

## Induksi Kalus dengan 2,4-D pada Mikropropagasi Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Rosalinda)

I.A. PUTRI DARMAWATI, RINDANG DWIYANI DAN HESTIN YUSWANTI

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana  
Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali 80232  
E-mail:yunik.darma@yahoo.com

### ABSTRACTS

**Callus Induction with Application of 2,4-D in Micropropagation of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Rosalinda).** Strawberry is grown and well planted in many countries and has a high economic value. In Bali, the center production is in Pancasari Village, Sukasada District, Buleleng Regency. The limited number and quality of seedling are the problems currently faced by strawberry farmers at Pancasari Village. Seedlings produced by conventional propagation are limited and are not able to meet the needs of seedling available for planting area. This study offers a solution to the problem by applying micropropagation technique through callus induction. The research aim is to find the optimal concentration of 2,4-D to induce callus of strawberry. Callus that forms will be used as the material for the next growing into young plants regenerated seedlings. This experiment used a completely randomized design with 2 factors. The first factor was the concentrations of 2,4-D with five levels of treatments, i.e. 0; 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 ppm and the second factor was type of explants used, including tip, middle and base of leaf. Results showed that 2,4-D concentration of 1 and 2 ppm applied on the base of the leaf is able to induce 100% callus at 14 days after planting. Callus formed was greenish white. The callus will be regenerated into plantlets or young plants.

---

Key words Strawberry, 2,4-D, Callus

### PENDAHULUAN

Stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch) merupakan salah satu jenis buah yang sangat populer, dibudidayakan secara komersial di banyak negara serta memiliki nilai ekonomis tinggi (Biswas, *et al.*, 2007). Kandungan gizi buah stroberi sangat baik untuk kesehatan tubuh karena termasuk buah yang tinggi serat, rendah lemak, mengandung vitamin, karetenoid, phenol, flavanoid serta merupakan antioksidan alami (Nehra *et al.*, 1994; Samir *et al.*, 2007). Wang *et al.* (1996) menyebutkan bahwa ekstrak stroberi mempunyai *antioxidant activity* yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak jeruk, anggur merah, kiwi, pisang dan tomat. Hal ini ditunjukkan melalui pengujian kemampuan menyerap radikal bebas. Menurut

Chung *et al.* (2002), keuntungan ekstrak stroberi mempunyai *antioxidant activity* tinggi adalah dapat mencegah terjadinya penyakit kanker pada manusia, dan menekan perkembangan tumor.

Di Bali, pertanaman stroberi berpusat di Desa Pancasari, Kecamatan Sukasada, Kabupaten Buleleng. Produksi buah 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. Selain itu, pertanaman stroberi di daerah Pancasari juga dijadikan sebagai obyek agrowisata, sehingga adanya pertanaman yang sehat secara berkesinambungan juga menjadi keharusan.

Keterbatasan jumlah serta kualitas bibit

tanaman adalah permasalahan yang dihadapi petani stroberi Pancasari sehingga dampak dari permasalahan tersebut mengganggu produksi buah dan pasokan buah ke tempat-tempat tersebut di atas yang tidak dapat terpenuhi secara kontinyu (Gede Oka, komunikasi pribadi 2013). Inti permasalahan bibit tersebut dapat dirinci sebagai berikut: Yang pertama, harga bibit impor yang mahal, yakni sekitar Rp 15 000 / bibit. Hal ini menyebabkan petani hanya membeli bibit di awal pertanaman, sedangkan untuk pertanaman berikutnya (peremajaan setiap 2 tahun sekali) petani memproduksi bibit sendiri melalui perbanyakan vegetatif konvensional dengan *runner*. Kedua, bibit yang dihasilkan dengan perbanyakan konvensional ini jumlahnya terbatas dan tidak mampu memenuhi kebutuhan bibit untuk areal pertanaman yang ada. Ketiga, kuantitas dan kualitas buah stroberi yang dihasilkan dari bibit *runner* ini rendah sehingga produksi buah secara keseluruhan merosot drastis. Ketiga hal tersebut di atas diduga menjadi penyebab diskontinuitas produksi sehingga pasokan buah stroberi ke hotel, restoran serta pasar menjadi terganggu. Menurut Dijkstra (1993) dan Nehra *et al.*(1994), bibit tanaman stroberi yang berasal dari *runner* sensitif terhadap serangan patogen, hal ini dapat menjelaskan bahwa kuantitas dan kualitas buah dari bibit yang berasal dari *runner* rendah.

Penelitian ini menawarkan solusi permasalahan bibit tersebut melalui metode perbanyakan dengan mikropropagasi. Mikropropagasi merupakan metode perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan teknik kultur *in vitro*. Metode ini menggunakan bagian kecil organ tanaman sebagai bahan awal (disebut eksplan) untuk menghasilkan anakan yang secara genetik identik dengan induknya serta dihasilkan dalam jumlah besar dan dalam waktu yang relatif singkat (Indrianto, 2003). Keuntungan dari metode ini adalah dihasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat, bibit bebas virus serta bibit dapat disimpan lama dalam kondisi aseptik (Mullin, *et al.*, 1976; Zimmerman, 1981; Dijkstra, 1993). Karhu, *et al.*

(2002), menyatakan bahwa bibit stroberi yang dihasilkan melalui mikropropagasi memiliki karakter yang lebih kompetitif dibandingkan secara konvensional, yakni meningkatnya jumlah *runner*, ukuran *runner*, waktu pembungaan relatif singkat serta meningkatkan hasil panen.

Salah satu teknik mendapatkan bibit dalam mikropropagasi adalah induksi embrio somatik secara tidak langsung melalui pembentukan kalus (kalogenesis) dengan 2,4-D. Pada kalogenesis, Mathur and Koncz (2013) melaporkan bahwa 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic acid) superior untuk pembentuk kalus dalam mikropropagasi. Yuyun (2010), konsentrasi 2,4-D 0,5 ppm paling efektif membentuk kalus dari eksplan daun nilam. Sedangkan Thao *et al.*(2003), Imron dkk(2004), Fatimah dkk(2007), menemukan kombinasi 2,4-D dengan kinetin berhasil menginduksi kalus masing-masing pada daun *Alocasia sp.*, daun kopi dan daun keladi tikus. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa masing-masing species tanaman memiliki respon yang berbeda terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan, dalam hal ini 2,4-D. Begitu juga bagian tumbuhan tertentu yang digunakan sebagai bahan tanam (eksplan), menunjukkan respon yang berbeda walau jenis zat pengatur tumbuhnya sama.

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian ini dilaksanakan, yang bertujuan untuk menemukan konsentrasi optimal 2,4-D dalam menginduksi kalus. Serta pada bagian mana dari helaian daun dapat membentuk kalus. Kalus yang terbentuk nantinya digunakan sebagai bahan tanam berikutnya untuk diregenerasikan menjadi tanaman muda (bibit).

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Jl. Pulau Moyo Denpasar. Penelitian dilaksanakan dari Bulan Mei- Agustus 2013. Bahan tanam yang digunakan tanaman stroberi dari petani stroberi Pancasari, yang dikarantina terlebih dahulu dengan perlakuan penyemprotan fungisida

dan bakterisida 2g/l satu kali dalam seminggu. Formulasi media dasar yang digunakan media Murashige dan Skoog (MS), derajat keasaman media diatur pada pH 5.6 -5.8. Bahan sterilan (detergent, Dithane, Clorox dan alkohol). Suhu ruangan berkisar antara 26 -30° C. Cahaya yang diberikan berintensitas 600 -900 lux dengan panjang penyinaran 24-jam, berasal dari lampu fluorescent.

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 faktor perlakuan. Faktor I konsentrasi 2,4-D dengan 5 taraf perlakuan yakni 0 (M0) ; 0,5 (M1); 1,0 (M2); 1,5 (M3); 2,0 (M4) ppm. Faktor II bagian daun 3 taraf perlakuan yakni ujung (U), tengah (T), dan pangkal (P). Kombinasi perlakuan diulang 3 kali.

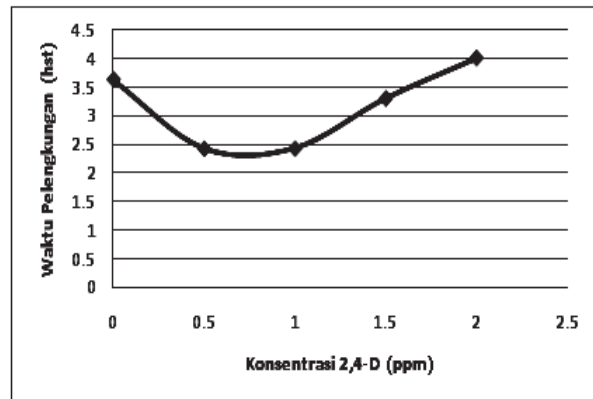
Pengamatan dilakukan setiap tiga hari sekali, variabel yang diamati adalah saat terjadi pelengkungan, persentase pembengkakan eksplan, persentase pembentukan kalus dan warna kalus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kalus merupakan kumpulan sel yang terbentuk dari proses pembelahan sel sangat cepat. Hasil pengamatan terhadap perkembangan eksplan daun stroberi menjadi kalus menunjukkan bahwa perlakuan mampu menstimulasi terbentuknya kalus. Hasil pengamatan ditampilkan pada Tabel 1.

Berdasarkan tabel tersebut, penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 - D pada media dasar MS semua perlakuan konsentrasi mampu mempengaruhi perkembangan eksplan terutama pada variabel pelengkungan dengan kisaran waktu 2 - 4 hari setelah tanam. Helaiian daun yang menggulung/melengkung atau tulang daun yang membesar disebabkan pengaruh auksin (2,4 – D) dan tekanan turgor. Adanya auksin menyebabkan dinding sel mengendur dan merenggang. Pengenduran dinding sel ini terjadi karena adanya sekresi asam dengan cara mengaktifkan suatu enzim pada pH tertentu. Enzim tersebut memutus ikatan antara molekul selulosa pada dinding sel. Di samping itu, dengan merenggangnya sel maka akan menyebabkan pemanjangan sel. Tekanan

turgor terjadi apabila sel menyerap molekul air, sebagai respon meningkatnya konsentrasi zat terlarut yang ada dalam vakuola. Dengan demikian, akan menyokong perluasan sel yang terjadi (Uno *et al.*, 2001). Konsentrasi 2,4-D 0,5 dan 1 ppm tercepat menginduksi pelengkungan eksplan dengan rata-rata 2,43 HST (Gambar 1).



Gambar 1. Saat Pelengkungan Eksplan Daun Stroberi

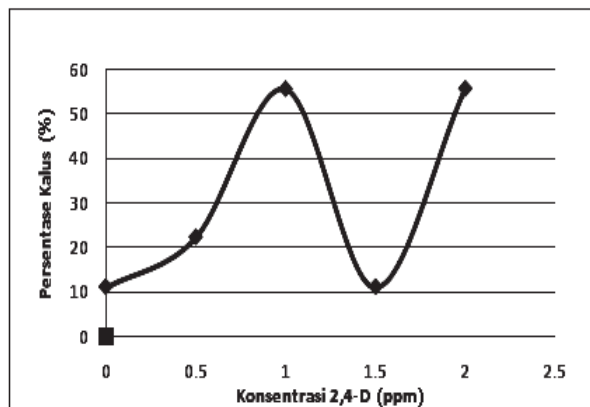
Perkembangan selanjutnya, hanya penambahan zpt 2,4 - D konsentrasi 1 ppm dan 2 ppm pada media MS yang menyebabkan terjadinya pembengkakan sel 100 % pada pangkal dau. Hal ini diduga bahwa konsentrasi 2,4-D tersebut yang mempengaruhi aktifitas sel memasuki fase G1 (fase persiapan untuk pembelahan sel). Kemudian pada umur 14 hsteksplan yang mengalami pembengkakan mengalami perkembangan selanjutnya membentuk kalus yakni proliferasi sel (pembelahan sel yang sangat cepat). Sesuai dengan hasil penelitian Mathur and Koncz (2013) bahwa 2,4-D (Dichlorophenoxyaceticacid) superior untuk pembentukan kalus dalam mikro propagasi. Konsentrasi 2,4-D 1 dan 2 ppm pada pangkal daun menginduksi terbentuk kalus 100% atau lebih tinggi 33,3 % dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 0,5 dan 2 ppm 2,4-D pada bagian ujung daun. Perbedaan ini diduga tidak hanya dipengaruhi oleh zpt yang diberikan pada media kultur saja, melainkan juga dipengaruhi oleh kadar hormon endogen pada eksplan. Kadar hormon

Tabel 1. Rata-Rata Saat Pelengkungan, Persentase Pembengkakan Eksplan dan Pembentukan Kalus serta Warna Kalus

Perlakuan	Saat pelengkungan (hst)	Variabel Yang Diamati		WarnaKalus
		Persentase Pembengkakan Eksplan 7hst(%)	Persentase Pembentukan Kalus 14 hst(%)	
M0U	3,3	33,3	33,3	Putihkehijauan
M0T	3,6	0,0	0,0	-
M0P	4,0	0,0	0,0	-
M1U	2,0	66,7	66,7	Putihkehijauan
M1T	2,3	0,0	0,0	-
M1P	3,0	0,0	0,0	-
M2U	2,0	0,0	0,0	-
M2T	3,0	66,7	66,7	Putihkehijauan
M2P	2,3	100,0	100,0	Putihkehijauan
M3U	3,0	0,0	0,0	-
M3T	4,0	0,0	0,0	-
M3P	3,0	33,3	33,3	-
M4U	4,0	66,7	66,7	Putihkehijauan
M4T	4,0	0,0	0,0	-
M4P	4,0	100,0	100,0	Putihkehijauan

Keterangan :hst = harisetelahtanam

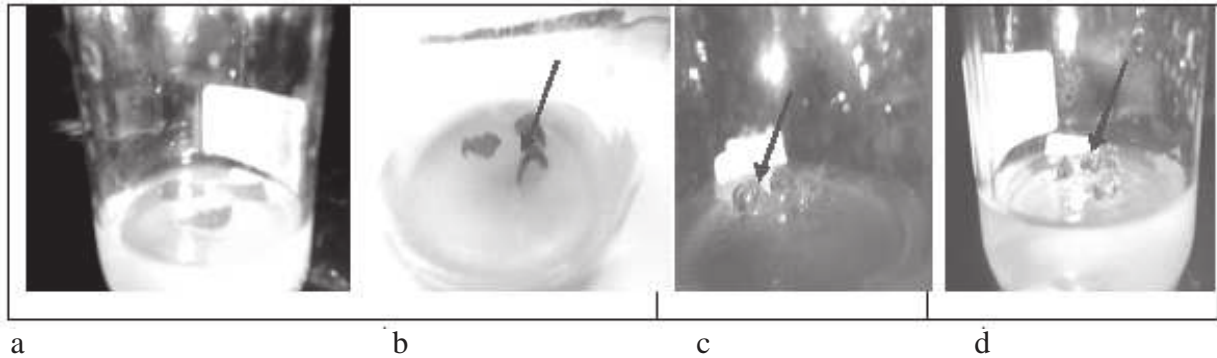
endogen yang berbeda pada setiap eksplan akan mempengaruhi respon suatu eksplan terhadap pemberian zpt, meskipun eksplan ditanam dalam media kultur yang sama. Abidin (1990), Salisburry dan Ross (1995) menyatakan zpt pada konsentrasi tertentu mampu menghambat kerja hormon endogen dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel. Grafik pertumbuhan kalus dari



Gambar 2. Persentase Pembentukan Kalus

beberapa konsentrasi perlakuan 2,4 - D dapat dilihat pada Gambar 2.

Pengamatan terhadap warna kalus. Pada awal pembentukannya, kalus berwarna putih, hal ini menunjukkan bahwa pada kalus tersebut terjadi degradasi klorofil. Menurut Uno *et al.* (2001), secara biokimia proses terjadinya degradasi klorofil melalui hilangnya rantai *phyton* karena enzim klorofilase sehingga terbentuk klorofilin atau klorofilid. Klorofilid dapat didekomposisi lebih lanjut menjadi pheophorbides yang menyebabkan kalus (berwarna coklat) dan klorins (tak berwarna). Kemudian pada minggu berikutnya kalus tersebut berwarna hijau keputihan (hijau olive) (Gambar 3). Warna hijau pada kalus tersebut diduga pengaruh sitokinin endogen. Menurut Santosa dan Nursandi (2001), dalam kegiatan kultur jaringan sitokinin terbukti dapat mendorong pembentukan klorofil pada kalus. Perkembangan kalus selanjutnya, kalus tersebut membesar dan



Gambar 3. Perkembangan eksplan pangkal daun pada media MS + 1ppm 2,4-D menjadi kalus. Berturut-turut (a) eksplan pangkal daun saat tanam, (b) pelengkungan eksplan 3 hst, (c) pembengkakan eksplan 7 hst, (d) kalus 14 HST

hampir menutupi permukaan eksplan. Hingga akhirnya kalus membesar dan pada permukaan kalus berwarna hijau muda dan muncul gumpalan-gumpalan kecil (nodul) yang disebut *green spot*, dimana menurut Maftuchah dan Loedin (2000) terbentuknya *green spot* pada kalus merupakan salah satu tanda awal terjadi induksi tunas. Kalus berwarna kehijauan merupakan kalus embriogenik artinya ada potensi untuk membentuk tanaman muda.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Eksplan pangkal daun dengan pemberian 2,4-D konsentrasi 1 dan 2 ppm memberikan hasil terbaik untuk pembentukan kalus pada mikropropagasi tanaman stroberi. Sebanyak 100% dari eksplan yang ditanam pada kombinasi perlakuan ini mampu membentuk kalus pada 14 hari setelah tanam. Kalus yang terbentuk berwarna putih kehijauan.

### Saran

Hasil percobaan ini selanjutnya dapat digunakan kembali untuk multiplikasi atau memperbanyak jumlah kalus. Kemudian perlu penelitian lanjutan dengan meregenerasikan kalus menjadi tanaman muda melalui aplikasi zat pengatur tumbuh golongan sitokinin, sehingga permasalahan yang dihadapi petani stroberi Pancasila dapat diatasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih dan penghargaan yang tinggi penulis sampaikan kepada Universitas Udayana melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat untuk pembiayaan penelitian ini yang diberikan melalui Skim Penelitian Unggulan Udayana Tahun Anggaran 2013, dengan Surat Perjanjian Penugasan Penelitian No: 174.7/UN14.2/PNL.01.03.00/2013, tanggal 16 Mei 2013.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1990. Dasar – Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa. Bandung.
- Bhojwani, S.S., Razdan, M.K. 1983. Plant Tissue Culture. Theory and Practice. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. 502p.
- Biswas, R. Karim, M.B. Ahmed, U.K. Roy, R. Karim, M.A. Rozvy, M. Hossain, R. Islam and A. Haque. 2007. Multiple Shoot Regeneration of Strawberry Under Various Colour Illumination. Am. J. Sci. Res. 2: 133–135
- Chung, M.J., S.H. Lee and N.J., Sung. 2002. Inhibitory Effect of whole strawberries, Garlic Juice or Kale Juice on endogenous Formation of N-nitrosodimetylenamine in Human. Cancer Letters 182:1 - 10

- Dijkstra J, 1993. Development of Alternative Methods for Healthy Propagation of Strawberry using cuttings. *Acta Horticulture* 348: 234 - 236
- Dodd, B. 1993. Plant tissue culture for horticulture. Queensland University of Technology. 80p.
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Limited. England. P. 125-257.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius. Yogyakarta.
- Hu, C.Y., Wang, P.J. 1983. Meristem, Shoot Tip and Bud Cultures. In Hand Book of Plant Cell Culture. Volume 1. Macmillan Publishing Co., New York and Collier Macmillan Publisher, London. Pp177-227.
- Indrianto, A. 2003. Kultur Jaringan Tumbuhan. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 134 hal.
- Karhu, S and K. Hakala, 2002. Mikropropagated Strawberry on the Field. *ISHS Acta Horticultural* 2 : 128
- Moradi, K., M. Otrushy and M.R. Azimi. 2011. Journal of Agricultural Technology. Vol. 7(6) : 1755 - 1763
- Maftuchah dan Loedin, I.H.S. 2000. Seleksi In Vitro Tanaman Lada Untuk Ketahanan Terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang. *Jurnal Agrobiogen* 1(1): 13-19
- Mahmood, S., Rashid, H., Quraishi, A., Iqbal, N., Saira Arjumand, S., Malik, M.N. 1994. Clonal Propagation of Strawberry Through Tissue Culture. *Pakistan J. Agric. Res.* 15 (1) : 54-59
- Mathur, J. and Koncz, C. 2013. Callus Culture and Regeneration (Download 22 Februari 2013)
- Moradi, K., M. Otrushy and M.R. Azimi. 2011. Journal of Agricultural Technology. Vol. 7(6) : 1755 - 1763
- Mullin RH, Schlegel DE, 1976. Cold Storage maintenance of Strawberry meristem plantlets. *Hort. Science* 11: 100 - 101
- Nehra, M.S., K.K. Kartha, Stushnoff and K.L. Giles. 1994. Effect of in - vitro Propagation Method on field performance of Strawberry Cultivars. *Euphytica* 76: 107 – 115
- Sakila, S., Ahmed, M.B., Roy, U.K., Biswas, M.K., Karim, R., Razvy, M.A., Hossain, R., Islam, R., Hoquo, A. 2007. Micropropagation of strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch.), A Newly Introduced Crop in Bangladesh. *Am.-Eurasian J. Sci. Res.* 2 (2): 151-154
- Salisbury, F.B dan Ross, C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan III edisi ke 4 Penerjemah Lukman, D.R. dan Sumaryono. ITB. Bandung
- Samir, C., Debnath, A. Jaime and Teixeira da Silva. 2007. Strawberry Culture In- Vitro : Application in Genetic Transformation and Biotechnology. Global Science Books
- Santosa dan Nursandi. 2001. Kultur Jaringan Tanaman. UMM Pres Malang.
- Sekretariat Daerah Propinsi Bali. 2012. Naskah Akademis Rancangan Peraturan Daerah Perlindungan Buah Lokal. Kerjasama Biro Perekonomian dan Pembangunan Sekretariat Daerah Pemerintah Provinsi Bali dengan Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Spiegel, S. 1998. Virus Certification of Strawberries, Plant Virus Disease Control. APS Press, St Paul Minn. pp 320-324
- Thompson, J.R., Jelkman, W. 2003. The detection and variation of strawberry mottle virus. *Plant Disease* 87 : 385-390
- Uno, G., Storey, R., and Moore, R. 2001. Principle of Botany. McGraw-Hill International Ed. New York
- Wang H., G. Cao and R.L. Prior. 1996. Total Antioxidant Capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 701 - 705
- Zimmerman RH, 1981. Micropropagation of Fruit plants. *Acta horticulture* 120 : 217 - 222