

PENGARUH PEMBERIAN 2,4-D (DICLOROPHENOXY ACETIC ACID) DAN BAP (BENZYL AMINO PURINE) TERHADAP INDUKSI KALUS PADA TANAMAN PADI LADANG

Lazuardi¹

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan, Jln. Willem Iskandar Pasar V, Medan 20221

Diterima 2 Februari 2012, disetujui untuk publikasi 22 Februari 2012

Abstract Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan komposisi media kultur *in vitro* terbaik untuk induksi kalus menggunakan 2,4-D dan BAP pada tanaman padi ladang (*Oryza sativa* L.) asal Kabanjahe. Rancangan yang digunakan untuk mencapai tujuan tersebut adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Faktor pertama konsentrasi 2,4-D dengan tiga level : 1,0; 2,0; 3,0 mg/l dan faktor kedua konsentrasi BAP tiga level : 0,5; 1,0; 1,5 mg/l. Peubah yang diamati meliputi : jumlah (%) biji steril, jumlah (%) eksplan membentuk kalus, diameter kalus, bobot kalus, penampakan kalus. Hasil penelitian : (1) pemberian Diclorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyl Amino Purine (BAP) berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah (%) eksplan membentuk kalus, bobot kalus dan diameter kalus, (2) konsentrasi 2,4-D 2,0 mg/l dan BAP 1,5 mg/l memberikan hasil terbaik untuk jumlah (%) eksplan membentuk kalus, bobot kalus dan diameter kalus, (3) penampakan kalus embriogenik lebih banyak terdapat pada perlakuan 2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l dengan penampakan warna kalus putih kekuningan, nodul-nodul jelas, kalus mudah memisah (*friabel*), serta ada spot hijau

Kata kunci:
in vitro, media kultur, induksi kalus.

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditas paling strategis dan dibutuhkan secara esensial dalam kehidupan masyarakat Indonesia (Krisnamurthi, 2003). Selama ini produksi padi di Indonesia didominasi oleh varietas padi sawah dan rendahnya produksi padi lahan kering (ladang, gogo, gogorancah). Penyebab rendahnya produksi padi lahan kering adalah : 1) terbatasnya jumlah varietas padi unggul lahan kering sampai saat sekarang, sehingga menghambat perluasan penanaman (Edi, 2004), 2) Lahan kering (32,4 %) didominasi oleh tanah masam podsolik merah kuning (Karama dan Abdurachman, 1993). Langkah awal untuk mengatasi masalah tersebut adalah mencari plasma nutfah lokal yang dapat dijadikan sebagai sumber eksplan untuk membuat varietas padi unggul lahan kering lebih banyak Hasil observasi di Kabanjahe mengenai padi menyimpulkan : (1) ada beberapa jenis padi ladang yang biasa ditanam oleh penduduk disana, (2) dilihat dari segi morfologinya

memang jenis padi ini berbeda dengan jenis padi yang ada di daerah lain di Sumatera Utara dan berpotensi untuk dikembangkan menjadi varietas unggul, (3) penelitian pendahuluan memberikan hasil bahwa tanaman padi ini peka terhadap tanah masam podsolik merah kuning (cekaman Al dan pH rendah). Jenis padi ladang ini dijadikan sebagai sumber eksplan dalam penelitian kultur jaringan (*in vitro*). Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Contohnya, komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg B5 (1976), Linsmaier dan Skoog (LS) (1965), Murashige dan Skoog (MS) (1962), serta Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd dan McCown, 1980). Media dasar MS dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, sedangkan media LS biasa digunakan pada

kultur jaringan tanaman manokotil. Dengan demikian kedua media dasar ini akan digunakan untuk menentukan pertumbuhan dan regenerasi kalus terbaik pada plasma nutfah padi yang berasal dari Kepulauan Nias. Walaupun sudah ada penelitian-penelitian sebelum tentang pertumbuhan dan regenerasi kalus, tetapi setiap genotipe atau varietas mempunyai respon yang spesifik terhadap media tempat tumbuh. Beberapa penelitian kultur *in vitro* telah dilakukan pada padi untuk mencari sistem pertumbuhan dan regenerasi yang terbaik antara lain mengenai : (a) induksi kalus pada padi varietas Jatiluhur, Gajah mungkur dan Cirata menggunakan media MS dan LS, dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa induksi kalus pada media MS lebih baik jika dibandingkan dengan media LS (Edi, 2004), (b) produksi kalus dan regenerasi kultur anther FI padi silangan javanika dengan indika, dari hasil penelitian didapatkan persentase regenerasi 20,71 % dari dua silangan rojolele/IR64 dan rojolele/IR36 pada media LS (Hanarida dan Rianawati, 1992), (c) induksi kalus biji dan regenerasi tanaman padi *in vitro*, dari hasil penelitian didapatkan persentase regenerasi tanaman dari kalus yaitu varietas aselapan 17 %, hawara batu 9,7 %, pandan wangi 10,7 %, jalawara 11,7 %, rojolele 11,3 % dan T309 14,3 % pada media MS (Masyhudi dan Sustipriyatno, 1994), dan (d) kultur embrio muda tanaman padi cisadane pada beberapa media dasar MS, LS, N6 dan KNOP, dari hasil penelitian didapatkan regenerasi terbaik diperoleh dari media MS dengan penambahan NAA 2 mg/l dan BAP 4 mg/l (Ambarwati dan Hanarida, 1991). Dari penelitian-penelitian tersebut terlihat bahwa setiap tanaman mempunyai respon yang berbeda terhadap media dasar serta persentase induksi dan regenerasi kalus yang masih rendah. Oleh sebab itu perlu dicari metode baru untuk meningkatkan persentase pertumbuhan dan regenerasi kalus menjadi planlet. Zat pengatur tumbuh adalah persenyawaan organik selain dari nutrient yang dalam jumlah sedikit (1 mM) dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan

tanaman (Wattimena, 1992). Dalam kultur jaringan ada dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Gunawan, 1992). Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Salah satu mekanisme yang mengatur organogenesis adalah taraf relatif auksin (1AA, NAA, dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP, zeatin dan thidiazuron) dalam media. Sebagai contoh, pada tembakau dengan nisbah auksin terhadap sitokinin dalam media (IAA/kinetin) tinggi akan membentuk akar dan apabila sebaliknya akan terbentuk tunas, sedangkan apabila nisbah auksin/sitokinin sama akan terbentuk kalus (Bhojwani dan Razdan, 1983). George dan Sherrington (1983) juga menyatakan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan antara suplai zat pengatur tumbuh dalam media dan yang diproduksi secara endogen oleh sel-sel yang dikultur. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media kultur *in vitro* terbaik untuk menginduksi kalus secara *in vitro* dengan menggunakan 2,4-D dan BAP pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) 2.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan desain percobaan sebagai berikut :

Faktor pertama konsentrasi 2,4-D : 1,0; 2,0; 3,0 mg/l,

Faktor kedua konsentrasi BAP : 0,5; 1,0; 1,5 mg/l

Terdapat 9 (3 x 3) kombinasi perlakuan, dengan ulangan 3 kali (botol kultur) untuk setiap kombinasi perlakuan. Setiap botol kultur berisi 10 buah eksplan (embrio). Prosedur percobaan dilakukan dengan cara menguliti benih padi, selanjutnya mensterilisasi benih tersebut, benih padi yang sudah steril diisolasi antara embrio dan endosperm. Kemudian

embrio ditanam pada media dasar MS dan ditambah dengan zat pengatur tumbuh (sesuai dengan perlakuan). Uraian lebih lengkap dimulai dengan pembuatan media kultur sampai dengan induksi kalus, adalah sebagai berikut. Dalam penelitian ini digunakan media padat dari Murashige & Skoog (1962) untuk menginduksi kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Komposisi media induksi kalus terdiri dari media MS (Murashige & Skoog, 1962) ditambah dengan 100 mg L⁻¹ myoinositol; 0,5 mg L⁻¹ asam nikotinat; 0,5 mg L⁻¹ pyridoxin HCl; 0,1 mg L⁻¹ tiamin HCl; 3 % sukrosa dan 0,25 % gelrite, auksin dan sitokinin (sesuai perlakuan). Keasaman media (pH) diatur sebesar 5,8 sebelum diautoklaf dengan menambahkan beberapa tetes 0,1 N NaOH atau 0,1 N HCl ke dalam media. Untuk membuat menjadi padat dengan menambahkan gelrite konsentrasi 0,25 % (2,5 g/l). Media dipanaskan di atas tungku listrik untuk melarutkan agar dan sukrosa. Setelah media mendidih (ditandai gelembung kecil dan warna larutan jernih), selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kultur yang sudah disterilkan sebelumnya sebanyak 25 ml setiap botol. Setelah itu botol kultur ditutup dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121 °C pada tekanan 20 psi. Induksi kalus, biji-biji yang sudah mengalami pembengkakan segera diisolasi (dibuang endosperm), kemudian embrionya diinokulasi pada media induksi kalus (sesuai perlakuan) masing-masing 10 eksplan per botol kultur. Selanjutnya semua botol kultur ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi dalam ruang pertumbuhan Suhu ruang pertumbuhan sudah diatur sekitar (26 ± 2)°C dan diberikan cahaya lampu TL 40 watt selama 16 jam per hari. Setelah dua minggu semua kalus yang terbentuk diperiksa dan skutelum yang tumbuh diujung kalus dipotong dan dibuang. Selanjutnya kalus dikulturkan kembali di dalam media yang sama selama 6 minggu (1 kali subkultur). Setelah kalus berumur 6 minggu dilakukan pengukuran dan penimbangan sesuai peubah yang telah ditentukan. Parameter yang diamati yaitu

1. Persentase Biji yang Steril (%) diamati secara visual banyaknya biji steril tiap-tiap botol pada media MSO yang ditandai dengan ada tidaknya biji yang ditumbuhi miselium, jamur, atau koloni bakteri.
2. Persentase Biji yang Steril (%) diamati secara visual banyaknya biji steril tiap-tiap botol pada media MSO yang ditandai dengan ada tidaknya biji yang ditumbuhi miselium, jamur, atau koloni bakteri.
3. Diameter kalus diukur dari ujung ke ujung dari tumpukan sel kalus yang bentuknya hampir menyerupai lingkaran.
4. Bobot kalus dilakukan dengan menimbang tumpukan sel kalus pada akhir percobaan.
5. Penampakan kalus dilakukan secara visual untuk melihat morfologi luarnya yang meliputi : warna kalus, remah (friabel), nodul jelas, bening (transparan), serta spot hijau.

Data dianalisis sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan menggunakan model :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = pengamatan pada perlakuan α ke- i , β ke- j dan ulangan ke- k

μ = rata-rata umum

α_i = perlakuan α ke- i

β_j = perlakuan β ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interaksi antara α dan β , pada α ke- i , β ke- j

ϵ_{ijk} = error pada α ke- i , β ke- j , dan ulangan ke- k

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan maka diperoleh hasil sebagai berikut. . Pengamatan persentase biji yang steril yang tumbuh (embrio membengkak) pada media MSO dilakukan secara visual (6 hari setelah penanaman dan perlakuan sterilisasi). Hasil pengamatan menunjukkan, sterilisasi dengan menggunakan kombinasi konsentrasi bayclin dan dilanjutkan dengan penggunaan HgCl₂ 2% meningkatkan persentase biji steril dan tumbuh dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1. Jumlah benih yang tumbuh setelah sterilisasi

No.	Formulasi/perlakuan	Peubah/jumlah eksplan (benih)		
		Tumbuh steril	Tumbuh kontaminan	Mati
1	B3'6'10'0	0	100	0
2	B3'6'10'1	19	66	15
3	B3'6'10'2	37	37	26
4	B5'10'20'0	16	63	21
5	B5'10'20'1	32	39	29
6	B5'10'20'2	48	22	30
7	B10'15'30'0	28	47	25
8	B10'15'30'1	34	23	43
9	B10'15'30'2	36	16	48
Jumlah (%)		250	413	237

Keterangan :

B3'6'10'0 = Bayclin, 3 menit (konsentrasi bayclin 30 %), 6 menit (konsentrasi bayclin 20 %), 10 menit (konsentrasi bayclin 10 %), 0 = HgCl 0,2 % selama 0 menit. B5'10'20'1 = Bayclin, 5 menit (konsentrasi bayclin 30 %), 10 menit (konsentrasi bayclin 20 %), 20 menit (konsentrasi bayclin 10 %), 1 = HgCl 0,2 % selama 1 menit. B10'15'30'2 = Bayclin, 10 menit (konsentrasi bayclin 30 %), 15 menit (konsentrasi bayclin 20 %), 30 menit (konsentrasi bayclin 10 %), 2 = HgCl 0,2 % selama 2 menit.

Dari tabel 4.1. dapat dilihat perbandingan sterilisasi dengan menggunakan bayclin (30%, 20% dan 10%) dan dilanjutkan dengan penggunaan HgCl₂ 2% 0,1 dan 2. Dari tabel di atas dapat dihitung persentase biji yang steril dan tumbuh dari semua biji yang dikulturkan adalah :

$$\% \text{ Biji Steril} = \frac{\text{Jumlah biji kultur steril}}{\text{Jumlah semua biji kultur}} \times 100\%$$

= $\frac{250}{900} \times 100\%$

Jumlah (Persentase) Eksplan Membentuk Kalus

Jumlah (persentase) eksplan membentuk kalus dapat dilihat pada tabel 2 berikut ini.

Tabel 4.2. Rata-rata jumlah (%) eksplan membentuk kalus akibat pengaruh 2,4-D dan BAP pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

No.	Perlakuan 2,4-D dan BAP (mg/l)	Jumlah (%) kalus/ulangan			Total	Rataan
		1	2	3		
1	2,4-D1,0 + BAP0,5	7 (70)	6 (60)	7 (70)	20 (66,70)	6,67
2	2,4-D1,0 + BAP1,0	8 (80)	8 (80)	8 (80)	24 (80,00)	8,00
3	2,4-D1,0 + BAP1,5	3 (30)	4 (40)	5 (50)	12 (40,00)	4,00
4	2,4-D2,0 + BAP0,5	8 (80)	7 (70)	7 (70)	22 (73,30)	7,30
5	2,4-D2,0 + BAP1,0	8 (80)	9 (90)	8 (80)	25 (83,30)	8,33
6	2,4-D2,0 + BAP1,5	9 (90)	9 (90)	9 (90)	27 (90,00)	9,00
7	2,4-D3,0 + BAP0,5	6 (60)	6 (60)	6 (60)	18 (60,00)	6,00
8	2,4-D3,0 + BAP1,0	8 (80)	7 (70)	8 (80)	23 (76,67)	7,67
9	2,4-D3,0 + BAP1,5	6 (60)	5 (50)	4 (40)	15 (50,00)	5,00

Data hasil penelitian didapat persentase eksplan membentuk kalus pada setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat sebagai berikut :

$$\% \text{ kalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang membentuk kalus}}{\text{Jumlah semua eksplan}} \times 100\%$$

$$= \frac{186}{270} \times 100\%$$

$$= 68,88 \%$$

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D (Diclorophenoxy Acetic Acid), BAP (Benzil Amino Purin) dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus. Seperti terlihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap eksplan membentuk kalus

Sumber	Db	JK	KT	F hitung	F table	
					5%	1%
Perlakuan	8	64,00	⊙	⊙	⊙	⊙
A	2	24,00	12,00	32,43**	3,55	6,01
B	2	18,67	9,34	25,24**	3,55	6,01
AB	4	21,33	5,33	14,41**	2,93	4,58
Galat	18	6,67	0,37	-	-	-
Total	26	70,67	-	-	-	-

Keterangan : ** = Sangat Nyata

Dari hasil uji lanjut DNMRT 5% terlihat ada pengaruh konsentrasi perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap eksplan yang mengkalus pada padi varietas Si Beru Tarigan, dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Uji lanjut DNMRT 5% rata-rata jumlah eksplan yang dapat menginduksi kalus pada perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP

Perlakuan	A1	A2	A3
B1	6,67 cd	7,33 de	6,00 bc
B2	8,00 ef	8,33 ef	7,67 de
B3	4,00 a	9,00 f	5,00 ab

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada baris dan kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf Uji DNMRT 5%. A1 = 2,4-D 1,0 mg/l, A2 = 2,0 mg/l, A3 = 3,0 mg/l, B1 = 0,5 mg/l, B2 = 1,0 mg/l, B3 = 1,5 mg/l.

Dari tabel 4.4 di atas menunjukkan bahwa perlakuan A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) menunjukkan jumlah (persentase) eksplan membentuk kalus tertinggi yaitu 9 eksplan (90%) dan perlakuan A1B3 (2,4-D 1,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) menunjukkan jumlah (persentase) eksplan membentuk kalus terendah yaitu 4 eksplan (40%).

Selanjutnya berdasarkan uji lanjut DNMRT, maka perlakuan 3 (2,4-D 1,0 + BAP 1,5) tidak berbeda nyata dengan perlakuan 9 (2,4-D 3,0 + BAP 1,5), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 7 (2,4-D 3,0 + BAP 0,5),

perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5), perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5), perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0), perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0), perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0) dan perlakuan 6 (2,4-D 2,0 + BAP 1,5)

Perlakuan 9 tidak berbeda nyata dengan perlakuan 7, tetapi bebrbeda nyata dengan perlakuan 1, 4, 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 7 tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 4, 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 1 tidak berbeda nyata dengan perlakuan 4, 8, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 2, 5 dan 6. Perlakuan 4 tidak berbeda

nyata dengan perlakuan 8, 2, 5 tetapi berbeda dengan perlakuan 6. Selanjutnya perlakuan 8 tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2 dan 5, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 6. Perlakuan 2 sama dengan perlakuan 5 dan 6. Perlakuan 5 tidak berbeda nyata dengan perlakuan 6.

Pada perlakuan yang kelebihan auksin (2,4-D) terlihat bahwa persentase induksi kalusnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya, seperti pada perlakuan 2,4-

D 2,0 + BAP 1,5 ; 2,4-D 2,0 + BAP 1,0 dan 2,4-D 2,0 + BAP 0,5 masing-masing persentase induksi kalusnya adalah 9,00%, 8,33% dan 7,33%. Hal ini menunjukkan pada awal pengkulturan eksplan, konsentrasi auksin (2,4-D) harus lebih banyak diberikan pada media tanam. Hal ini sesuai dengan pendapat Sutjahjo (1994), bahwa 2,4-D sering ditambahkan pada media kultur untuk menginduksi kalus pada tanaman jagung.

. Bobot Kalus

Hasil penimbangan bobot kalus umur 6 minggu setelah isolasi dapat dilihat pada tabel 4.5 dibawah ini.

Tabel 4.5. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus (g) pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

No.	Perlakuan 2,4-D dan BAP (mg/l)	Bobot kalus/ulangan (botol)/eksplan		
		1	2	3
1.	2,4-D1,0 + BAP0,5	0,30	0,30	0,31
		0,34	0,32	0,29
		0,32	0,28	0,33
Total		0,96	0,90	0,93
Rataan		0,32	0,30	0,31
2.	2,4-D1,0 + BAP1,0	0,37	0,40	0,37
		0,39	0,38	0,36
		0,38	0,39	0,38
Total		1,14	1,17	1,11
Rataan		0,38	0,39	0,37
3.	2,4-D1,0 + BAP1,5	0,24	0,29	0,25
		0,26	0,25	0,21
		0,25	0,27	0,23
Total		0,75	0,81	0,69
Rataan		0,25	0,27	0,23
4.	2,4-D2,0 + BAP0,5	0,32	0,30	0,30
		0,34	0,34	0,36
		0,36	0,32	0,33
Total		1,02	0,96	0,99
Rataan		0,34	0,32	0,33
5.	2,4-D2,0 + BAP1,0	0,40	0,38	0,39
		0,41	0,39	0,38
		0,39	0,40	0,37
Total		1,20	1,17	1,14
Rataan		0,40	0,39	0,38
		0,45	0,41	0,46

6.	2,4-D2,0 + BAP1,5	0,41	0,42	0,44
		0,43	0,40	0,45
Total		1,29	1,23	1,35
Rataan		0,43	0,41	0,45
7.	2,4-D3,0 + BAP0,5	0,28	0,29	0,31
		0,27	0,31	0,33
		0,29	0,30	0,32
Total		0,84	0,90	0,96
Rataan		0,28	0,30	0,32
8.	2,4-D3,0 + BAP1,0	0,36	0,34	0,33
		0,35	0,35	0,35
		0,34	0,36	0,34
Total		1,05	1,08	1,02
Rataan		0,35	0,36	0,34
9.	2,4-D3,0 + BAP1,5	0,28	0,29	0,28
		0,30	0,27	0,26
		0,29	0,28	0,27
Total		0,87	0,84	0,81
Rataan		0,29	0,28	0,27

Analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D dan BAP serta interaksinya berpengaruh sangat nyata terhadap bobot akhir kalus pada taraf signifikan 1%. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus

Sumber	Db	JK	KT	Fhit	Ftab	
					5%	1%
Perlakuan	8	0,0794	⊙	⊙	⊙	⊙
A	2	0,0310	0,0155	77,5**	3,55	6,01
B	2	0,0196	0,0098	49,0**	3,55	6,01
AB	4	0,0288	0,0072	36,0**	2,93	4,58
Galat	18	0,0036	0,0002	⊙	⊙	⊙
Total	26	0,1624	0,0327	⊙	⊙	⊙

Keterangan : ** = Sangat Nyata

Uji lanjut DNMRT 5% pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus dapat dilihat pada tabel 4.7 di bawah ini.

Tabel 4.7. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap rata-rata bobot (g) kalus

Perlakuan	A1	A2	A3
B1	0,31 cd	0,33 de	0,30 bc
B2	0,38 f	0,39 f	0,35 e
B3	0,25 a	0,43 g	0,28 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada baris dan kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf Uji DNMRT 5%. A1 = 2,4-D 1,0 mg/l, A2 = 2,0 mg/l, A3 = 3,0 mg/l, B1 = 0,5 mg/l, B2 = 1,0 mg/l, B3 = 1,5 mg/l.

Dari Tabel 4.7. di atas terlihat bahwa perlakuan A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) memberikan bobot kalus tertinggi yaitu 0,43 g dan perlakuan A1B3 (2,4-D 1,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) memberikan bobot kalus terendah yaitu 0,25 g.

Selanjutnya berdasarkan uji lanjut DNMRT, maka perlakuan 3 (2,4-D 1,0 + BAP 1,5) berbeda nyata dengan perlakuan 9 (2,4-D 3,0 + BAP 1,5), perlakuan 7 (2,4-D 3,0 + BAP 0,5), perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5), perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5), perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0), perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0), perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0) dan perlakuan 6 (2,4-D 2,0 + BAP 1,5)

Perlakuan 9 (2,4-D 3,0 + BAP 1,5) berbeda nyata dengan perlakuan 7, 1, 4, 8, 2, 5

dan 6. Perlakuan 7 (2,4-D 3,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 4, 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 2, 5 dan 6. Selanjutnya perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0) berbeda nyata dengan perlakuan 2, 5 dan 6. Perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0) sama dengan perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 6. Perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0) berbeda nyata dengan perlakuan 6 (2,4-D 2,0 + BAP 1,5).

Diameter Kalus

Hasil pengukuran diameter kalus umur 6 minggu setelah isolasi dapat dilihat pada tabel 4.8 dibawah ini.

Tabel 4.8. Data pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus (cm) pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

No.	Perlakuan 2,4-D dan BAP (mg/l)	Diameter kalus/ulangan (botol)/eksplan		
		1	2	3
1.	2,4-D1,0 + BAP0,5	1,1	0,9	1,0
		1,3	1,0	0,8
		0,6	0,8	0,6
Total		3,0	2,7	2,4
Rataan		1,1	1,4	1,2
2.	2,4-D1,0 + BAP1,0	1,4	1,3	1,0
		1,2	0,9	1,5
		1,3	1,1	1,1
Total		3,9	3,3	3,6
Rataan		1,3	1,1	1,2
3.	2,4-D1,0 + BAP1,5	0,4	0,5	0,6
		0,3	0,7	0,4
		0,5	0,6	0,5
Total		1,2	1,8	1,5
Rataan		0,4	0,6	0,5
4.	2,4-D2,0 + BAP0,5	1,0	0,9	0,9
		0,9	1,0	1,0
		1,1	1,4	0,8
Total		3,0	3,3	2,7
Rataan		1,0	1,1	0,9
5.	2,4-D2,0 + BAP1,0	1,4	1,3	1,3
		1,2	1,5	1,2
		1,3	1,4	1,1

Total		3,9	4,2	3,6
Rataan		1,3	1,4	1,2
6.	2,4-D2,0 + BAP1,5	1,5	1,4	1,4
		1,3	1,2	1,6
		1,4	1,3	1,5
Total		4,2	3,9	4,5
Rataan		1,4	1,3	1,5
7.	2,4-D3,0 + BAP0,5	0,7	1,0	0,7
		0,9	0,8	0,8
		0,8	0,9	0,6
Total		2,4	2,7	2,1
Rataan		0,8	0,9	0,7
8.	2,4-D3,0 + BAP1,0	1,1	0,9	1,1
		1,0	1,0	1,2
		1,2	1,1	1,3
Total		3,3	3,0	3,6
Rataan		1,1	1,0	1,2
9.	2,4-D3,0 + BAP1,5	0,6	0,5	0,8
		0,5	0,9	0,6
		0,7	1,0	0,7
Total		1,8	2,4	2,1
Rataan		0,6	0,8	0,7

Hasil analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus terdapat pada tabel 4.9 dibawah ini.

Tabel 4.9. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus

Sumber	Db	JK	KT	F hitung	F table	
					5%	1%
Perlakuan	8	2,07	⊙	⊙	⊙	⊙
A	2	0,81	0,40	40,5**	3,55	6,01
B	2	0,30	0,15	15,0**	3,55	6,01
AB	4	0,96	0,24	24,0**	2,93	4,58
Galat	18	0,18	0,01	⊙	⊙	⊙
Total	26	2,25	0,80	⊙	⊙	⊙

Keterangan ** = Sangat Nyata

Uji lanjut DNMRT 5% pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus dapat dilihat pada tabel 4.10 di bawah ini.

Tabel 4.10. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap rata-rata diameter kalus (cm)

Perlakuan	A1	A2	A3
B1	0,90 cd	1,00 de	0,80 bc
B2	1,20 fg	1,30 gh	1,10 ef
B3	0,50 a	1,40 h	0,70 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada baris dan kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf Uji DNMRT 5%. A1 = 2,4-D 1,0 mg/l, A2 = 2,0 mg/l, A3 = 3,0 mg/l, B1 = 0,5 mg/l, B2 = 1,0 mg/l, B3 = 1,5 mg/l.

Dari tabel 4.10. terlihat bahwa perlakuan A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) memberikan diameter kalus tertinggi yaitu 1,40 cm dan perlakuan A1B3 (2,4-D 1,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) memberikan diameter kalus terendah yaitu 0,50 cm.

Selanjutnya berdasarkan uji lanjut DN MRT (lampiran 18), maka perlakuan 3 (2,4-D 1,0 + BAP 1,5) berbeda nyata dengan perlakuan 9 (2,4-D 3,0 + BAP 1,5), perlakuan 7 (2,4-D 3,0 + BAP 0,5), perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5), perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5), perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0), perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0), perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0) dan perlakuan 6 (2,4-D 2,0 + BAP 1,5)

Perlakuan 9 (2,4-D 3,0 + BAP 1,5) berbeda nyata dengan perlakuan 7, 1, 4, 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 7 (2,4-D 3,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 4, 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 1 (2,4-D 1,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 8, 2, 5 dan 6. Perlakuan 4 (2,4-D 2,0 + BAP 0,5) sama dengan perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 2, 5 dan 6. Selanjutnya perlakuan 8 (2,4-D 3,0 + BAP 1,0) sama dengan perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 5 dan 6. Perlakuan 2 (2,4-D 1,0 + BAP 1,0) sama dengan perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 6. Perlakuan 5 (2,4-D 2,0 + BAP 1,0) sama dengan perlakuan 6.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pemberian Diclorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyl Amino Purine (BAP) berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah (%) eksplan membentuk kalus, bobot kalus dan diameter kalus. Konsentrasi 2,4-D 2,0 mg/l dan BAP 1,5 mg/l memberikan hasil terbaik untuk jumlah (%) eksplan membentuk kalus, bobot kalus dan diameter kalus. Penampakan kalus embriogenik terdapat pada perlakuan 2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l yaitu warna kalus putih kekuningan dengan nodul-nodul yang jelas, kalus mudah memisah (friabel), serta ada spot hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, A. D dan I. Hanarida. 1991. Kultur embrio muda tanaman padi cisadane. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balittan Bogor.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. Plant Tissue Culture, Theory and Practice. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo. 502p.
- Edi, S. 2004. Peningkatan Ketenggangan terhadap Aluminium dan pH Rendah pada Tanaman Padi melalui Keragaman Somaklonal dan Iradiasi Sinar Gamma. Disertasi S-3. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 125 halaman.
- Gamborg, O.I, T. Murashige, T.A. Thorpe dan I.K. Vasil. 1976. Plant Tissue Culture Media. *In Vitro* 12 : 473 – 478.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1983. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories Exegetics Limited. England. 709p
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. 165p.
- Heller, R. 1953. Researches on The Mineral Nutrition of Plant Tissues. *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. Veg.*, 11 th Ser. 14 : 1 – 223.
- Karama, A.S. dan A. Abdurachman. 1993. Optimasi pemanfaatan sumber daya lahan berwawasan lingkungan. Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Pangan III. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan dan Badan Litbang DEPTAN. Jakarta/Bogor 23-25 Agustus 1993 : 98-112.

- Krisnamurthi, B. 2003. Kondisi, Tantangan dan Masalah Ketahanan Pangan. Makalah Temu pers. Bogor. 12 hal.
- Knudson, L. 1946. A New Nutrient Solution for The Germination of Orchid Seed. Am. Orchid Soc. Bull. 15 : 214 - 217
- Lloyd, G. dan B.H. McCown. 1980. Commercially Feasible Micropropagation of Mountain Laurel *Katmia latifolia* by Use of Shoot Tip Culture. Proc. International Plant Propagation Society 30 : 421 - 427.
- Masyhudi, M. F. dan A. D. Ambarwati. 1993. Variasi somaklonal padi indika dan javanika. Penelitian Pertanian 13 (2) : 45 - 51.
- Masyhudi, M. F. dan Sustipriyatno. 1994. Induksi kalus biji dan regenerasi tanaman padi *in vitro*. Penelitian Pertanian 14 (2) : 52 - 58.
- Murashige, T and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15 : 473 - 497.
- Wattimena, G. A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas. Bogor. 308 hlm.