

**INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS BEBERAPA GENOTIPE
PADI LOKAL KABUPATEN TANA TORAJA DAN TORAJA UTARA
SERTA ENREKANG SECARA *IN VITRO***

NOVITASARI

G111 14 050



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

MAKASSAR

2019



**INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS BEBERAPA GENOTIPE
PADI LOKAL KABUPATEN TANA TORAJA DAN TORAJA UTARA
SERTA ENREKANG SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan Untuk Menempuh Ujian Sarjana

Pada Program Studi Agroteknologi Departemen Budidaya Pertanian

Fakultas Pertanian

Universitas Hasanuddin

NOVITASARI

G111 14 050



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

MAKASSAR

2019



**INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS BEBERAPA GENOTIPE
PADI LOKAL KABUPATEN TANA TORAJA DAN TORAJA UTARA SERTA
ENREKANG SECARA *IN VITRO***

NOVITASARI

G111 14 050

**Program Studi Agroteknologi
Departemen Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian**

**Universitas Hasanuddin
Makassar**

2019

Makassar, Mei 2019

Menyetujui :

Pembimbing I



Ir. Rinaldi Sjahril, M. Agr., Ph.D.
NIP. 19660925/199412 1 001

Pembimbing II



Dr. Ir. Muh. Riadi, MP.
NIP. 19640905 198903 1 003

Mengetahui,

Ketua Departemen Budidaya Pertanian




Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si.
NIP. 19591103 199103 1 002

iii



PENGESAHAN

**JUDUL : INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS BEBERAPA
GENOTIPE PADI LOKAL KABUPATEN TANA TORAJA DAN
TORAJA UTARA SERTA ENREKANG SECARA *IN VITRO***

NAMA : NOVITASARI

NIM : G111 14 050

Skripsi ini telah diterima dan dipertahankan pada Hari Selasa Tanggal 21 Bulan Mei Tahun 2019 dihadapan pembimbing/penguji berdasarkan Surat Keputusan No. 896/UN4.10.7.1/PP.28/2019 Dengan susunan sebagai berikut :

Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr. Ph.D.	(Ketua Sidang)
Dr. Ir. Muh. Riadi, MP.	(Sekretaris)
Dr. Ir. Hj. Feranita Haring, MP.	(Anggota)
Ir. Nurlina Kasim, M.Si.	(Anggota)
Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si	(Anggota)
Nuniek Widiyani, S.P. MP.	(Anggota)

Mengetahui:

Ketua Departemen Budidaya Pertanian


Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si.
NIP. 19591103 199103 1 002

iv



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Induksi Kalus dan Regenerasi Tunas Beberapa Genotipe Padi Lokal Kabupaten Tana Toraja dan Toraja Utara serta Enrekang secara *In Vitro*” dapat terselesaikan dengan baik yang sekaligus menjadi syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari beberapa pihak, penulisan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik, karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Jamaluddin dan Ibunda Almh. Icengga atas segala doa, pengorbanan, perhatian dan kasih sayangnya kepada penulis. Rasa terima kasih juga kepada Kakanda Tenri Ulang Sari, S.TP., yang telah memberikan dukungan, semangat dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
2. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D., selaku Pembimbing I dan Dr. Ir. Muh. Riadi, M.P., selaku Pembimbing II yang dengan sabar dan penuh keikhlasan memberikan arahan, masukan, bimbingan, dan motivasi yang membangun sehingga skripsi ini dapat tersusun.
3. Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si., Ir. Nurlina Kasim, M.Si., dan Dr. Ir. Hj. Feranita Haring,

, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran, masukan serta perhatian untuk penulis demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.



4. Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si., selaku ketua Departemen Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin beserta seluruh dosen dan staf atas segala bantuan dan perhatian yang telah diberikan.
5. Teman-teman penelitian di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman khususnya kepada kakanda Irma Jamaludin S.P., dan Afra Andre Pasanda S.P., M.Si., atas segala nasehat, saran dan kesempatan yang selalu ada untuk berbagi ilmu kepada penulis.
6. Teman-teman angkatan 2014 (Sintesis), Agroteknologi 2014, Keluarga besar UKM Bulutangkis UNHAS, dan KKN Reguler Angkatan 96 Galesong Utara yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terima kasih atas do'a, dukungan, semangat, dan kerjasamanya.
7. Pihak-pihak lain yang turut serta membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT selalu memberikan limpahan rahmat-Nya dan membalas semua kebaikan pihak yang telah membantu penulis. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan mengingat keterbatasan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan tulisan ini sangat penulis harapkan. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Makassar, Mei 2019

Penulis



ABSTRAK

Novitasari (G11114050) Induksi Kalus dan Regenerasi Tunas Beberapa Genotipe Padi Lokal Kabupaten Tana Toraja dan Toraja Utara serta Enrekang Secara *In Vitro*. Dibimbing oleh **Rinaldi Sjahril** dan **Muh. Riadi**.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui beberapa genotipe padi lokal dan konsentrasi 2,4-D yang memberikan pengaruh terbaik pada pengkalusan dan dilanjutkan untuk mengetahui genotipe serta konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik pada pertunasan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin yang berlangsung dari April hingga Oktober 2018. Penelitian ini terdiri dari dua tahap percobaan. Percobaan pertama adalah induksi kalus menggunakan rancangan faktorial dua faktor, dengan rancangan acak kelompok sebagai rancangan lingkungan, dimana faktor pertama adalah sembilan genotipe padi (Pare Pulu Lea, Pare Barri, Pare Pulu Mandoti, Pare Pulu Lotong, Pare Pulu Lallodo, Pare ko'bo, Pare Pulu Kombong, Pare Lambau, dan Pare Mansur) dan sebagai faktor kedua adalah enam taraf 2,4-D (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 mg L⁻¹). Pada percobaan kedua yakni regenerasi tunas menggunakan rancangan faktorial tiga faktor, dengan rancangan acak kelompok sebagai rancangan lingkungan. Faktor pertama adalah kalus dari tiga genotipe padi yang dihasilkan dari percobaan pertama (Pare Pulu Mandoti, Pare Pulu Lotong, dan Pare Pulu Kombong), sebagai faktor kedua adalah empat taraf NAA (0,0; 0,5; 1,0; dan 1,5 mg L⁻¹) dan sebagai faktor ketiga adalah empat taraf BAP (0,0; 0,5; 1,0; dan 1,5 mg L⁻¹). Hasil percobaan induksi kalus menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan genotipe Pare Pulu Mandoti pada media 0,5 mg L⁻¹ 2,4-D memberikan persentase pembentukan kalus terbaik (100%) dengan bobot kalus rata-rata (0,32 g), sedangkan pada regenerasi tunas dari kalus tiga genotipe padi belum menunjukkan keberhasilan penggunaan NAA dan BAP. Walaupun demikian genotipe yang dapat bertunas tercepat (27 HST) dengan tunas terbanyak (2 tunas) adalah Pare Pulu Kombong pada media 0,5 mg L⁻¹ NAA + 1,5 mg L⁻¹ BAP.

Kata kunci: *Padi lokal, genotipe, media tanam.*



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Hipotesis	4
1.3. Tujuan dan Kegunaan	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Padi Lokal	6
2.2. Kultur <i>In Vitro</i>	7
2.3. Induksi Kalus	9
2.4. Regenerasi Tunas	11
BAB III.METODOLOGI	13
A. Percobaan 1 (Induksi Kalus)	13
3.1. Tempat dan Waktu	13
3.2. Bahan dan Alat	13
3.3. Metode Penelitian	13
3.4. Pelaksanaan	15
3.5. Parameter Pengamatan	18
B. Percobaan 2 (Regenerasi Tunas)	19
3.6. Tempat dan Waktu	19
3.7. Bahan dan Alat	19
Metode Penelitian	19
Pelaksanaan	21



3.10. Parameter Pengamatan	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Hasil	25
4.2. Pembahasan	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1. Kesimpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Rata-rata kecepatan berkalus (HST).....	25
2.	Rata-rata bobot kalus (g)	26
3.	Rata-rata persentase berkalus (%).....	27
4.	Warna dan tekstur kalus yang terbentuk.....	29
5.	Rata-rata kecepatan bertunas (HST).....	30
6.	Rata-rata Berat segar tunas (g).....	31

Lampiran

1.	Komposisi stok media Murashige dan Skoog (MS)	50
2a.	Kecepatan berkalus (HST)	51
2b.	Sidik ragam kecepatan berkalus	52
3a.	Bobot kalus (g)	53
3b.	Sidik ragam bobot kalus.....	54
4a.	Persentase berkalus (%)	55
4b.	Sidik ragam persentase berkalus	56
5.	Kecepatan bertunas (HST)	57
6.	Berat segar tunas (g)	58



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Lampiran	Halaman
1.	Denah percobaan 1 (Induksi kalus)	48
2.	Denah percobaan 2 (Regenerasi tunas)	49
3.	Hasil induksi kalus dengan beberapa konsentrasi 2,4-D.....	59
4.	Hasil regenerasi tunas yang berhasil tumbuh pada beberapa konsentrasi media NAA dan BAP.....	60



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan yang sangat penting karena sampai saat ini beras sebagai produk dari tanaman padi masih digunakan sebagai makanan pokok bagi sebagian penduduk dunia terutama Asia. Selain itu, di Indonesia beras masih dipandang sebagai produk kunci bagi kestabilan perekonomian dan politik. Menurut Purnamaningsih (2006), padi dikenal sebagai sumber karbohidrat terutama pada bagian endosperma (beras), bagian lain dari padi umumnya dikenal dengan bahan baku industri, antara lain: minyak dari bagian kulit luar beras, sekam sebagai bahan bakar atau bahan pembuat kertas dan pupuk.

Pada perkembangannya padi tidak hanya berperan sebagai sumber karbohidrat tetapi juga sebagai pangan fungsional seperti sumber vitamin dan antioksidan. Salah satu jenis padi yang memiliki fungsi tersebut yaitu padi lokal. Padi lokal dengan bermacam warna kaya akan antioksidan dalam bentuk antosianin dan juga vitamin serta kandungan serat yang tinggi dibanding padi pada umumnya. Menurut Imas (2013), kandungan serat pangan (*dietary fiber*) dan hemiselulosa pada padi lokal masing-masing sebesar 7,5% dan 5,8%, sedangkan padi pada umumnya hanya sebesar 5,4% dan 2,2%. Berkaitan dengan hal tersebut konsumsi padi lokal terus meningkat seiring dengan pengetahuan masyarakat akan

kesehatan (pangan fungsional) yang diperoleh dari mengonsumsi beras

1.



Di Sulawesi Selatan terdapat beberapa kultivar padi dataran tinggi yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber pangan fungsional pada masa yang akan datang. Hasil penelitian Kasmiati (2018), menyatakan bahwa di Kabupaten Tana Toraja ditemukan 39 aksesori padi lokal dan di Kabupaten Toraja Utara 24 aksesori padi lokal. Sedangkan hasil penelitian Saputra (2018), menyatakan bahwa ditemukan 64 aksesori padi lokal, dimana 25 aksesori ditemukan di Kabupaten Enrekang dan 39 aksesori ditemukan di Kabupaten Tana Toraja. Walaupun demikian terdapat beberapa kendala yang dihadapi dalam pengembangan kultivar padi tersebut antara lain produktivitas yang rendah, umur dalam, dan kurangnya sumber benih. Kultur *in vitro* merupakan salah satu teknologi alternatif yang dapat digunakan untuk membantu memecahkan masalah tersebut yaitu melalui pembiakan secara *in vitro*. Dengan berkembangnya teknologi kultur *in vitro*, maka keragaman genetik dapat ditingkatkan antara lain melalui keragaman somaklonal. Salah satu metode keragaman somaklonal yang lebih efektif dan efisien adalah seleksi *in vitro*. Melalui metode tersebut penyaringan sifat genetik lebih terarah kepada perubahan yang diinginkan misalnya memproduksi bibit dalam jumlah besar dan dalam waktu yang relatif singkat, bebas patogen, identik dengan induknya, dan teknik ini tidak dipengaruhi oleh musim (Zulkarnain, 2009).

Efektivitas penggunaan teknik kultur jaringan dalam melakukan seleksi tergantung dari tersedianya metode baku yang efisien untuk menginduksi

nya kalus serta dapat meregenerasikannya menjadi tanaman lengkap. a, produksi kalus yang mempunyai struktur embriogenik dan mampu asikan merupakan faktor penting dalam kultur jaringan. Keberhasilan



dalam regenerasi tunas dari kalus ditentukan oleh medium kultur, genotipe tanaman, dan kondisi fisiologis dari eksplan yang digunakan (Biswas *et al.*, 2002).

Salah satu faktor yang menentukan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* adalah zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah kelompok auksin, sitokinin, dan giberelin. Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus embriogenik pada serealia, 2,4-D berperan dalam memacu hipermetilasi pada DNA, sehingga pembelahan sel selalu dalam fase mitosis, dengan demikian maka pembentukan kalus menjadi optimal. NAA merupakan salah satu auksin sintetik yang paling banyak digunakan karena memiliki sifat yang lebih stabil, sedangkan pada golongan sitokinin digunakan zat pengatur tumbuh BAP untuk menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Penggunaan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin diharapkan dapat mendorong pembelahan sel dan pembentukan morfogenesis tanaman (Abbas, 2011).

Hasil-hasil penelitian tentang metode induksi kalus dan regenerasi padi tipe indika dan japonika telah banyak dilakukan. Untuk padi tipe javanika masih sedikit informasi yang diperoleh. Informasi yang diperoleh ternyata persentase keberhasilan regenerasi yang dihasilkan masih rendah dan belum *reproducible* (tidak dapat diulang). Selain itu, regenerasi tanaman melalui kultur *in vitro*



spesifik artinya media yang dapat digunakan untuk meregenerasikan padi tertentu belum tentu dapat digunakan untuk varietas lainnya. Hasil penelitian Purnamaningsih (2006) telah menggunakan formulasi media MS + 2,4-

D 2 mg L⁻¹ + CH 3000 mg L⁻¹, MS + 2,4-D 0,5 mg L⁻¹ + BA 0,5 mg L⁻¹ dan MS + 2,4-D 20 mg L⁻¹ pada padi indica menghasilkan rata-rata pembentukan kalus sebesar 63, 65, dan 68%. Kalus yang terbentuk dari media tersebut bersifat remah (*friable*), globular (terbentuk nodul-nodul) dan berwarna bening. Selain itu, Penggunaan media MS dengan penambahan BA 3 atau 5 mg L⁻¹ dikombinasikan dengan thidiazuron 0,1 atau 0,4 mg L⁻¹ memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan formulasi media lainnya di mana persentase kalus pada kedua media tersebut mencapai 76 dan 79%. Sedangkan penelitian yang telah dilakukan Maftuchah (2003), mengemukakan bahwa formulasi media terbaik untuk memacu regenerasi tunas adalah MS + BA 0,5 mg L⁻¹ + IAA 0.7 mg/l yaitu sebesar 47% dengan rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan 2 tunas dalam 56 hari.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui genotipe dan konsentrasi 2,4-D tertentu yang terbaik pada pengkalusan dan genotipe dan konsentrasi NAA dan BAP tertentu yang terbaik pada pertunasan.

1.2.Hipotesis

1.2.1. Percobaan 1 (Induksi Kalus)

1. Terdapat interaksi antara genotipe dan konsentrasi 2,4-D tertentu yang dapat menghasilkan pengkalusan terbaik.
2. Terdapat pengaruh genotipe tertentu yang akan menghasilkan pengkalusan terbaik.
3. Terdapat pengaruh konsentrasi 2,4-D tertentu yang dapat menghasilkan

kalusan terbaik.

Percobaan 2 (Regenerasi Tunas)



1. Terdapat interaksi antara genotipe dan konsentrasi NAA tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.
2. Terdapat interaksi antara genotipe dan konsentrasi BAP tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.
3. Terdapat interaksi antara konsentrasi NAA tertentu dan konsentrasi BAP tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.
4. Terdapat interaksi antara genotipe, konsentrasi NAA tertentu dan konsentrasi BAP tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.
5. Terdapat pengaruh genotipe tertentu yang akan menghasilkan pertunasan terbaik.
6. Terdapat pengaruh konsentrasi NAA tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.
7. Terdapat pengaruh konsentrasi BAP tertentu yang dapat menghasilkan pertunasan terbaik.

1.3.Tujuan dan kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genotipe dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D tertentu yang memberikan pengaruh pengkalusan terbaik, serta untuk mengetahui genotipe dan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP tertentu yang memberikan pengaruh pertunasan terbaik.

Penelitian ini diharapkan akan berguna sebagai bahan informasi bagi pihak yang membutuhkan serta sebagai bahan pembanding pada penelitian-penelitian

ya.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Padi Lokal

Padi lokal adalah varietas padi yang sudah lama beradaptasi pada daerah tertentu. Sehingga varietas tersebut mempunyai karakteristik spesifik lokasi di daerah tersebut. Namun demikian, setiap varietas padi lokal mempunyai keunggulan dan kelemahan (Hairmansis *et al.*, 2005).

Varietas padi yang tergolong *tropical Japonica* biasa juga disebut Javanika, merupakan varietas lokal Indonesia dengan jumlah lebih dari 8000 varietas. Varietas Javanika pada awalnya hanya ditemukan di Jawa, Bali dan daerah perbukitan Banaue, Filipina. Secara alami varietas lokal ini telah teruji ketahanannya terhadap berbagai cekaman lingkungan serta hama dan penyakit sehingga merupakan kumpulan sumberdaya genetik yang sangat bermanfaat. Kelemahan padi jenis ini yaitu memiliki umur yang panjang dan postur yang tinggi sehingga mudah rebah (Rizal, 2016).

Varietas lokal Indonesia pada umumnya mempunyai malai yang panjang, anakan sedikit, biji bulat dan susah rontok, daun lebar, fotoperiodisme, dan

amilosa intermediet. Padi lokal beradaptasi baik pada daerah dimana tersebut berasal, rasa nasi sesuai selera masyarakat setempat, dan mempunyai aroma spesifik. Sifat lainnya yaitu perakaran kuat dan dalam tetapi



tidak responsif terhadap pemberian pupuk, umur dalam, batang tinggi sehingga mudah rebah, dan produksi rendah. Pengadaan benih padi lokal biasanya mengandalkan hasil panen secara terus-menerus, dengan demikian mutu benih, terutama tingkat kemurniannya sangat rendah sehingga berpengaruh terhadap produksi. Akibat tingkat kemurnian benih yang rendah maka penampilan varietas padi lokal di lapangan pada umumnya masih beragam terutama terkait karakter tinggi tanaman, umur masak, bentuk dan warna gabah (Iskandar, 2011).

2.2. Kultur *In Vitro*

Kultur *in vitro* berasal dari kata ‘*culture*’ yang berarti budidaya dan ‘*vitrous*’ yang berarti transparan. Kultur *in vitro* dapat diartikan menumbuhkan sel, jaringan atau organ di dalam suatu wadah yang transparan hingga menjadi tanaman lengkap pada kondisi lingkungan yang terkontrol Karjadi dan Buchory (2008). Kultur *in vitro* merupakan teknik untuk menumbuh kembangkan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan ataupun organ dalam keadaan aseptik secara *in vitro*, yang ditandai dengan kondisi kultur aseptik, penggunaan media buatan yang mengandung nutrisi lengkap, zat pengatur tumbuh (ZPT) serta kondisi ruang kultur, suhu, dan pencahayaan yang terkontrol (Yusnita, 2004).

Kultur *in vitro* dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman. Dibanding dengan perbanyak tanaman secara konvensional, perbanyak secara kultur *in vitro* mempunyai beberapa keuntungan yaitu dapat diperoleh bahan tanaman dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril

dapat digunakan untuk memperbanyak selanjutnya, tidak memerlukan ruang luas, dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa tergantung musim, bibit dihasilkan lebih sehat. Sedangkan kekurangannya yaitu memerlukan biaya



besar, memerlukan keahlian khusus, dan memerlukan aklimatisasi ke lingkungan eksternal (Lestari dan Yunita, 2008).

Metode kultur *in vitro* memerlukan beberapa tahap yaitu (1) pembuatan media (2) inisiasi (3) sterilisasi (4) penanaman pada media untuk penggandaan atau multiplikasi (5) penanaman pada media untuk perakaran atau pembentukan plantlet, dan (6) aklimatisasi (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

Media tanam dasar yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* antara lain B5 (Gamborg), MS (Murashige dan Skoog), Vacin and Went, N6, masing-masing media dasar mengandung unsur hara makro dan mikro serta kandungan vitamin berbeda, sehingga masing-masing tanaman memberikan respon berbeda, namun demikian sebagian besar tanaman memberikan respon yang optimal apabila dibiakkan pada media dasar MS (Gaba, 2005).

Pemilihan sumber eksplan yang tepat akan menentukan keberhasilan dari perbanyakan secara *in vitro*. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif, karena mempunyai daya regenerasi yang tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih sehingga kecil kemungkinannya untuk terkontaminasi. Kalus yang baru terbentuk berpeluang menghasilkan tunas lebih tinggi dibandingkan kalus yang telah disubkultur berkali-kali dan telah mengalami perlakuan radiasi atau seleksi, karena kalus yang baru terbentuk, kandungan poliamin atau senyawa yang berperan dalam sistem regenerasi masih tinggi (Biswas *et al.*, 2002).



or-faktor lingkungan yang berpengaruh dalam kultur *in vitro* adalah: suhu, kelembaban dan pH media. Selama dalam kultur *in vitro* sel tidak melakukan fotosintesis secara efisien dan umumnya dalam

keadaan non autotrof. Meskipun seluruh kebutuhan energi untuk pertumbuhan secara *in vitro* sudah dipenuhi dari gula tetapi untuk menghasilkan plantlet hijau dengan daun normal diperlukan cahaya (Bowo *et al.*, 2007).

2.3. Induksi kalus

Kultur kalus merupakan pemeliharaan bagian kecil tanaman dalam lingkungan buatan yang steril dan kondisi yang terkontrol. Kalus adalah suatu kumpulan sel amorfous yang terjadi dari sel-sel jaringan yang berproliferasi secara terus menerus dan tidak terorganisasi sehingga memberikan penampilan sebagai massa sel yang tumbuh dengan bentuknya yang tidak teratur. Proliferasi jaringan ini dapat dilakukan secara tidak terbatas dengan cara melakukan subkultur sepotong jaringan kecil kalus pada medium yang segar dengan interval yang teratur (Aziz *et al.*, 2006).

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dari golongan auksin adalah asam indol asetat (IAA), Asam Naftalen Asetat (NAA), dan Dikhloropenoksi Asetat (2,4-D). Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang sering ditambahkan ke dalam media tanam kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin sintetis yang memiliki sifat lebih stabil dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh lainnya seperti IAA dan IBA, hal ini dikarenakan 2,4-D tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan sel atau oleh pemanasan pada saat proses

. Dosis yang tepat 2,4-D dapat menghasilkan pembelahan sel terus sehingga terbentuk sekumpulan sel yang tidak berdiferensiasi yang kalus (Lestari dan Yunita, 2008). Menurut penelitian Dewi *et al.* (2004),



pemberian 2,4-D pada eksplan tanaman gaharu dan padi dapat menghasilkan kalus yang embriogenik dengan bulatan-bulatan pada kalus berwarna kekuningan dan mengkilat.

Pengaruh rangsangan auksin terhadap jaringan tanaman berbeda-beda. Rangsangan yang paling kuat terutama terhadap sel-sel meristem apikal batang dan koleoptil. Pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik sel, meningkatkan sintesis protein, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel, sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Prakoeswa, 2009).

Kultur kalus dapat dikembangkan dengan menggunakan eksplan yang berasal dari berbagai sumber, misalnya tunas muda, daun, ujung akar, buah, dan bagian bunga. Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada eksplan melalui pembelahan sel-sel berulang. Kultur kalus tumbuh berkembang lebih lambat dibanding kultur yang berasal dari suspensi sel. Kalus terbentuk melalui tiga tahapan, yaitu induksi, pembelahan sel, dan diferensiasi (Yusuf, 2010).

Eksplan terbaik untuk induksi kalus adalah jaringan bagian-bagian semai yang dikecambahkan secara *in vitro*, jaringan yang mengandung parenkim tidak hijau, seperti parenkim empulur mempunyai respon yang lebih baik untuk dikaluskan. Ukuran eksplan juga penting untuk diperhatikan, idealnya ukuran

yang dikehendaki adalah yang kecil tetapi mempunyai kemampuan yang cukup untuk membelah, hal ini dimaksudkan agar diperoleh sel-sel yang relatif (Sulisyati dan Damria 2003).



Potensi terbesar penggunaan kultur kalus adalah dimana sel-sel kalus dapat dipisahkan dan diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi embrio somatik. Secara morfologi, embrio ini mirip dengan yang ada pada biji, tapi tidak seperti embrio biji, mereka secara genetik bersifat identik dengan tanaman tetua sehingga segregasi seksual materi genetik tidak terjadi. Karena 1 milimeter kalus berisi ribuan sel, masing-masing memiliki kemampuan untuk membentuk embrio, sehingga kecepatan multiplikasi sangat tinggi. Kultur kalus dapat dilakukan pada media cair dan embrio berkembang sebagai individu terpisah, sehingga penanganan kultur dapat relatif mudah (Yusuf, 2010).

Penggunaan 2,4-D untuk menginduksi munculnya kalus dari eksplan telah juga banyak dilakukan pada berbagai spesies tanaman, misalnya pada tanaman anggrek *Dendrobium* Jakarta molek, stevia (*Stevia rebaudiana*), anggur hijau (*Vitis vinifera* L.), padi (*Oryza sativa* L.). Hasil penelitian Ida (2016), menunjukkan bahwa Induksi kalus pada padi varietas Kalijira menggunakan 2,4-D dengan konsentrasi 1-4 mg L⁻¹ menunjukkan bahwa persentase kalus tertinggi terbentuk pada media dengan penambahan 2,4-D sebesar 1 mg L⁻¹ yaitu sebesar 91%. Persentase terbentuknya kalus terus menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi 2,4-D di dalam media. Selain itu kalus dari embrio padi juga berhasil diinduksi pada padi Hassavi menggunakan 2,4-D dengan konsentrasi 0,75 sampai 2,5 mg L⁻¹ (Al-khayri dan Al-Bahrany, 2000). Sedangkan Sah *et al* (2014), berhasil menginduksi kalus dari embrio padi Japonica cv. Kitaake dengan

akan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 3,0 mg AP dengan konsentrasi 0,25 mg L⁻¹.

Generasi Tunas



Regenerasi tunas dari eksplan kalus merupakan proses yang kompleks, banyak faktor yang mempengaruhi, antara lain genotipe tanaman, keseimbangan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin baik yang terdapat di luar maupun di dalam sel serta kondisi fisiologi kalus. Kalus yang masih segar mempunyai respon lebih baik dibandingkan dengan kalus yang telah disubkultur berkali-kali atau mengalami periode kultur yang panjang dan telah mengalami perlakuan radiasi atau seleksi, kerusakan pada kalus karena radiasi juga menurunkan kemampuan regenerasi eksplan (Lestari, 2011).

Menurut Prawinata *et al.* (1981), Zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenine*) adalah zat pengatur tumbuh yang termasuk ke dalam golongan sitokinin (Jati, 2013). ZPT sitokinin memainkan peranan dalam sebagian fase dari metabolisme asam nukleat atau metabolisme protein sehingga sitokinin penting dalam berbagai fase tumbuh dan perkembangan. Zat pengatur tumbuh golongan sitokinin adalah kinetin, Bensil Adenin (BA), Bensil Amino Purin (BAP). BAP adalah sitokinin yang sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya (Fitriyah, 2008). Menurut penelitian Purnamaningsih (2006), penambahan BA (*Benzyl Adenine*) 2 mg L^{-1} dan NAA (*Naftalene Asam Asetat*) $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ pada media agar MS dapat menghasilkan daya regenerasi kalus padi Taipei 309 sebesar 76-79% dan rata-rata jumlah tunas terbentuk 8,5 tunas.

