

Optimization of Callus Induction Using a Combination of 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid and Sitokinin on Pineapple (*Smooth cayenne*) Cales In Vitro

Agnes Putri Ayundaris¹⁾, Fatimah Nursandi^{2*)}, Agus Zainudin²⁾ Machmudi²⁾ Erny Ishartati²⁾

¹⁾ Student of Agrotechnology, Faculty of Animal and Agricultural Sciences, Muhammadiyah Malang University, Muhammadiyah Campus, Malang – Indonesia

²⁾ Lecturer of Agrotechnology, Faculty of Animal and Agricultural Sciences, Muhammadiyah Malang University, Muhammadiyah Campus, Malang – Indonesia

*) Corresponding Email: fatimahnsandi@umm.ac.id

ABSTRACT

INFORMATION

Article history:

Received: 29 Januari 2024

Revised : 3 Februari 2024

Accepted: 5 Maret 2024

Published: 26 Maret 2024

DOI:

<https://doi.org/10.22219/jtctst.v6i1.32887>

© Copyright Ayundaris et al.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



In Indonesia, pineapple is one of the horticultural commodities that has the potential to be developed. It is seen that the amount of demand for fresh pineapple from abroad is quite high. Intensification of pineapple land is still lacking where the number of pineapple seedlings planted has only reached 2,500 from ideally 10,000 stems per hectare. Alternative to overcome this problem is by propagating plants *in vitro* through callus induction which later is thought to potentially have quality and quantity seeds as expected. This study uses a combination of ZPT 2,4-D and cytokines which are expected to grow callus with good quality and relatively faster time. This study uses *Factorial Randomized Block Design* (RBD). By using the first factor namely 2,4-D concentration and the second factor cytokines (BAP and TDZ). The data can be analyzed for variance and a real honest test (BNJ) level of 5%. Based on the results of the study, it was found that the combination of giving concentrations to 2,4-D and cytokines was not significant for each parameter. The interaction between 2,4-D growth regulators and cytokinins has no significant effect on the induction of pineapple varieties of *Smooth cayenne*. The treatment of 2,4-D 0 mg/L - 5 mg/L growth regulators has no significant effect on callus induction *in vitro* on the *Smooth cayenne* varieties. The treatment of cytokinin (Thidiazuron 0.001 mg/L - 0.1 mg/L and BAP 0 mg/L - 4 mg/L) had no significant effect on *in vitro* callus induction on the *Smooth cayenne* varieties.

Keywords : *Ananas comosus* (*Smooth cayenne*), 2,4-D, Cytokinin

PENDAHULUAN

Nanas *Ananas comosus* (L.) Merr adalah salah satu komoditas buah unggulan di Indonesia. Salah satu nanas yang banyak ditanam adalah nanas Subang dari jenis *Smooth cayenne* yang memiliki buah dengan kadar air yang tinggi, berukuran besar, mata buah agak datar, rasanya agak masam dan berbentuk

silindris, sehingga mudah dalam proses pengalengan (Rukmana, 1996). Nanas *Smooth cayenne*, ciri-cirinya daunnya tidak berduri atau berduri hanya pada ujung-ujungnya dan ukuran durinya kecil-kecil. Bobot buahnya 2.3 kg, silindris, mata buah agak datar, warna kulit buah orange, warna daging buah kuning pucat sampai

kuning, hati (core) sedang, rasanya manis, kandungan serat sedikit. Varietas yang termasuk cayenne yaitu *smooth cayenne*, *cayenne lisse*, *smooth guatemalan*, *typhoon*.

Potensi nanas Indonesia cukup baik tetapi masih belum diupayakan secara optimal karena tingkat persaingan yang tinggi dengan produk hortikultura lain, masih rendahnya kualitas dan kuantitas pasokan nanas lokal serta informasi harga dan pasar masih belum secara transparan sampai ke tingkat petani (Lubis, 2014).

Data yang dikumpulkan dalam laporan Statistik Pertanian Hortikultura (SPH) (2014), Nanas berada di urutan ketiga dengan produksi sebesar 1.835.483 ton atau sekitar 9,27 persen dari total produksi buah di Indonesia. Sentra produksi nanas terbesar ada di Pulau Sumatera dengan total produksi sebesar 1.191.486 ton atau sekitar 64,91 persen dari total produksi nanas nasional.

Kendala yang dihadapi dalam pengembangan agroindustri nanas antara lain (1) terbatasnya penyediaan bibit yang berkualitas dalam jumlah banyak dan seragam, (2) produktivitas nenas yang rendah, (3) jumlah kultivar yang tersedia masih sedikit, (4) kebun produksi yang ada umumnya merupakan kebun tua, (5) adanya serangan penyakit MWaV (*mealybag wilt associated virus*) pada tanaman nanas, (6) teknologi pengendalian pertumbuhan vegetatif dan reproduktif untuk menghasilkan produktivitas dan kualitas hasil yang tinggi masih terbatas (Elfiana, V.d, 2012).

Kultur jaringan adalah teknik memperbanyak tanaman dengan cara memperbanyak jaringan mikro tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* menjadi tanaman yang sempurna dalam jumlah yang tidak terbatas. Prinsip dasar kultur jaringan adalah totipotensi sel, yaitu bahwa setiap sel organ tanaman mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila ditempatkan di lingkungan yang sesuai yakni dengan iklim, suhu, media dan ZPT pada media kultur jaringan (Yuliarti, 2010).

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan senyawa sintesis yang dapat digunakan sebagai zat pengatur tumbuh maupun sebagai herbisida. 2,4-D sebagai auksin menyebabkan perluasan dan pemanjangan sel tidak terjadi tetapi memicu pembelahan sel. Pembelahan sel yang berlebihan dan tidak diikuti dengan perluasan dan pemanjangan mengakibatkan terjadinya kalus. Pemberian 2,4-D pada medium dasar kultur *in-vitro* dapat menginduksi kalus dan menyebabkan pertumbuhan kalus terus berlangsung (Darwati, 2007).

Sitokinin merupakan senyawa organik yang menyebabkan pembelahan sel yang dikenal dengan proses sitokinesis. *Thidiazuron* merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam memperbanyak *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin (Pierik, 2005). Menurut Hariyanti (2004) menyatakan bahwa sitokinin berperan pada pembelahan sel bukan pada pemanjangan sel terlebih lagi dalam konsentrasi yang tinggi. Kemudian, pada struktur yang dimiliki oleh BAP mirip dengan

kinetin dan juga aktif dalam pertumbuhan dan proliferasi kalus. Sehingga BAP merupakan sitokinin yang paling aktif.

Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini bertujuan untuk Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin (*Thidiazuron* dan BAP) dalam menginduksi kalus nanas varietas *Smooth cayenne*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium kultur Mitra Anggrek Indonesia, jalan Hasanuddin I, No 24, Junrejo, Batu, Malang. Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dua faktorial. Faktor pertama yakni menggunakan konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid*) dengan 4 taraf, yaitu: D₀: (Tanpa 2,4-D), D₁: 2,4-D (3,0 ppm), D₂: 2,4-D (4,0 ppm), D₃: 2,4-D (5,0 ppm). Faktor 2 yakni menggunakan konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan *Thidiazuron* (TDZ) dengan 6 taraf dimana pada masing-masing berjumlah 3 taraf, yaitu: S₀: (Tanpa BAP), S₁: *Thidiazuron* 0,001 ppm, S₂: *Thidiazuron* 0,01 ppm, S₃: *Thidiazuron* 0,1 ppm, S₄: BAP 2,0 ppm, S₅: BAP 4,0 ppm. Sehingga, kombinasi dari kedua faktor tersebut didapatkan total 24 perlakuan kombinasi dan masing-masing diulang

sebanyak 3 kali ulangan. Pada setiap ulangan masing-masing menggunakan 4 sampel.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Airflow cabinet* (LAFC), autoklaf, botol kultur, cawan petri, *scalpel blade*, Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media kultur *Murashige Skoog* (MS), mata tunas tanaman nanas *Smooth cayenne*, media MS, ZPT Auksin 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid*), ZPT Sitokinin BAP (*Benzyl Amino Purine*), TDZ (*Thidiazuron*).

Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini diawali dengan 1) Persiapan dan Sterilisasi Alat, 2) Pembuatan larutan stok, 3) Pembuatan Media *Murashige & Skoog* (MS), 4) Inokulasi plantlet nanas, 5) Aplikasi perlakuan 6) Pengamatan. Variabel pengamatan yang ada pada penelitian ini antara lain: 1) Persentase Hidup Eksplan, 2) Persentase Adanya Kalus, 3) Tekstur Kalus, 4) Persentase Kontaminasi, 5) Pengamatan Histologi, 6) Analisis dan Penyajian Data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian optimasi induksi kalus menggunakan kombinasi 2,4 *Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan sitokinin pada mahkota nanas (*Smooth cayenne*) secara *in-vitro* terhadap persentase eksplan hidup (%) induksi kalus mahkota nanas varietas *Smooth cayenne* menunjukkan bahwa interaksi yang terjadi antara perlakuan 2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata. Persentase eksplan

hidup yang ada pada perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic

Acid dan Sitokinin (*Thidiazuron* dan BAP) disajikan pada (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata persentase eksplan hidup (%) akibat perlakuan komposisi ZPT 2,4-D dan Sitokinin pada pengamatan 14-49 HST

Perlakuan Konsentrasi	Persentase Eksplan Hidup (%) pada (14-49)HST					
	14	21	28	35	42	49
2,4-D						
0 mg/L	91,66a	88,88a	87,50a	87,50a	86,11a	83,33a
3 mg/L	87,50a	86,11a	86,11a	81,94a	86,11a	76,38a
4 mg/L	93,05a	91,66a	91,66a	87,50a	84,72a	80,55a
5 mg/L	95,83a	93,05a	90,27a	88,88a	84,72a	81,94a
BNJ α 5%	12,458	13,237	12,860	14,640	16,263	3,960
Sitokinin						
0 mg/L BAP	93,75a	89,58a	91,66a	89,58a	87,50a	81,25a
0,001 mg/LTDZ	93,75a	93,75a	89,58a	91,66a	89,58a	82,33a
0,01 mg/L TDZ	93,75a	91,66a	89,58a	87,50a	89,58a	81,25a
0,1 mg/L TDZ	83,33a	79,16a	79,16a	77,08a	72,91a	66,66a
2 mg/L BAP	89,58a	89,58a	87,50a	85,41a	85,41a	83,33a
4 mg/L BAP	97,91a	95,83a	95,83a	87,50a	87,50a	87,50a
BNJ α 5%	19,026	20,215	19,639	22,357	24,836	6,048

Keterangan: Nilai-nilai rerata yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji Tukey taraf 5%. HST= Hari Setelah Tanam

Berdasarkan rerata persentase eksplan hidup (%) menunjukkan bahwa interaksi akibat perlakuan komposisi 2,4-D dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, pemberian kombinasi ZPT 2,4-D dan Sitokinin pada mahkota nanas *Smooth cayenne* yang dikultur secara *in vitro* menunjukkan bahwa eksplan terus mengalami pertumbuhan mulai dari 14 hst hingga 49 hst. Eksplan yang hidup ditandai dengan eksplan yang segar, berwarna terang, tidak mengalami tingkat kontaminasi yang tinggi dan juga tidak mengalami pencoklatan (Fauza *et al.*, 2004). Hal ini dapat dibuktikan pada pemberian konsentrasi

2,4-D 0 mg/L yang memberikan hasil 83,33%. Sedangkan pada pemberian konsentrasi perlakuan TDZ 0,1 mg/L menunjukkan hasil 66,66%.

Persentase adanya kalus (%) induksi kalus mahkota nanas varietas *Smooth cayenne* menunjukkan bahwa interaksi yang terjadi antara perlakuan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata. Persentase adanya kalus (%) yang ada pada setiap perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid dan Sitokinin (*Thidiazuron* dan BAP) disajikan pada (Tabel 3).

Tabel 3. Rerata persentase adanya kalus (%) akibat perlakuan komposisi ZPT 2,4-D dan Sitokinin pada pengamatan 21-49 HST

Perlakuan Konsentrasi	Persentase Adanya Kalus (%) pada (21-49) HST				
	21	28	35	42	49
2,4-D					
0 mg/L	0,00a	12,50a	16,66a	23,61a	23,61a
3 mg/L	2,77a	5,55a	12,50a	20,33a	25,00a
4 mg/L	2,77a	6,94a	12,50a	20,33a	30,55a
5 mg/L	4,16a	12,50a	15,27a	26,38a	36,11a
BNJ α 5%	6,416	11,380	13,321	15,690	18,237
Sitokinin					
0 mg/L BAP	0,00a	12,50a	20,83a	31,25a	41,66a
0,001 mg/L TDZ	2,08a	8,33a	10,41a	20,83a	27,08a
0,01 mg/L TDZ	4,16a	8,33a	12,50a	16,66a	25,00a
0,1 mg/L TDZ	6,25a	12,50a	12,50a	20,83a	22,91a
2 mg/L BAP	0,00a	6,25a	14,58a	27,08a	31,25a
4 mg/L BAP	2,08a	8,33a	14,58a	20,83a	25,00a
BNJ α 5%	9,798	17,379	20,343	23,961	27,850

Keterangan: Nilai-nilai rerata yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%.

HST = Hari Setelah Tanam.

Berdasarkan rerata persentase adanya kalus (%) menunjukkan bahwa interaksi akibat perlakuan komposisi 2,4-D dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata mulai dari 21 hst hingga 49 hst. Kisaran persentase adanya kalus pada umur 21 hst sebesar 00,00%–6,25%, pada umur 28 hst sebesar 5,55%-12,50%, lalu umur 35 hst menunjukkan sebesar 10,41%–20,83%, umur 42 hst sebesar 16,66%–31,25% serta pada umur 49 hst sebesar 25,00%–41,66 %. Salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur jaringan dengan teknik *in vitro* adalah munculnya kalus pada eksplan. Munculnya kalus pada eksplan diawali dengan adanya selaput gel transparan yang selanjutnya berkembang dan

menebal yang akan membentuk gumpalan. Kemudian, kalus akan mulai terlihat saat gumpalan-gumpalan massa sel tersebut muncul di sekitar daerah eksplan yang dilukai, di setiap minggunya yakni mulai dari 21 hst hingga 49 hst.

Persentase tekstur kalus (%) induksi kalus mahkota nanas varietas *Smooth cayenne* menunjukkan bahwa interaksi yang terjadi antara perlakuan 2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata. Persentase tekstur kalus (%) yang ada pada setiap perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh 2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin (*Thidiazuron* dan BAP) disajikan pada (Tabel 4).

Tabel 4. Rerata persentase tekstur kalus (%) akibat perlakuan komposisi ZPT 2,4-D dan Sitokinin pada pengamatan 49 HST

Perlakuan Konsentrasi	Tekstur Kalus	
	Kompak (%)	Remah (%)
2,4-D		
0 mg/L	62,50	36,57
3 mg/L	55,55	44,44
4 mg/L	61,11	38,88
5 mg/L	67,59	32,40
Sitokinin		
0 mg/L BAP	61,11	38,88
0,001 mg/L TDZ	65,97	34,02
0,01 mg/L TDZ	64,58	35,41
0,1 mg/L TDZ	56,94	43,05
2 mg/L BAP	60,41	38,19
4 mg/L BAP	61,11	38,88

Keterangan: TDZ = Thidiazuron. 2,4-D = 2,4 *Dichlorophenoxyacetic Acid*, BAP = *benzylaminopurine*

Berdasarkan rerata persentase tekstur kalus (%) menunjukkan bahwa interaksi akibat perlakuan komposisi 2,4-D dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata terhadap persentase tekstur kalus nanas varietas *Smooth cayenne* pada 49 hst., baik tekstur remah maupun tekstur kompak. Kisaran persentase tekstur kalus kompak pada umur 49 hst yakni pada konsentrasi 2,4-D 5 mg/L sebesar 67,59%, lalu pada konsentrasi TDZ 0,001 mg/L sebesar 65,97% dan kisaran persentase tekstur kalus remah yang didapatkan pada umur 49 hst yakni pada konsentrasi 2,4-D 3 mg/L sebesar 44,44%, serta pada konsentrasi TDZ 0,1 mg/L sebesar 43,05%.

Kalus nanas *Smooth cayenne* yang terbentuk tentunya memiliki tekstur kalus yang berbeda-beda dari setiap pemberian tingkat konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda

di setiap perlakuannya. Kalus bertekstur remah maupun kompak pada perlakuan kombinasi 2,4-D dan Sitokinin ini berpengaruh tidak nyata terhadap variabel tekstur kalus. Dapat dilihat pada tabel (tabel 4). Hasil persentase kalus bertekstur remah mulai dari 32,40%-43,05% sedangkan pada kalus bertekstur kompak didapatkan hasil mulai dari 55,55%-65,96%.

Persentase kontaminasi eksplan (%) induksi kalus mahkota nanas varietas *Smooth cayenne* menunjukkan bahawa interaksi yang terjadi antara perlakuan 2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata. Persentase kontaminasi eksplan (%) yang ada pada setiap perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh 2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin (*Thidiazuron* dan BAP) disajikan pada (Tabel 5).

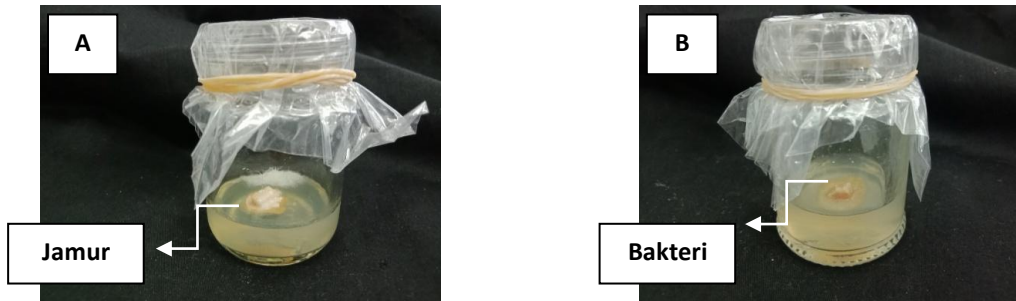
Tabel 5. Rerata persentase kontaminasi eksplan (%) akibat perlakuan komposisi ZPT 2,4-D dan Sitokinin pada pengamatan 7-49 HST

Perlakuan Konsentrasi	Kontaminasi Eksplan (%) pada (7-49) HST						
	7	14	21	28	35	42	49
2,4-D							
0 mg/L	4,16a	8,33a	11,11a	12,50a	12,50a	12,50a	16,66a
3 mg/L	6,94a	12,50a	12,50a	15,27a	16,66a	13,88a	23,61a
4 mg/L	6,94a	6,94a	8,33a	8,33a	12,50a	15,27a	19,44a
5 mg/L	4,16a	4,16a	6,94a	6,94a	11,11a	15,27a	15,27a
BNJ α 5%	9,727	12,832	13,875	14,249	15,393	16,638	17,972
Sitokinin							
0 mg/L BAP	4,16a	6,25a	8,33a	8,33a	10,41a	12,50a	18,75a
0,001 mg/L	6,25a	6,25a	6,25a	8,33a	8,33a	8,33a	14,58a
0,01 mg/L TDZ	2,08a	6,25a	8,33a	8,33a	10,41a	10,41a	16,66a
0,1 mg/L TDZ	12,50a	16,66a	20,83a	22,91a	22,91a	27,08a	33,33a
2 mg/L BAP	6,25a	10,41a	10,41a	12,50a	14,58a	14,58a	16,66a
4 mg/L BAP	2,08a	2,08a	4,16a	4,16a	12,50a	12,50a	12,50a
BNJ α 5%	14,855	19,596	21,189	21,760	23,507	25,408	27,446

Keterangan: Nilai-nilai rerata yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%. HST = Hari Setelah Tanam

Berdasarkan rerata persentase kontaminasi eksplan (%) menunjukkan bahwa interaksi akibat perlakuan komposisi 2,4-D dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata terhadap persentase kontaminasi eksplan nanas varietas *Smooth cayenne* mulai dari 7 hst hingga 49 hst. Kisaran persentase kontaminasi eksplan pada umur 7 hst sebesar 2,08%–12,50%, pada umur 14 hst sebesar 2,08%–16,66%, lalu umur 21 hst menunjukkan sebesar 4,16%–20,83%, umur 28 hst sebesar 4,16%–22,91%, pada umur 35 hst sebesar 8,33%–22,91%, kemudian pada umur 42 hst sebesar 8,33%–27,08% dan pada umur 49 hst menunjukkan persentase sebesar 12,50%–33,33%. Pada hasil penelitian kontaminasi pada

eksplan nanas *Smooth cayenne* yakni tingkat kontaminasi yang terjadi pada eksplan ini terjadi bukan dikarenakan adanya pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh pada eksplan akan tetapi kontaminasi terjadi karena media itu sendiri, kondisi eksplan, dan kondisi lingkungan. Dugaan tersebut didukung dengan teori yang dari (Santoso dan Nursandi 2004) yang menyatakan bahwa, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan diantaranya ialah (1) Genotip (2) Eksplan (3) Komposisi media (4) Ukuran eksplan kecil memiliki ketahanan yang kurang baik dan bila eksplan terlalu besar, akan mudah terkontaminasi.



Gambar 11. Kontaminasi akibat jamur dan bakteri pada eksplan. A: eksplan perlakuan 3 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP terkontaminasi oleh jamur. B: 4 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L TDZ terkontaminasi oleh bakteri.

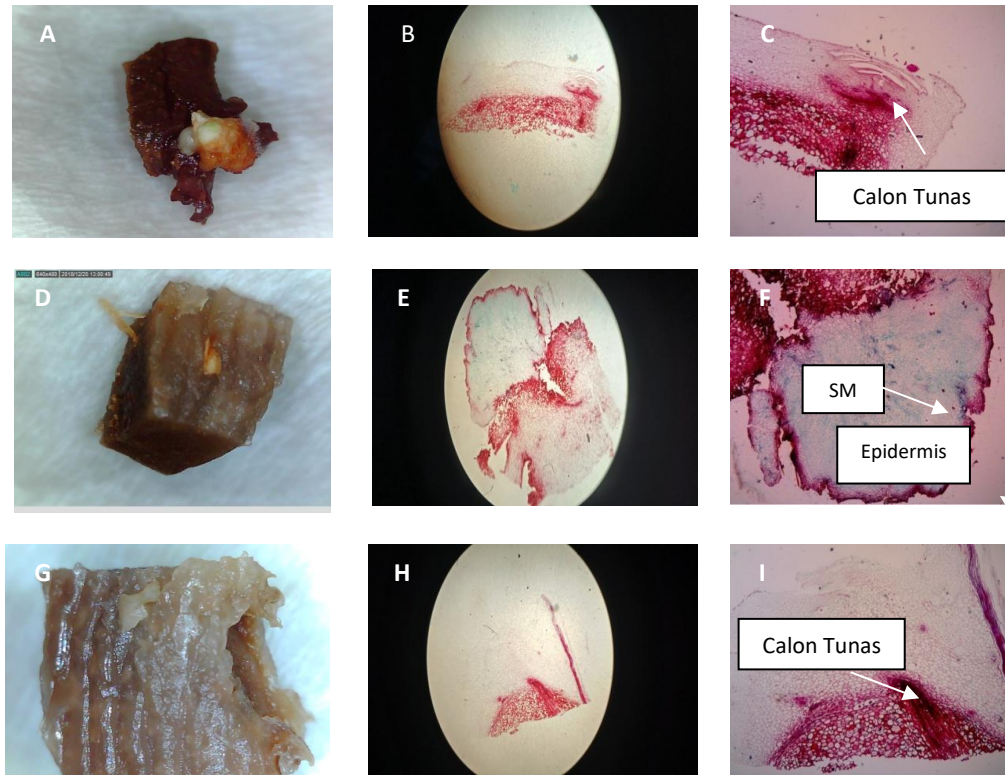
Berdasarkan penelitian ini hasil pengamatan eksplan yang terkontaminasi diantaranya terkontaminasi oleh bakteri dan jamur/cendawan. Dalam penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa tingkat kontaminasi yang ada pada eksplan lebih banyak dikarenakan oleh jamur/cendawan, kemungkinan lainnya kontaminasi akibat bakteri pun menjadi penyebab kontaminasi pada eksplan akan tetapi hanya sedikit. Menurut Gunawan (1987), untuk dapat mendeskripsikan bakteri ataukah jamur perlu dilakukannya pengamatan secara morfologi kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini sebagian besar didominasi oleh jamur.

Ada kemungkinan pengaruh dari banyaknya media kontaminasi yang ada dalam ruangan milik peneliti lainnya. Pengamatan hasil kultur, banyak media kultur dan eksplan yang terkontaminasi, dengan menunjukkan koloni yang berwarna putih atau biru pada jamur (gambar 11.A) sedangkan apabila media kultur dan eksplan terkontaminasi oleh bakteri maka akan menampilkan gejala busuk dan muncul lendir di sekitar di area permukaan eksplan dan media kultur (gambar 11.B). Dalam hal ini

didukung oleh teori dari Gunawan (1987), menyatakan bahwa media kultur jaringan merupakan media yang sangat mendukung bagi pertumbuhan jamur dan bakteri. Mikroorganisme akan menyerang eksplan melalui luka-luka akibat pemotongan dan penanganan waktu sterilisasi. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala berwarna putih, biru atau krem pada media maupun eksplan kultur.

Faktor kontaminasi yang ada pada eksplan pun dapat melalui komposisi yang ada pada media dapat mempengaruhi keberhasilan dalam kultur jaringan, hal ini dikarenakan media sebagai sumber makanan harus mengandung senyawa organik dan anorganik, seperti nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, gula, air, asam amino, vitamin, dan ZPT. Kemudian, kondisi lingkungan sangat menentukan terhadap tingkat keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan. Kondisi lingkungan yang harus dibentuk adalah lingkungan aseptis. Lingkungan aseptis akan meningkatkan keberhasilan dalam proses kultur jaringan (Santoso dan Nursandi, 2004).

Hasil Pengamatan Histologi



Gambar 10. Pengamatan Histologi. A: Kalus secara visual perlakuan 5 mg/L 2,4-D + 0,001 mg/L TDZ. B: penampang histologi keseluruhan perlakuan 5 mg/L 2,4-D + 0,001 mg/L TDZ. C: penampang bagian yang menunjukkan bakal tunas (BT) pada perlakuan 5 mg/L 2,4-D + 0,001 mg/L TDZ. D: Kalus secara visual perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 0,01 mg/L TDZ. E: penampang histologi keseluruhan perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 0,01 TDZ. F: penampang sel meristem (SM) dan Epidermis pada perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 0,01 TDZ. G: Kalus secara visual perlakuan 3 mg/L 2,4-D+0,01 mg/L TDZ. H: penampang histologi keseluruhan perlakuan 3 mg/L 2,4-D+0,01 mg/L TDZ. I: penampang hasil histologi menunjukkan bakal tunas pada perlakuan 3 mg/L 2,4-D +0,01 mg/L TDZ.

Pengamatan histologi jaringan kalus dilakukan dengan menggunakan kamera DSLR, mikroskop digital, dan mikroskop binokuler serta pengamatan secara anatomi yang diamati menggunakan mikroskop binokuler. Dapat dilihat pada perlakuan 5 mg/L 2,4-D+0,01 mg/L TDZ terlihat adanya bagian yang diketahui akan menjadi bakal tunas hal ini dikarenakan pemberian penambahan TDZ pada bahan tanam

mengakibatkan peningkatan pembelahan sel dan diferensiasi sel, sehingga tunas terbentuk.

Pemberian konsentrasi 5 mg/L 2,4-D+0,001 mg/L TDZ dan 3 mg/L 2,4-D+0,01 mg/L TDZ terlihat perbedaan bentuk tunas yakni pada 5 mg/L 2,4-D+0,001 mg/L TDZ (gambar 10a) berukuran lebih besar bila dibandingkan dengan bentuk tunas pada 3 mg/L 2,4-D +0,01 mg/L TDZ (gambar 10g). Hal ini diduga karena ukuran tunas

yang terbentuk memberi sinyal ke lingkungan sekitarnya yang berupa auksin. Sinyal berpengaruh menghambat pertumbuhan tunas – tunas yang terbentuk, efek penghambatan akan semakin meningkat (Gahan dan George, 2008).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian optimasi Induksi Kalus menggunakan kombinasi 2,4 *Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan Sitokinin pada mahkota nanas (*Smooth cayenne*) secara *in-vitro* yang telah dilaksanakan dapat diambil kesimpulan bahwa interaksi maupun setiap perlakuan antara zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Sitokinin berpengaruh tidak nyata terhadap induksi kalus nanas varietas *Smooth cayenne*. 2) Interaksi maupun setiap perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D 0 mg/L – 5 mg/L berpengaruh tidak nyata terhadap induksi kalus secara *in vitro* pada tanaman nanas varietas *Smooth cayenne*. 3) Perlakuan sitokinin (*Thidiazuron* 0,001 mg/L – 0,1 mg/L dan BAP 0 mg/L – 4 mg/L) berpengaruh tidak nyata terhadap induksi kalus secara *in vitro* pada tanaman nanas varietas *Smooth cayenne*.

Saran

Perlu adanya studi lanjut mengenai zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Sitokinin yang optimal untuk dapat menginduksi kalus nanas *Smooth cayenne* beserta nutrisi tambahan untuk dapat lebih mengoptimalkan pertumbuhan kalus. Serta, dibutuhkan perlakuan yang khusus untuk dapat mengatasi kontaminasi pada nanas *Smooth cayenne*, guna untuk dapat meminimalisasikan tingkat kontaminasi pada

eksplan sehingga dapat mendukung pertumbuhan kalus secara maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Darwati, I. 2007. *Pengaruh Jenis Eksplan Dan 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Kalus Purwoceng (Pimpinella pruatjan Molk)*. Bogor: Penelitian IPB
- Elfiana. *Prospek Pengembangan Dan Penyediaan Bibit V.D.* (2012). *Prospek*
- George, E.F., and P.D. Sherring ton. 1984. *Plant Propagation; by Tissue Culture*. Exegetic Ltd. England.
- Gunawan, N.A. Mattjik. E. Syamsuddin, N.M.A. Wiendi dan Ernawati. 1987. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor. IPB.
- Lubis, RRB., Daryanto, A., Tambunan, M. dan Rachman, HPS. 2014. Analisis Efisiensi Teknis Produksi Nanas: Studi Kasus di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Agro Ekonomi*, 32 (2): 91-106.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang Press: Malang.
- Septia, E. D., Nursandi, F., Santoso, U., Fauziah, F., Zulfahmi, I., Zulfan, I. M., ... & Saputra, P. H. (2023). Pendampingan Inovasi Produksi Pupuk Organik Cair Berbasis Urine Sapi Pada Petani Nanas Kecamatan Ngancar, Kabupaten Kediri, Jawa Timur. *Martabe: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 6(11), 3893-3900.
- Statistik Pertanian Hortikultura (SPH) yang diterbitkan oleh BPS. Buku "Angka Tetap Hortikultura Tahun 2014". (Diunggah: 15 September *Pengembangan Dan Penyediaan Bibit*.