

Pengaruh Penambahan Air Kelapa Dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Medium Ms Dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.)

Niluh Made Dwi PYD^{*1} Waeniati², Muslimin², I Nengah Suwastika¹

¹Lab.Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu

² Lab.Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan, Universitas Tadulako, Palu

ABSTRACT

Green grape (Vitis vinifera L.) is popular cultivar of grape that produce valuable of table fruit which usually grown via vegetative propagation. Another challenging technology in grape propagation is by induction of callus in tissue culture technique. The study on grape callus induction was done at Tissue Culture Laboratory-Forestry Faculty-Tadulako University Palu, during periode of January 2012 until May 2012. This experiment was arranged in completely randomized design with 3 different mediums as treatments and 3 replications. The treatments were MS₀ + 2,4-D 0.5 ppm + 10% coconut water (D1), MS₀ + 2,4-D 1 ppm + 10% coconut water (D2), dan MS₀ + 2,4-D 1.5 ppm + 10% coconut water (D3). The observed parameters in this research were the days appear of callus, percentage of explant producing callus (%), also observation on morphology and the cell of callus. The result showed that the MS medium with 10% coconut water and 2,4-D could induce the callus of the green grape and the best medium was MS₀ + 2,4-D 1.5 ppm + 10% coconut water (D3). It was shown by responding in emerging of callus in 11 days after induction, the percentage of explant producing callus was 76.67%. Produced callus was active in cell proliferation, and it has a compac texture, with brown-green color of callii.

Keywords: 2,4-D, Callus Induction, Coconut Water, MS, *Vitis vinifera* L.

ABSTRAK

Tanaman anggur hijau (*Vitis vinifera* L.) merupakan tanaman yang menghasilkan buah dengan nilai ekonomi tinggi yang biasanya diperbanyak secara vegetatif. Tekonologi lain yang dapat dikembangkan yaitu perbanyakan dengan kultur jaringan melalui induksi kalus. Penelitian guna pembentukan kalus telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako Palu, dari bulan Januari 2012 sampai Mei 2012. Percobaan ini disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu MS₀ + 2,4-D 0.5 ppm + air kelapa 10% (D1), MS₀ + 2,4-D 1 ppm + air kelapa 10% (D2), dan MS₀ + 2,4-D 1.5 ppm + air kelapa 10% (D3). Parameter pengamatan pada penelitian ini yaitusaat munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, dan pengamatan pada morfologi dan sel kalus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa medium MS dengan pemberian air kelapa 10% dan 2,4-D mampu menginduksi kalus pada tanaman anggur hijau dan media yang paling baik yaitu MS₀ + 2,4-D 1.5 ppm + air kelapa 10% (D3) dengan merespon saat munculnya kalus pada 11 HST, persentase kalus 76,67%, selnya aktif membelah, bertekstur kompak, dan warna kalus hijau kecoklatan.

Kata kunci: 2,4-D, Air kelapa, Induksi kalus, MS, *Vitis vinifera* L.

* Corresponding Author Phone : (+628210813654)

LATAR BELAKANG

Tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) merupakan tanaman yang dibudidayakan sejak 4.000 SM di Timur Tengah. Anggur merupakan tanaman buah berupa perdu merambat yang termasuk ke dalam keluarga Vitaceae (Prihatman, 2000). Buah dari tanaman anggur dikenal karena mengandung banyak senyawa polifenol dan resveratol yang berperan aktif dalam berbagai metabolisme tubuh, serta mampu mencegah terbentuknya sel kanker dan berbagai penyakit lainnya (Lange, dkk., 2004). Aktivitas ini juga terkait dengan adanya senyawa metabolit sekunder di dalam buah anggur yang berperan sebagai senyawa antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Bagchi, dkk., 2000).

Di Indonesia, walaupun merupakan kawasan tropis tanaman anggur dapat tumbuh dan berkembang dengan baik seperti anggur Probolinggo dan anggur Bali. Di Kediri, sekarang berkembang budidaya anggur kuning (hijau kekuningan) yang merupakan anggur buah, sedangkan di daerah Jawa, Bali sampai NTB dan NTT merupakan kawasan yang potensial sebagai kawasan pengembangan anggur. Di daerah Klasi, Karawang (Jawa Barat), kawasan-kawasan Tegal, Ambarawa, beberapa Kota di Pantura, dan Palu (Sulawesi Tengah) juga pernah dikembangkan anggur jenis Isabella dan hasilnya cukup baik, namun untuk daerah Palu terjadi kendala pada pemasaran sehingga pengembangannya terhenti (Faryeti, 2008).

Melihat potensi buah anggur yang ada di Indonesia dan khususnya di daerah Palu (Sulawesi Tengah), sehingga perbanyakan melalui kultur jaringan (*In vitro*) sangat penting untuk dilakukan. Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkan dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Awal dari kultur jaringan ini dilakukan untuk membuktikan teori totipotensi sel yaitu kemampuan satu sel untuk memperbanyak diri dan menghasilkan semua kemungkinan perkembangan yang dimungkinkan yang dibedakan dalam sel organisme. Kultur *in vitro* yang biasa dilaksanakan yaitu kultur organ (*organ culture*), merupakan kultur yang diinisiasi dari bagian-bagian tanaman seperti ujung akar, pucuk aksilar, daun, bunga, buah muda, dan sebagainya (Gunawan, 1988).

Selain kultur organ dalam kultur jaringan juga dikenal dengan kultur kalus atau *callus culture* merupakan kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir, hanya sel-sel parenkim yang berasal dari berbagai bahan awal. Penelitian pembentukan kalus pada jaringan terluka pertama kali dilakukan oleh Sinnott pada tahun 1960. Pembentukan kalus pada jaringan luka dipacu oleh zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin endogen. Secara *in vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikro organisme seperti

Agrobacterium tumefaciens, gigitan atau tusukan serangga dan nematoda. Kalus juga dapat terbentuk sebagai akibat stress (Gunawan, 1988).

Perbanyakan tanaman anggur dapat dilakukan dengan menggunakan organ batang dan biji. Namun, pada penelitian ini dilakukan kultur dengan cara diinisiasi kalus dari bagian tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) yaitu daun sebagai eksplan. Tanaman anggur yang digunakan adalah kultivar hijau yang merupakan jenis anggur buah yang mudah diperoleh di daerah Palu Sulawesi Tengah sehingga mudah dalam mendapatkan eksplan. Selain itu penelitian tentang kalus dengan menggunakan daun anggur belum ada yang melakukan sebelumnya. Adapun penggunaan hormon 2,4-D (asam dikloropenoksi asetat), karena hormon ini merupakan hormon golongan auksin yang dikenal mampu menginduksi kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Selain menggunakan hormon 2,4-D juga menggunakan air kelapa 10% yang ditambahkan pada masing-masing media perlakuan. Air kelapa dapat berfungsi sebagai *buffer* atau larutan penyangga selain sebagai sumber nutrisi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2012 sampai Mei 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako Sulawesi Tengah.

Lamina air flow cabinet, lemari pendingin, oven, autoklaf, neraca analitik, pipet ukur, handsprayer, pembakar bunsen, *scalpel*, pinset, batang pengaduk, botol kultur, cawan petri, labu ukur, gelas ukur 10 ml, gelas kimia 1.000 ml, gelas kimia 500 ml, corong, kertas saring, termometer, label, *hot plate* dan *stirer*, *stopwatch*, mikroskop, kamera, tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) steril (diperoleh dari Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah Palu Sulawesi Tengah), daun anggur steril, deterjen, fungisida (Dethine), iodine (betadin), klorox (bayclean), akuades steril, air, spritus, tisu, alkohol 70%, media MS, hormon 2,4-D, dan air kelapa.

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang menggunakan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan, yaitu:

D1 = MS₀ + 2,4 D 0,5 ppm + air kelapa 10%

D2 = MS₀ + 2,4 D1 ppm + air kelapa 10%

D3 = MS₀ + 2,4 D 1,5 ppm + air kelapa 10%

Parameter yang diamati dalam pelaksanaan penelitian ini yaitu saat munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, warna kalus, tekstur kalus, dan pengamatan sel kalus.

Pelaksanaan penelitian ini meliputi kegiatan sterilisasi alat dan air, pembuatan medium perlakuan, pengambilan eksplan steril, menanam eksplan pada medium perlakuan, dan pemeliharaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur kalus merupakan kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir, yang bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Adapun manfaat dari kultur kalus ini yaitu sebagai sumber sel-sel untuk protoplasma, model dalam rekayasa genetika contohnya kultur sel tembakau, perlakuan mutagen kimia, studi hubungan *host-patogen* dalam fitopatologi, untuk produksi bahan-bahan sekunder (Gunawan, 1988; Sano, dkk., 2006).

Dari hasil pengamatan kultur kalus pada eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) menunjukkan bahwa eksplan mampu menghasilkan kalus terhadap semua perlakuan yang diberikan yaitu pada media MS dengan pemberian hormon 2,4-D dan air kelapa dengan konsentrasi 10%. Hasil yang paling baik dalam merespon dan memberikan persentase kalus adalah eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) pada perlakuan D3 dengan kombinasi media MS dengan pemberian 2,4-D 1.5 ppm + air kelapa 10% (Gambar 1 dan Gambar 2). Berdasarkan parameter pengamatan sel kalus menunjukkan bahwa sel kalus perlakuan D3 paling baik dengan sel aktif membelah dan vakuola kecil (Gambar 4), ini didukung oleh Wiendi et al. (1991) kalus yang bersifat embriogenik adalah kalus yang memiliki sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, dan vakuola kecil. Sehingga dapat diketahui bahwa semakin tinggi pemberian hormon 2,4-D semakin tinggi persentase eksplan yang mampu menghasilkan kalus. Hal ini mengindikasikan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan penambahan air kelapa 10% baik untuk menginduksi kalus tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.). Sedangkan menurut analisis sidik ragam perlakuan yang diberikan tidak berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa pengaruh 2,4-D dengan konsentrasi 0.5 ppm, 1 ppm, dan 1.5 ppm hampir sama terhadap eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.).

Pada penelitian ini penggunaan zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh dan respon yang baik terhadap eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.). Karena salah satu senyawa yang paling sering digunakan untuk menginduksi pembelahan sel atau menginduksi kalus adalah zat pengatur tumbuh 2,4-D (Wetter dan Constabel, 1991; Wattimena, 1992; Meneses et al., 2005). Ini dapat dilihat dari respon pada eksplan, pada rata-rata saat munculnya kalus yaitu pada minggu ke-2. Dalam jumlah rendah zat pengatur tumbuh 2,4-D mampu menginduksi kalus pada tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.). 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.

Hendaryono (1994) menyatakan bahwa hasil percobaan pada tanaman tembakau, kalus tidak tumbuh pada media dengan auksin saja, tetapi untuk pertumbuhan kalus memerlukan penambahan sitokinin, Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan air kelapa mengandung diphenil urea yang mempunyai aktifitas seperti sitokinin, yaitu mempunyai aktifitas pembelahan sel dan Hidayat (2007) menyatakan bahwa auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media budidaya

jaringan dan diberikan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan. Sehingga dalam penelitian ini digunakan air kelapa, dimana air kelapa dalam penelitian ini mampu mendorong induksi kalus dan berfungsi sebagai buffer atau larutan penyangga. Kandungan senyawa-senyawa organik lainnya yang terdapat pada air kelapa tersebut dapat membantu dalam perkembangan dan pertumbuhan kalus. Hal ini didukung oleh George dan Sherrington (1984) bahwa air kelapa 20% akan menginisiasi pertumbuhan kalus dari beberapa jenis jeruk dalam media MS dan meningkatkan pertumbuhan dari *Panicum miliaceum* dalam media MS dengan menggunakan 2,4-D dalam kehadiran 15% air kelapa.

Selanjutnya kalus yang dihasilkan dari kombinasi medium MS dengan pemberian 2,4-D dan air kelapa 10% tersebut menunjukkan bahwa kalus berwarna hijau kecoklatan (Gambar 3), warna hijau pada kalus mengindikasikan kalus mengandung klorofil dan warna kecoklatan menunjukkan penuaan pada kalus. Menurut Fatmawati (2008), warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya, Moore (1989) menyatakan penggunaan auksin dapat membentuk klorofil dalam kalus dan menurut Palupi et al. (2004) bahwa kalus yang berwarna coklat merupakan kalus yang mengalami proses penuaan (senescensi) sel. Selanjutnya tekstur kalus tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) yaitu kompak (Gambar 4) nampak dari sel-sel yang berikatan satu dengan yang lainnya serta aktif dalam pembelahan sel. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu kompak (non friable), intermediet dan remah (friable) (Turhan, 2004). Kalus yang kompak mempunyai tekstur yang sulit untuk dipisahkan dan terlihat padat (Fitriani, 2008). George (1993) menyebutkan bahwa kalus yang diinduksi dari tunas dengan penambahan sitokinin memiliki tekstur yang lebih kompak daripada kalus yang dihasilkan tanpa induksi sitokinin. Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku. Sehingga penggunaan air kelapa sangat bermanfaat dalam pembentukan tekstur kalus.

Kesulitan dalam melakukan penelitian yaitu dalam memperoleh eksplan steril, karena terdapat beberapa tahapan yang harus dilakukan, lama tumbuhnya eksplan dengan medium yang dicobakan, dan jumlah eksplan yang tumbuh masih sedikit. Sehingga dalam pelaksanaan penelitian ini hanya dilakukan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Berdasarkan perlakuan yang diberikan pada eksplan menunjukkan bahwa semua eksplan mampu membentuk kalus. Sehingga dapat diindikasikan bahwa kombinasi medium MS dengan ditambahkan 2,4-D dan air kelapa 10% baik digunakan dalam menginduksi kalus tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.).

KESIMPULAN

Semua perlakuan yang dicobakan mampu menginduksi kalus pada minggu ke-2. Analisa sidik ragam menunjukkan tidak berbeda nyata tetapi berdasarkan hasil pengamatan perlakuan

D3 dengan kombinasi medium MS + 2,4-D 1.5 ppm + air kelapa 10% menunjukkan perlakuan yang paling baik dengan sel yang aktif membelah, warna hijau kecoklatan, dan tekstur yang kompak serta memberikan respon pada saat munculnya kalus lebih cepat dan memberikan persentase eksplan yang tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

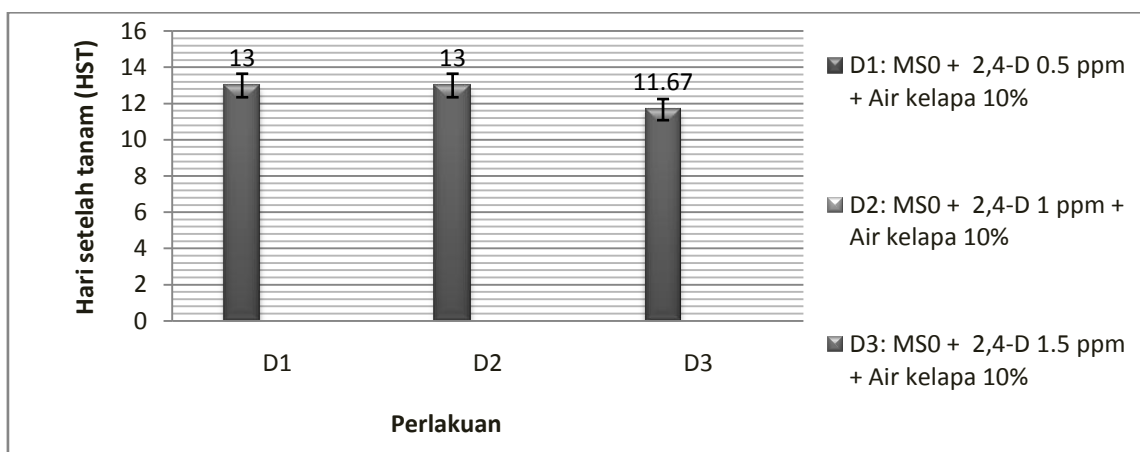
Terima kasih kepada Haliani, S.P Laboran Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan UNTAD atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagchi D., Bagchi M., Stohs SJ., 2000, *Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention*, *Toxicol* 148(2-3):187–97.
- Faryeti, S., 2010, *Tanaman anggur di Indonesia*, Forum Kerjasama Agribisnis, Depok.
- Fatmawati, A., 2008, *Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Tanaman Artemisia annua L. secara In Vitro*, Skripsi Fakultas Pertanian UNS:Surakarta.
- Fitriani, H., 2008, *Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia annua L. secara In Vitro*, Skripsi Fakultas Pertanian UNS:Surakarta.
- George, Edwin F., 1993, *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition*, Exegetic Limited : England.
- George, E. F. dan P. D. Sherrington, 1984, *Plant Propagation by Tissue Culture*, Eastern Press:England.
- Givens, I., Baxter S., Minihane AM., Shaw E., 2008, *Health Benefits of Organic Food: Effects of the Environment*, Trowbridge: CABI.
- Gunawan, L.W., 1987, *Teknik Kultur Dalam Hortikultura*, Jakarta: Penebaran swadaya.
- Gunawan, L.W., 1988, *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*, PAU Bioteknologi, Institut pertanian bogor, Bogor.
- Hidayat, 2007, *Induksi Pertumbuhan Eksplan Endosperm Ulin dengan IA dan Kinetin*, Fakultas Pertanian Udayana, Agritop 26(4) : 147-152.
- Hendaryono, Daisy et al., 1994, *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Kanisius: Yogyakarta.
- Hendaryono, D.P.S., dan A. Wijayani, 1994, *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*, Kanisius, Yogyakarta.

- Lange DW., Wiel A van de DW., 2004, *Drink to prevent: review on the cardioprotective mechanisms of alcohol and red wine polyphenols*, *Semin Vasc Med* 4(2):173–86.
- Meneses, A., D. Flores, M. Munoz, G. Arrieta, A.M. Espinosa, 2005, *Effect of 2,4-D, Hydric stress and light on indica rice (Oryza sativa) somatic embryogenesis*, *Rev Biol Trop (Int J)* 53(3-4):361-368.
- Moore, T.C., 1989, *Biochemistry and Physiology of Plant Hormone*, Springer-Verlag, Berlin.
- Palupi, A. D., Solichatun, dan S. D. Marlina, 2004, *Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) terhadap Kandungan Minyak Atsiri Kalus Daun Nilam (Pogostemon cablin Benth.)*. *BioSMART* 6(2): 99-103.
- Prihatman K., 2000, *Budidaya Pertanian: Anggur*, Hal: 1-3, Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Pedesaan, BAPPENAS.
- Sano, F.K., T. Hayashi, T. Sano, and S. Hasezawa, 2006, *Cell Cycle Synchronization of Tobacco BY-2 Cells*, *Nature Protocol*, 1(6): 2621-2627.
- Turhan, H., 2004, *Callus Induction and Growth in Transgenic Potato Genotypes*, *African Journal of Biotechnology* 3(8): 375-378.
- Wattimena, G.A., 1992, *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wiendi, N. M. A., G. A. Wattimena, dan L. W. Gunawan, 1991, *Perbanyakan Tanaman, Bioteknologi Tanaman I*, PAU IPB 507 hlm.
- Wetter, L. R. dan F. Constabel, 1991, *Metode Kultur Jaringan Tanama., Edisi Kedua*, ITB Press, Bandung.

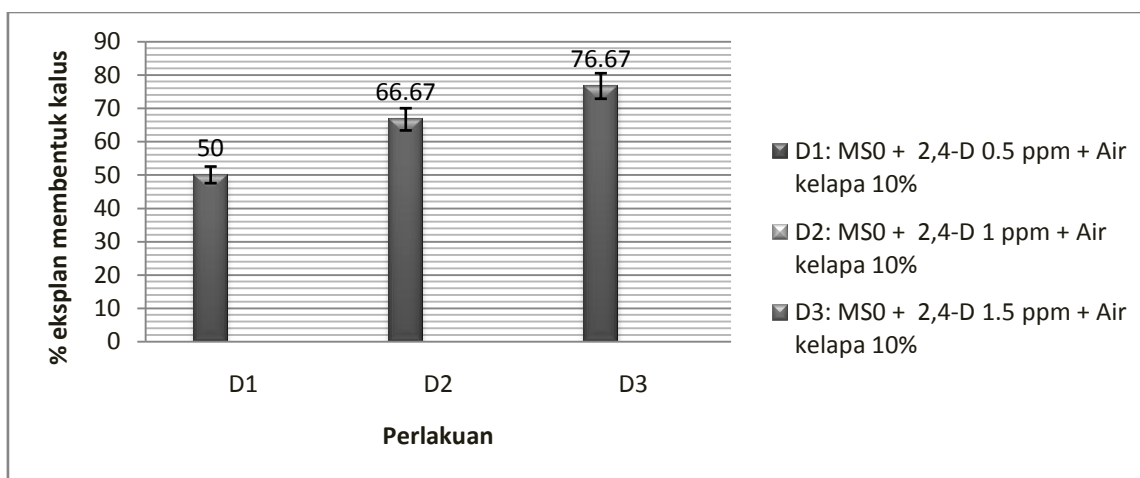
a. Saat munculnya kalus



Gambar 1. Rata-rata saat munculnya kalus hari setelah tanam (HST) tanaman anggur hijau secara *in vitro*.

Keterangan: Waktu yang diperlukan untuk munculnya kalus pada eksplan yang ditanam pada media MS dengan penambahan air kelapa dan zat pengatur tumbuh. D1 (MS₀ + 2,4 D 0.5 ppm + air kelapa 10%, D2 (MS₀ + 2,4 D 1 ppm + air kelapa 10%, dan D3 (MS₀ + 2,4 D 1.5 ppm + air kelapa 10%.

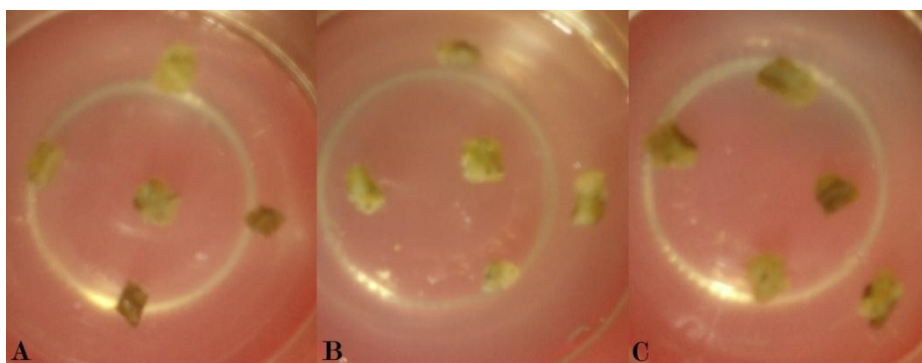
b. Persentase eksplan yang membentuk kalus



Gambar 2. Rata-rata persentase eksplan yang membentuk kalus tanaman anggur hijau (*V. vinifera*L.) secara *in vitro*.

Keterangan: Persentase eksplan yang mampu diinduksi pada medium MS dengan penambahan air kelapa dan zat pengatur tumbuh 2,4 D. Uji sidik ragam menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan yang diberikan, pada taraf kepercayaan 95% dan pada taraf 99%.

c. Warna kalus



Gambar 3. Warna kalus eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D dengan pemberian air kelapa 10% secara *in vitro*.

Keterangan: Semua medium yang ditambahkan mampu menginduksi kalus tanaman anggur hijau (*Vitis vinifera* L.) dengan warna hijau kecoklatan.

A. Medium D1 (MS0 + 2,4 D 0,5 ppm + air kelapa 10%).

B. Medium D2 (MS0 + 2,4 D 01 ppm + air kelapa 10%).

C. Medium D3 (MS0 + 2,4 D 1,5 ppm + air kelapa 10%).

d. Tekstur kalus

Tabel 1. Tekstur kalus eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D dengan penambahan air kelapa.

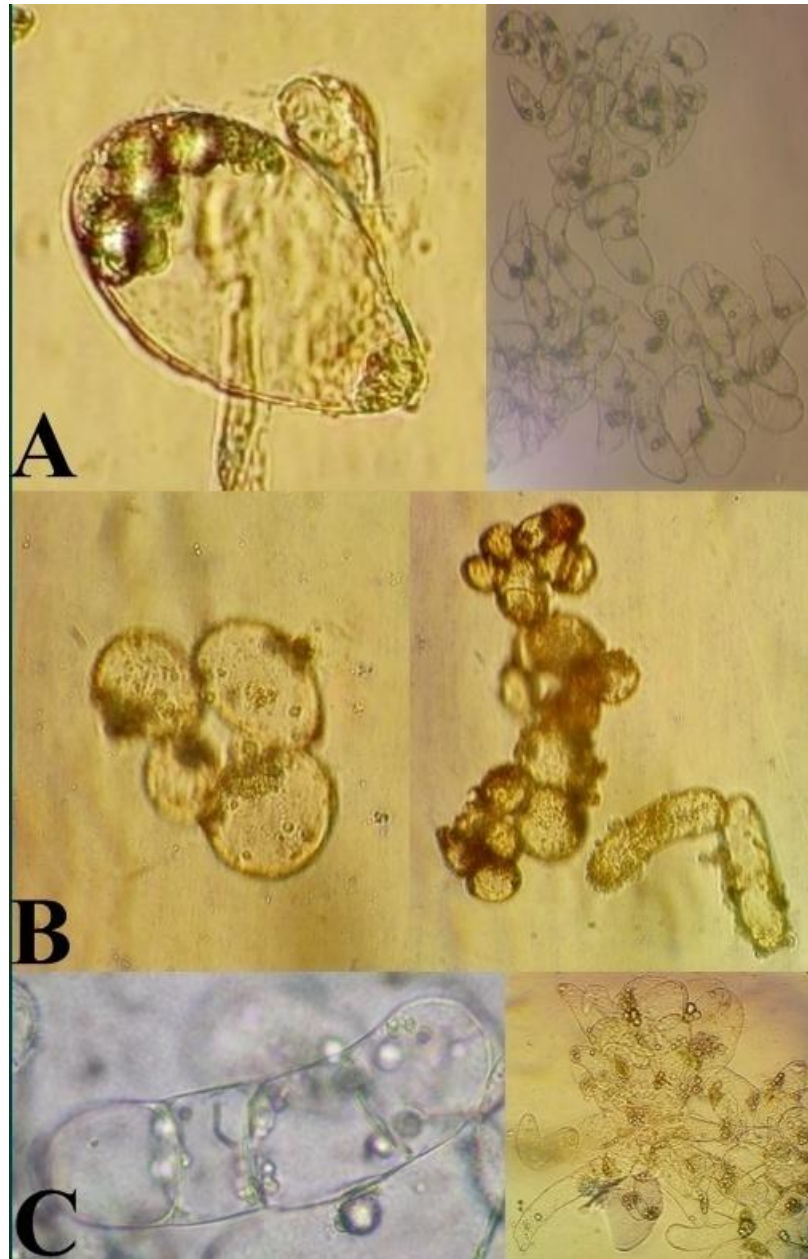
Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
D1	Kompak	Kompak	Kompak
D2	Kompak	Kompak	Kompak
D3	Kompak	Kompak	Kompak

Keterangan: D1: MS0 + 2,4-D0.5 ppm + air kelapa 10%.

D2: MS0 + 2,4-D1 ppm + air kelapa 10%.

D3: MS0 + 2,4-D1.5 ppm + air kelapa 10%.

e. Sel Kalus



Gambar 4. Pengamatan sel kalus eksplan tanaman anggur hijau (*V. vinifera* L.).

Keterangan: Pada sisi kiri menunjukkan sel kalus pada perbesaran kuat dan sisi kanan menunjukkan sekumpulan sel kalus pada perbesaran lebih rendah. Gambar A yaitu kalus pada perlakuan D1, gambar B kalus pada perlakuan D2, dan gambar C sel kalus pada perlakuan D3