

REGENERASI PUCUK, DAUN DAN PETIOL TANAMAN
STRAWBERRY (Fragaria x ananassa)
cv. *SWEET HEART IN VITRO* ¹⁾

(*In vitro* Plant Regeneration from
Shoot-tip, Leaf, and Petiole
of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) cv. Sweet Heart)

oleh :
Elliza Makmur dan Livy Winata ²⁾

Abstract : Cytokinin BA and auxin NAA had been used to promote the growth and development of 3 plant parts namely : shoot, leaf, and petiole from strawberry cv. Sweet Heart grown *in vitro*.

Two experiments had been carried out in tissue culture lab of Department of Agronomy IPB. The 1st experiment was designed to study combination of BAP and NAA which supported growth and development of explants, while the 2nd experiment was designed to study the rooting of shoot buds obtained from the first experiment.

All of the shoot explants had been successfully grown *in vitro*, while only 37% of leaf and 17% of petiole survived. Callus derived from shoot differentiated into shoot bud in medium supplemented with BAP 1.0 mg/l NAA 0.5 mg/l, while callus derived from leaves and petioles differentiated in medium with BAP 0.5 mg/l without NAA. Shoot explant in medium with BAP 0.5 mg/l and 1 mg/l without NAA formed direct shoot buds without callus. Leaf explant formed direct shoot buds in medium with BAP 1.0 mg/l without NAA, and petiole in medium with BAP 1.0 mg/l NAA 0.25 mg/l.

Treatment of BAP 1 mg/l without NAA on shoot explant resulted in the highest number of adventitious shoot bud formed and also the healthiest shoots. Shoots formed were easily rooted in medium without hormone. The average shoot bud formed in 7 weeks were 8 - 14.

Ringkasan : Dua macam zat pengatur tumbuh yaitu BAP (benzylaminopurin) dari golongan sitokinin dan NAA (Naphthalene Acetic Acid) dari golongan auksin, telah digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan tiga macam bagian tanaman yaitu pucuk, helaian daun (daun), dan tangkai daun (petiol) dari tanaman strawberry cv. Sweet Heart secara *in vitro*.

Percobaan yang dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian IPB ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama dilakukan untuk mendapatkan kombinasi BAP dan NAA yang sesuai bagi pertumbuhan dan perkembangan tunas pada masing-masing eksplan (bagian tanaman yang dijadikan bahan tanaman), sedangkan tahap kedua dilakukan untuk mengakarakan tunas-tunas yang dihasilkan oleh kombinasi BAP dan NAA terbaik pada tahap pertama.

Seluruh eksplan pucuk dapat tumbuh berkembang, sedangkan pada eksplan daun hanya 37 persen dan petiol 17 persen. Kalus pucuk berdifrensiasi membentuk tunas pada perlakuan BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.5 mg/l, sedangkan kalus daun dan petiol pada perlakuan BAP 0.5 mg/l tanpa penambahan NAA. Pucuk dapat langsung membentuk tunas tanpa melalui kalus pada perlakuan BAP 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l tanpa NAA, sedangkan daun membentuk tunas langsung pada perlakuan BAP 1.0 mg/l tanpa NAA, dan petiol pada BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.25 mg/l.

Perlakuan BAP 1.0 mg/l tanpa NAA pada eksplan pucuk, memberikan hasil tunas yang paling sehat dengan rata-rata jumlah tunas yang tinggal, serta mudah diakarkan pada media tanpa hormon. Rata-rata jumlah tunas yang dapat dihasilkan dalam waktu 7 minggu adalah 8 - 14 tunas.

1) Penelitian masalah khusus mahasiswa Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian IPB, 1986-1987.

2) Yang pertama mahasiswa Jurusan Budidaya Pertanian dan yang kedua Staf Pengajar Jurusan Budidaya Pertanian IPB.

PENDAHULUAN

Budidaya tanaman strawberry belum begitu populer di Indonesia, namun buahnya telah lama dikenal dan digemari. Di Indonesia pengembangannya dapat dilakukan sebagai tanaman pekarangan atau tanaman rotasi dan tanaman sela pada perkebunan-perkebunan hortikultura di dataran tinggi. Salah satu masalah yang dihadapi dalam pengembangannya adalah bibit yang seragam dalam jumlah besar.

Strawberry biasanya dibiakkan secara vegetatif dengan menggunakan runner, atau dengan pemecahan tajuk pada tipe-tipe strawberry yang hanya sedikit menghasilkan runner. Pembiakan dengan menggunakan benih, hanya dilakukan dalam pemuliaan untuk mendapatkan varietas-varietas baru (Hartmann dan Kester. 1978).

Boxus (1974) menemukan bahwa dengan metode kultur jaringan, dari satu induk tanaman dapat diperoleh beberapa ribu tanaman dalam jangka waktu satu tahun.

Bedard dan Garneau (1985) yang melakukan penelitian pada strawberry varietas Vestar, menyatakan bahwa dari tanaman hasil pembiakan mikro yang dikembangkan di lapang selama tiga generasi dengan runner, diperoleh produksi buah yang lebih baik bila dibandingkan dengan tanaman yang berasal dari runner.

Menurut Cameron dan Hancock (1986) yang bekerja dengan varietas Redchief dan Earliglow, kultivar yang berbeda akan memberikan respon yang berbeda pula terhadap perbanyakan mikro. Bila dibandingkan dengan tanaman hasil perbanyakan dengan runner, hasil perbanyakan mikro varietas Redchief memiliki pertumbuhan generatif yang lebih baik, sedangkan varietas Earliglow memiliki pertumbuhan vegetatif yang lebih baik.

Untuk membantu pengembangan tanaman Strawberry di Indonesia, maka studi regenerasi tanaman strawberry dari bagian-bagian tanaman yang mudah diperoleh, perlu dilakukan.

Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mempelajari pengaruh zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap morfogenesis tiga macam eksplan yaitu pucuk, daun, dan petiol tanaman strawberry varietas Sweet Heart dalam media kultur jaringan.

BAHAN DAN METODA

Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian IPB dari bulan Nopember 1988 hingga bulan Februari 1987.

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan ialah helaian daun, tangkai daun (petiol), dan pucuk tanaman strawberry varietas Sweet Heart dari kultur *in vitro* yang telah berumur 8 minggu. Sebagai media dasar digunakan formula Murashige dan Skoog (1962) dengan glukosa 3%, agar 0.6%, diperkaya dengan penambah vitamin-vitamin thiamin 0,1 mg/l, pyridoxin 0.5 mg/l, asam nikotinic 0.5 mg/l dan myo-inositol 100 mg/l, serta asam amino glycin 2 mg/l.

Penelitian terdiri dari dua tahap. Tahap pertama terdiri dari tiga percobaan yang berbeda dalam hal eksplan yang digunakan, dengan perlakuan yang sama. Percobaan pertama menggunakan eksplan pucuk, percobaan kedua menggunakan daun,

dan percobaan ketiga menggunakan petiol. Perlakuan yang diberikan, merupakan kombinasi dari faktor NAA sebanyak 4 taraf (0.0; 0.25; 0.5; dan 1.0 mg/l) dan faktor BAP sebanyak 3 taraf (0.5; 1.0; dan 2.0 mg/l). Kedua faktor tersebut membentuk 12 kombinasi perlakuan. Masing-masing percobaan pada tahap pertama menggunakan rancangan acak lengkap dan setiap percobaan diulang 10 kali.

Pada tahap kedua, dilakukan pengujian pengaruh dua macam media pengakaran yaitu formula MS dengan pengurangan unsur hara makro hingga 1/2 konsentrasi (MS 1/2) dan media MS penuh dengan penambahan auksin IBA sebanyak 1.0 mg/l. Tunas yang digunakan adalah hasil regenerasi langsung yang dihasilkan oleh dua macam media perbanyakan terbaik pada tahap pertama. Percobaan faktorial ini menggunakan rancangan acak lengkap, dan setiap kombinasi perlakuan diulang 10 kali.

Derajat keasaman media diatur pada pH 5.6 - 5.8. Cahaya yang diberikan berintensitas 600 - 900 lux dengan panjang penyinaran 24 jam, berasal dari lampu fluorescent. Suhu ruangan berkisar antara 26 - 30° C.

Pengamatan terhadap peubah tingkat kontaminasi, tingkat kematian eksplan, gejala vitrifikasi, pembentukan kalus, pembentukan tunas, perkembangan eksplan lainnya, panjang akar dan jumlah akar, dilakukan setiap minggu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan Kalus

Daun dan petiol tanaman membentuk kalus seminggu lebih awal dibandingkan pucuk, yaitu 2 - 4 minggu setelah tanam. Persentase eksplan berkalus tertinggi terjadi pada pucuk, sedangkan yang terendah terjadi pada petiol. Pada eksplan pucuk, kalus terbentuk dalam kultur pada media dengan NAA. Pada media tanpa NAA, kalus hanya terbentuk dalam kultur dengan BAP 2 mg/l.

Pada daun, kalus terbentuk pada semua kombinasi perlakuan antara BAP 0.5 dan 1.0 mg/l dengan penambahan dan tanpa penambahan NAA. Persentase eksplan daun berkalus tertinggi terjadi pada BAP 0.5 mg/l dan NAA 0.25 mg/l. Pada konsentrasi BAP yang lebih tinggi yaitu 2.0 mg/l, dibutuhkan penambahan NAA sebanyak 0.25 - 0.5 mg/l untuk merangsang pembentukan kalus. Pada petiol, pembentukan kalus terjadi pada seluruh kombinasi perlakuan BAP 0.5 mg/l dengan dan tanpa penambahan NAA. Pada konsentrasi lainnya, kalus hanya terbentuk bila 0.25 - 0.5 mg/l NAA ditambahkan ke dalam media.

Diferensiasi Kalus

Pada percobaan ini, kalus dari ketiga macam jenis eksplan berdiferensiasi membentuk tunas adventif. Eksplan pucuk pada kombinasi perlakuan BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.5 mg/l, menunjukkan persentase diferensiasi kalus tertinggi dibandingkan dengan jenis eksplan lain pada kombinasi perlakuan yang sama maupun kombinasi perlakuan yang berbeda, yaitu mencapai 100%. Daun memiliki persentase kalus berdiferensiasi lebih tinggi dibandingkan dengan petiol. Kalus dari kedua macam eksplan tersebut dapat berdiferensiasi dengan baik pada perlakuan BAP 0.5 mg/l tanpa penambahan NAA.

Pada pucuk, proses diferensiasi kalus terjadi bersamaan dengan proses dediferensiasi tunas yang baru terbentuk menjadi kalus, sehingga rata-rata jumlah tunas yang dapat dihasilkan rendah. Semakin tinggi konsentrasi NAA yang diberikan akan lebih mendorong perkembangan ke arah proses dediferensiasi. Setelah minggu ke enam, pada kombinasi-kombinasi perlakuan BAP 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l, proses dediferensiasi berkurang, sehingga jumlah tunas yang terbentuk meningkat. Pada perlakuan BAP tinggi yaitu 2 mg/l dengan penambahan NAA 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l, dan BAP 1.0 mg/l dengan penambahan NAA 1.0 mg/l, hingga minggu ke tujuh, proses diferensiasi yang terjadi masih disertai oleh proses dediferensiasi.

Pembentukan Tunas Langsung Tanpa Melalui Kalus

Ketiga macam jenis eksplan dapat langsung membentuk tunas tanpa melalui kalus, setelah berumur 2 minggu.

Seluruh eksplan pucuk yang ditanam pada BAP 0.5 dan 1.0 mg/l tanpa penambahan NAA, akan langsung membentuk tunas aksilar tanpa kalus. Tunas muncul di antara pangkal tangkai daun dengan batang. Tunas yang baru terbentuk berukuran kecil, membentuk rumpun yang mudah dipisahkan menjadi tunas-tunas individu yang terdiri dari 2 - 5 daun.

Pada daun, tunas adventif muncul dari bagian tengah daun trifoliolate pada saat eksplan daun mulai berubah warna menjadi kecoklatan. Media perlakuan yang dapat mendorong pembentukan tunas langsung ini adalah BAP 1.0 mg/l tanpa penambahan NAA. Jumlah eksplan daun yang dapat beregenerasi langsung membentuk tunas tanpa melalui kalus, mencapai nilai 50% dari seluruh jumlah eksplan yang hidup.

Tabel 1. Rata-rata jumlah tunas pada masing-masing eksplan pada umur 7 minggu setelah kultur.

Table 1. The average number of shoot-bud obtained from different explants 7 weeks after culture.

Jenis eksplan (Source of explant)	NAA mg/l	BAP (mg/l)		2.0
		0.5	1.0	
Pucuk (shoot tip)	0.0	16.5 ± 9.7	11.0 ± 3.0	4.8 ± 4.6
	0.25	6.5 ± 3.3	7.3 ± 4.4	4.5 ± 3.4
	0.50	6.3 ± 3.5	6.2 ± 2.9	2.6 ± 2.0
	1.00	6.2 ± 5.5	3.4 ± 2.3	2.2 ± 1.4)
Daun (leaf)	0.0	5.0	5.2 ± 2	4.0
	0.25	2.0	0.0	0.0
	0.50	3.5 ± 1.0	3.0	0.0
	1.00	7.0	10.0	0.0
Petiol (petiole)	0.0	1.0 *)	0.0	0.0
	0.25	0.0	1.0	0.0
	0.50	0.0	0.0	0.0
	1.00	0.0	0.0	0.0

*) Dari satu kultur (From one single culture)

Eksplan petiol yang dapat langsung membentuk tunas tanpa melalui kalus, jumlahnya hanya satu dari seluruh eksplan yang ditanam. Pada perlakuan BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.25 mg/l, tunas adventif terbentuk di bekas potongan pada saat petiol telah berubah warna menjadi coklat.

Rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan dari berbagai eksplan, dapat dilihat pada tabel 1. Rata-rata tunas tertinggi, dicapai oleh eksplan pucuk yang ditanam pada perlakuan BAP 0.5 mg/l. Jumlah tunas yang dihasilkan perlakuan tersebut, tidak berbeda nyata dengan yang dihasilkan oleh perlakuan BAP 1.0 mg/l. Penambahan BAP hingga 2.0 mg/l, menyebabkan rata-rata jumlah tunas semakin menurun dan berbeda nyata dari perlakuan BAP 0.5 mg/l. Pemberian NAA menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap rata-rata jumlah tunas dibandingkan dengan perlakuan tanpa NAA.

Rata-rata tunas yang dihasilkan eksplan pucuk menunjukkan gejala vitrifikasi, yaitu bagian daun dan petiol tanaman terlihat menjadi transparan. Pada perlakuan BAP 0.5 mg/l tanpa penambahan NAA terjadi gejala vitrifikasi sebesar 40%, sedangkan pada perlakuan BAP 1.0 mg/l hanya 8%

Pengakaran

Tunas hasil regenerasi langsung dari eksplan pucuk pada dua macam media perbanyakkan terbaik yaitu BAP 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l tanpa penambahan NAA, diakarkan pada dua macam media pengakaran yaitu MS setengah konsentrasi dan media MS penuh dengan penambahan IBA sebanyak 1.0 mg/l. Tunas yang diakarkan pada media MS 1/2, memiliki akar yang lebih panjang bila dibandingkan dengan yang diakarkan pada media MS dengan penambahan IBA 1.0 mg/l (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata jumlah akar dan rata-rata panjang akar tanaman Strawberry *in vitro* Pada umur 7 MST

Table 2. The average number of root and root length of *in vitro* strawberry plant 7 weeks after culture

Media Pengakaran (Rooting Medium)	Media Perbanyakkan (Induction Medium)	Rata-rata Jumlah Akar (Number of Root)	Rata-rata Panjang Akar (Root length)
MS 1/2	BAP : 0.5 mg/l	2.9 ^b	1.82 ^c *)
	1.0 mg/l	4.8 ^a	1.75 ^c
MS + IBA 1.0 mg/l	BAP : 0.5 mg/l	5.1 ^a	1.40 ^d
	1.0 mg/l	4.5 ^a	1.20 ^d

*)

Keterangan : Data transformasi dari akar (Y + 1/2). Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 0.05

Note : Data of $Y + 1/2$ transformation. Values with the same letter are not significantly different at the 0.05 probability level

Penggunaan tunas yang berasal dari media perbanyakan yang berbeda yaitu media dengan BAP 0.5 dan 1.0 mg/l tanpa penambahan NAA, pada saat pengakaran tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap jumlah dan panjang akar pada media MS + IBA. Tanaman yang dihasilkan, memiliki daun yang baik dan tidak memperlihatkan gejala vitrifikasi. Tetapi pada media pengakaran MS 1/2, tunas yang berasal dari media induksi BAP 0.5 mg/l lebih sukar membentuk akar.

KESIMPULAN

Pada kondisi penelitian ini, seluruh eksplan pucuk yang ditanam dapat tumbuh dan berkembang, sedangkan eksplan daun hanya 37% dan petiol 17%. Kalus pada pucuk perlakuan BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.5 mg/l menunjukkan tingkat diferensiasi tertinggi yaitu mencapai 100%. Pada daun, tingkat diferensiasi sebesar 50% terjadi pada perlakuan BAP 0.5 mg/l tanpa NAA.

Eksplan pucuk membentuk tunas langsung pada perlakuan BAP 0.5 dan 1.0 mg/l tanpa penambahan NAA, eksplan daun pada perlakuan BAP 1.0 mg/l tanpa NAA dan eksplan petiol pada perlakuan BAP 1.0 mg/l dengan NAA 0.2 mg/l. Tunas yang paling sehat dengan rata-rata jumlah tunas yang tinggi, dihasilkan eksplan pucuk yang ditanam pada perlakuan BAP 1.0 mg/l tanpa NAA.

Tanaman lengkap dengan sistem perakaran yang baik, dapat diperoleh melalui perbanyakan dengan menggunakan eksplan pucuk yang ditanam pada perlakuan BAP 1.0 mg/l tanpa NAA, yang kemudian diakarkan pada media MS 1/2 tanpa penambahan auksin.

SARAN

Tunas-tunas yang berasal dari kalus perlu diamati untuk kemungkinan mendapatkan variasi somaklonal yang berguna.

DAFTAR PUSTAKA

- Bedard, R. and A. Garneau, 1985. Field evaluation of tissue cultured strawberry plants (abs). Hort. Sci. 20 (3).
- Boxus, Ph. 1974. The production of strawberry plants by in vitro micro propagation J. Hort. Sci. 49 : 209 - 210.
- Cameron, J. S. and J. F. Hancock. 1986. Enhanced vigor in vegetatif progeny of micro propagated strawberry plants. Hort. Sci. 21 (5) ; 1225 - 1226.
- Hartmann, H. T. and D. E. Kester. 1978. Plant Propagation, principles, Prentice Hall. India.
- Winata, Livy. 1984. Kultur Jaringan tanaman dan perkembangannya di Jurusan Budidaya Pertanian IPB. Bul. Agronomi. XV (1 & 2) : 10 - 26.