HST).

3.1.4 Rata-rata Persentase Eksplan Membengkak (%)

Rata-rata persentase eksplan membengkak di hitung setelah ekplan mengalami pembengkakkan. Berdasarkan Tabel 3., kecenderungan rata-rata persentase eksplan yang membengkak tertinggi pada perlakuan D2 (49,34%) dan D3 (49,34%) sedangkan perlakuan D0 (39,14%) dan D4 (39,14%) menunjukkan rata-rata persentase ekplan yang membengkak terendah.

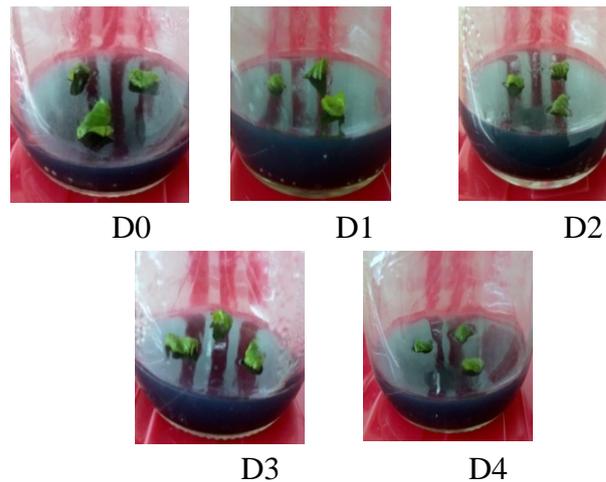
3.1.5 Rata-rata Persentase Browning (%)

Rata-rata persentase browning dihitung pada umur 1 minggu setelah tanam (MST). Perlakuan D3 (50,86%) menunjukan kecenderungan rata-rata persentase browning tertinggi dan perlakuan D2 (43,05%) menunjukan kecenderungan rata-rata persentase browning terendah (Tabel 3.).

3.2 Pembahasan

Uji statistika menunjukan bahwa perbedaan antar perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap semua peubah yang diamati (Tabel 1). Perlakuan dengan level konsentrasi ZPT berpengaruh tidak nyata terhadap semua peubah yang diamati.

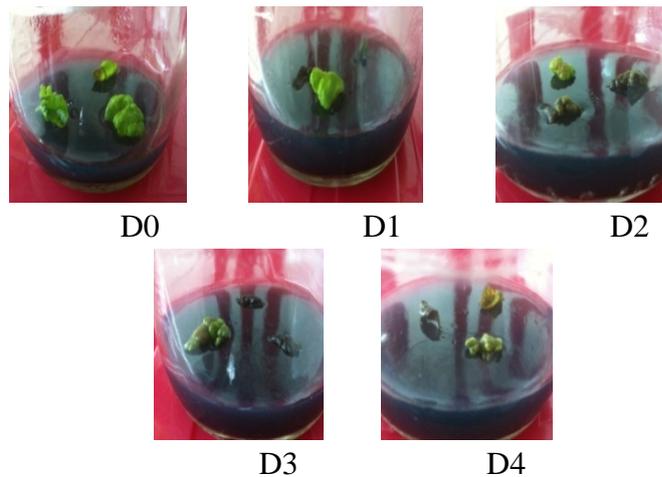
Level konsentrasi ZPT berpengaruh tidak nyata pada semua peubah yang diamati. Perlakuan D2 (54,76%) dan D3 (54,76%) memberikan nilai persentase pelengkungan tertinggi dibandingkan perlakuan yang lain, namun pelengkungan tercepat dicapai oleh perlakuan D3 (3,00 HST) (Tabel 2) pelengkungan eksplan dapat dilihat pada Gambar 1. Perbedaan yang terjadi dikarenakan adanya perbedaan jumlah konsentrasi yang diberikan. Audus (1963) dalam Hidayat (2009) menyatakan bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda untuk setiap tanaman, jenis tanaman bahkan berbeda pula antar varietas dalam suatu spesies. Perbedaan konsentrasi tersebut menyebabkan pelengkungan dibebberapa perlakuan tidak optimal. Pelengkungan terjadi 3-4 HST dikarenakan hormon 2,4 D mempengaruhi permeabilitas sel sehingga air masuk secara osmosis kedalam sel dan menyebabkan kekakuan pada bagian daun yang mengalami pelukaan (Yuyun, 2010).



Gambar 1 : Pelengkungan eksplan daun stroberi pada berbagai perlakuan.

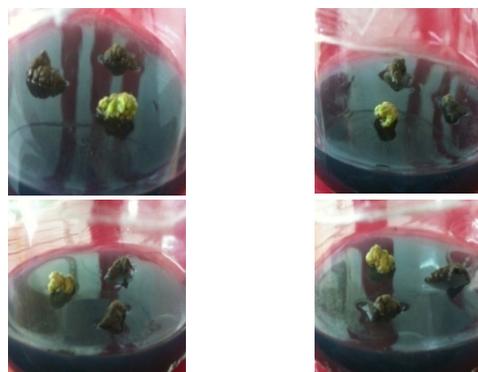
Penambahan 2,4 D merupakan zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan pada media kultur (Syahid dan Hernani, 2001). Zat pengatur tumbuh ini bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi (Hendrayono dan Wijayani, 1994). Penambahan 2,4 D dalam media kultur akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid (Bekti dkk, 2003). Hal serupa juga disampaikan oleh Pierik (1987), yang menyatakan bahwa 2,4 D dapat menyebabkan pemanjangan sel, pembengkakan jaringan dan pembentukan kalus.

Perlakuan D2 (12,70 HST) menunjukkan saat pembengkakan tercepat namun persentase pembengkakan tertinggi dicapai D2 (49,34%) dan D3(49,34%) (Tabel 3.) saat pembengkakan eksplan dapat dilihat pada Gambar 2. Eksplan pada seluruh perlakuan rata-rata mulai mengalami pembengkakan 12-14 HST. Pembengkakan yang terjadi karena adanya pengaruh pemberian 2,4D pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan setelah terjadinya proses pelengkungan akibat penyerapan air dan nutrisi dari media yang selanjutnya disertai dengan tahap perbanyakan sel. Proses ini sesuai dengan pernyataan Salisbury dan Ross dalam M. Satria, *dkk* (2012) bahwa sel tumbuhan memiliki kemampuan untuk menyerap air dan unsur hara sehingga menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran dan jumlah sel yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya pembengkakan jaringan. Pembengkakan eksplan di tandai dengan perubahan pada bekas pelukaan yang membuat jaringan bagian pinggir dari eksplan menebal dikarenakan secara anatomi, pembesaran jaringan ini disebabkan oleh terjadinya penambahan ukuran dan jumlah sel-sel eksplan tampak lebih besar didaerah abaksial, sehingga terjadinya pembengkakan (Hendrayono, 1994). Hal tersebut diduga karena pengaruh dosis ZPT 2,4D. Umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif, dalam medium kultur auksin dibutuhkan untuk meningkatkan embriogenesis somatik pada kultur suspense sel (George dan Sherrington, 1984).

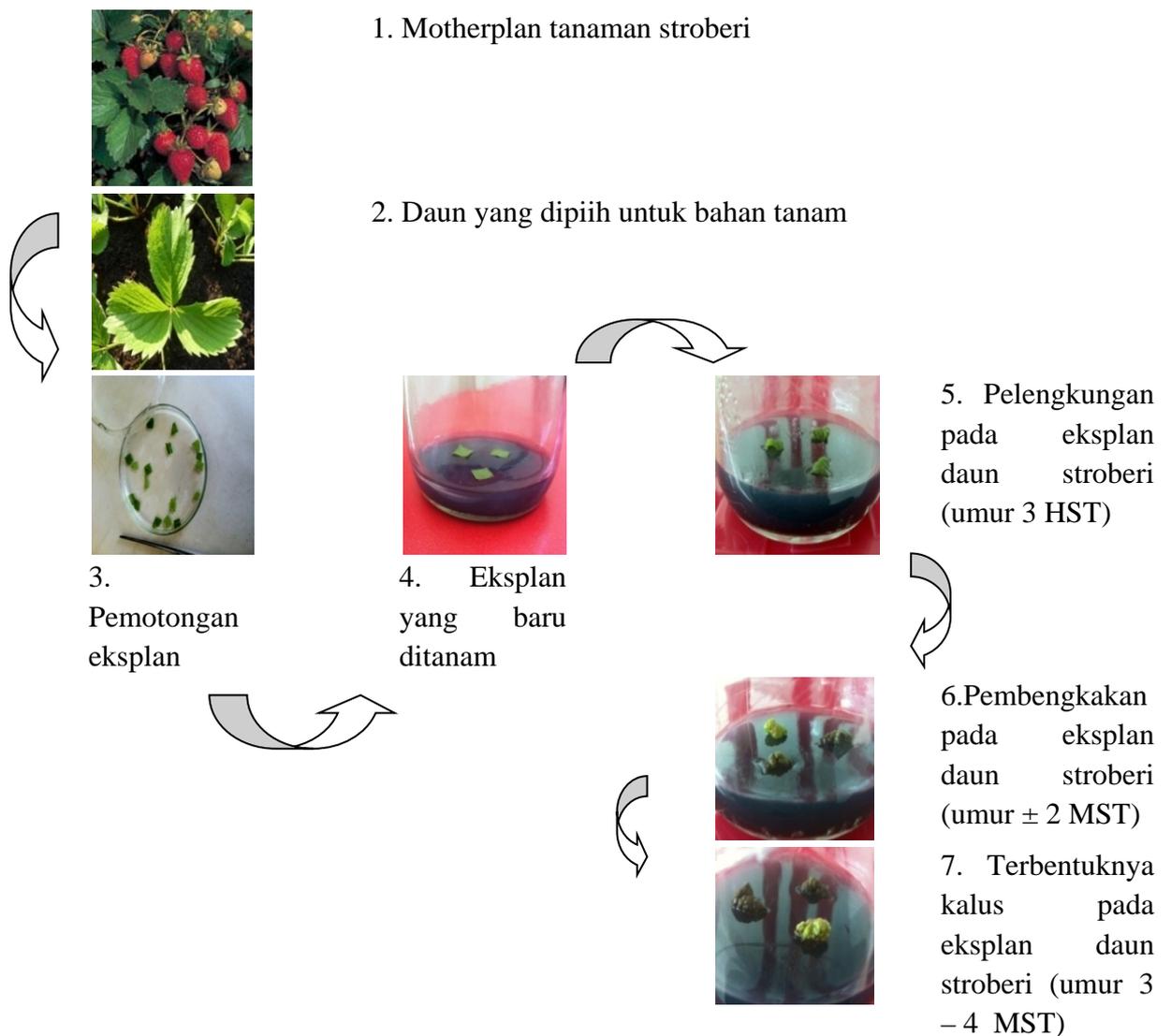


Gambar 2 : Pembengkakan eksplan daun stroberi pada berbagai perlakuan.

Dari hasil pengamatan kultur kalus pada eksplan daun stroberi (*Fragaria spp.*) menunjukkan bahwa eksplan mampu menghasilkan kalus hanya pada perlakuan D2 dengan kombinasi media MS dan pemberian 2,4 D 1ppm (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa ZPT 2,4 D dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan kalus dari kultur daun stroberi (Marlin, *dkk*, 2007). Hasil yang sama juga dinyatakan oleh Aniel Kumar et al. (2010), bahwa pembentukan kalus menjadi menurun pada media dengan pemberian 2,4 D dalam konsentrasi yang lebih tinggi.. Hal ini didukung dengan pernyataan Hendaryono dan Wijayani (1994), pemakaian zat pengatur tumbuh 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan mampu menginduksi kalus dalam waktu yang singkat antara 2-4 minggu, serta penggunaannya pada kadar tinggi dapat menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan karena merupakan auksin kuat. Namun adanya penambahan 2,4 D ke dalam media kultur sangat diperlukan untuk menghasilkan kalus embriogenik (George dan Sherrington,1984).



Gambar 3. : Kalus dari daun stroberi pada perlakuan D2



Gambar 4 : Tahapan perkembangan ekplan daun stroberi sampai terbentuknya kalus.

Selanjutnya kalus yang dihasilkan dari kombinasi medium MS dengan pemberian 2,4D tersebut menunjukkan bahwa kalus berwarna coklat keputihan, warna coklat pada kalus mengindikasikan penuaan pada kalus. Menurut Palupi et al. (2004) bahwa kalus yang berwarna coklat merupakan kalus yang mengalami proses penuaan (senesensi) sel.

Dalam penelitian ini pencoklatan sudah terjadi saat umur 4 MST. Perlakuan D3 menunjukkan kecenderungan nilai rerata tertinggi pada peubah persentase rata-rata pencoklatan (Tabel 3). Pencoklatan dimulai dengan munculnya warna coklat atau hitam di bagian tepi eksplan hingga akhirnya seluruh bagian eksplan tampak berwarna coklat. Pencoklatan tersebut sering membuat pertumbuhan dan perkembangan eksplan terhambat. Bagian tepi eksplan tersebut merupakan bagian yang mengalami pelukaan saat pengirisan eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Hutami (2006), dimana pencoklatan merupakan peristiwa alamiah yang bisa terjadi

pada sistem biologi, yaitu proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat pengaruh fisik dan biokimia

Proses pencoklatan juga sering terjadi karena rangsangan kimia, seperti aktivitas enzim pengoksidasi yang mengandung tembaga (Cu^{2+}) seperti polifenol oksidase dan tirosinase (Lerch, 1981). Polifenol oksidase mengkatalisis reaksi oksidasi yang menggunakan molekul oksigen sebagai co-substrat. Reaksi ini tidak hanya tergantung pada adanya oksigen, tetapi juga pada pH. Santoso dan Fatimah (2001) menyatakan bahwa enzim polifenol oksidase optimalnya pada pH 6,5 dan menurun seiring dengan turunnya pH. Reaksi oksidase tidak akan berlangsung pada pH rendah. Hal inilah yang menyebabkan pada saat pembuatan media kultur harus dikondisikan pada pH 5,8.

Proses pencoklatan menurut George dan Sherrington (1984) dapat ditanggulangi dengan beberapa cara, antara lain: menghilangkan senyawa fenolik, memodifikasi potensial redoks, menghambat aktivasi enzim fenol oksidase, serta menurunkan aktivitas fenolase dan ketersediaan substrat. Senyawa fenol dapat dikurangi dengan melakukan pencucian. Eksplan yang diisolasi dapat direndam dalam air steril selama 2-3 jam sebelum ditanam pada medium. Selain itu, solusi untuk mengurangi pencoklatan dapat menggunakan arang aktif, *cysteine*, asam askorbat, PVP (*polyvinylpyrrolidone*), dan *silver nitrate* (Abdelwahd *dkk.* 2008: 1000; George *dkk.* 2008: 621).

Menurut hasil penelitian Abdelwahd *dkk.* (2008: 997—1002), arang aktif dan asam askorbat lebih efektif dibandingkan *cysteine* dan *silver nitrate* dalam mencegah pencoklatan pada tanaman *Vicia faba*. Selain itu, arang aktif lebih efektif dibandingkan asam askorbat dan PVP dalam mengurangi pencoklatan pada *Dipterocarpus alatus* dan *Dipterocarpus intricatus* (Pan & Van Staden 1998: 156). Sementara itu, Chang *dkk.* (2001 : 497) menyatakan bahwa, arang aktif yang dikombinasikan dengan *silver nitrate* lebih efektif dibandingkan PVP dan asam askorbat pada *Taxus mairei*.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pada hasil uji statistik pengaruh pemberian 2,4 D tidak berbeda nyata terhadap semua peubah yang diamati.
2. Perlakuan D2 memberikan pertumbuhan terbaik yang ditunjukkan pada persentase pelengkungan tertinggi (54,76%), pembengkakan tercepat (12,70 hst), persentase pembengkakan tertinggi (49,34%), dan persentase pencoklatan tersendah (43,05%).
3. Peubah yang sudah berhasil menumbuhkan kalus hanya D2.

4.2 Saran

1. Perlu dikaji metode sterilisasi untuk meminimalisir kontaminasi dan pencoklatan pada eksplan daun stroberi dan alat yang digunakan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada setiap pihak yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini khususnya kepada pembimbing skripsi yang telah membimbing dalam penyusunan tugas akhir.

Daftar Pustaka

- Abdelwahd, R, N. Hakam, M. Labhilili & S. M. Udupa. 2008. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics in *in vitro* plantlet regeneration of faba bean. *African Journal of Biotechnology* 7(8): 997—1002.
- Aniel Kumar, O., S. Ubba Tata, and T. Rupavati. 2010. *In vitro* induction of callusogenesis in chilli pappers (*Capsicum nnum* L.). *International J. of Current Res.* 3:42-45.
- Bekti, R, Solichatum, E. Anggarwulan.2003. Pengaruh asam 2,4 diklorofenoksiasetat (2,4 D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan klus serta kandungan flavonoid kultur kalus *acalypha indica* L. *Biofarmasi*. Vol 1, ISSN: 1693-2242.
- Boxus, Ph. 1974. The production of strawberry plants by *in vitro* micro propagation *J. Hort. Sci.* 49 : 209 -210.
- George, E.F. & P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Limited, Basingstokes: viii + 709 hlm.
- Hendrayono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalan dan petunjuk perbanyakan stroberi secara vegetatif media)*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hidayat, T. 2009. *Pengantar Bioteknologi*. UPI. Bandung.
- Hutami, S. 2006. Penggunaan arang aktif dalam kultur *in vitro*. *Berita Biologi* 8(1): 83-89.
- Kurnia, A. 2005. *Petunjuk Praktis Budidaya Stroberi. Kiat Mengatasi Masalah Praktis*. Agromedia Pustaka. Jakarta. Hal 3-23.
- Lerch K. 1981. Tyrosinase Kinetics: A semi-quantitative model of the mechanism of oxidation of monohydric and dihydric phenolic dalam Hutami, S. Ulasan „Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan“. *AgroBiogen*, 4(2): 83-88.
- Palupi, A. D., Solichatun, dan S. D. Marlina, 2004, *Pengaruh Asam 2,4-Diklorofeniksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) terhadap Kandungan Minyak Atsiri Kalus Daun Nilam (Pogostemon cablin Benth)*. *BioSMART* 6(2): 99-103.
- Pierik, R.M.L. 1987. *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff Publisher Dordrecht. The Netherlands. p71.
- Santoso, U. dan Fatimah, N. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM. Malang.
- Syahid, S.F. dan Hernani. 2001. Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan pertumbuhan serta kandungan sinensetin dalam kalus pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatu*). *Jurnal Littri* 4: 99-103.
- Wandra. 2007. *Budidaya Tanaman Stroberi*. Belum dipublikasikan.
- Yuyun, F. 2010. *Teknik Sterilisasi dan Efektifitas 2,4 D Terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun Nilam In Vitro*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Zebrowska, JI (2004). Micropropagaon in the strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) inbred lines. *Food, Ag. & Environ.* 2:253-255.