

INFLUENCE 2,4-D (*DICLOROPHENOXY ACETIC ACID*) AND BAP (*BENZYL AMINO PURINE*) TO CALLUS INDUCTION ON RICE PLANTS FIELDS

Syahmi Edi

Department of Biology FMIPA UNIMED Jl. Willem Iskandar, Pasar V, Medan 20221

Abstract

Research aims to get concentration 2,4-D (*Diclorophenoxy Acetic Acid*) and BAP (*Benzyl Amino Purine*) best to induction callus plant fields of origin Kabanjahe. Methods used to achieve these goals is induction method callus (Edi, 2004) modified by means of skinning rice seeds, here in after resterilize the seed, rice seeds that have been sterile isolated between embryos and endosperm. Then embryo transplanting on the basis of MS in the media (Murashige and Skoog, 1962). Plant growth regulators are used from group auxin is 2,4-D, where as type of cytokinin is BAP with some combination of plant growth regulator: 1) 2,4-D (1.0; 2.0; 3.0 mg/l) and 2) BAP (0.5; 1.0; 1.5 mg/l). Parameter measured in this research is: total (%) of explant form, callus weightlessness, callus diameter and performance (be made to see color, visual and nature calli the embryogenic with criterion: color callus yellowish white, nodule clear, not compact (friable) and present of green spot. To know the influence of the treatment of analysis and post hoc Duncan Multiple Range Test (DMRT) level of 5 % to know influence between the treatment variant used. Research results are: 1) concentration 2,4-D and BAP influential highly significant to the total (%) explant forming callus, weights and diameter callus, 2) concentration 2,4-D 2.0 mg/l and BAP 1.5 mg/l to get results to the total (%) explant forming calli the best, weights and diameter callus and 3) performance callus embryogenic contained in treatment 2,4-D 2.0 mg/l + BAP 1.5 mg/l namely color callus yellowish white with nodule clear, friable and the present of green spot.

Keywords: 2,4-D, BAP, callus, rice plants field

A. INTRODUCTION

Padi merupakan komoditas paling strategis dan dibutuhkan secara esensial dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Jumlah penduduk yang cukup besar dengan pertumbuhan sekitar 1,49 % per tahun dan pola konsumsi pangan yang masih sangat tergantung pada beras akan membawa kepada permintaan pangan dalam jumlah yang besar (Krisnamurthi, 2003).

Hal ini terbukti pada akhir tahun 2006 dan awal tahun 2007 Indonesia menghadapi masalah mendasar yaitu kurangnya persediaan beras nasional yang membawa konsekuensi naiknya harga beras. Salah satu penyebab utama rendahnya produksi padi di Indonesia adalah kurangnya air untuk pertanaman padi sawah (Berita Televisi Menteri Pertanian Anton Apriantono Minggu ketiga Februari 2007). Karena selama ini produksi padi di Indonesia didominasi oleh varietas padi sawah dan rendahnya produksi padi lahan kering (ladang, gogo, gogorancak). Penyebab rendahnya produksi padi lahan kering

adalah : 1) terbatasnya jumlah varietas padi unggul lahan kering sampai 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 Lubuk Pakam dan 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 di dua tempat ini dijadikan sebagai sumber eksplan dalam penelitian kultur jaringan (*in vitro*).

Kultur jaringan merupakan salah satu cara untuk mendapatkan varietas padi unggul lahan kering lebih cepat dan setiap jenis eksplan yang dikulturkan juga mempunyai respon yang berbeda terhadap lingkungan tempat tumbuh (Edi, 2004). Walaupun sudah banyak penelitian tentang padi, tetapi untuk jenis padi yang digunakan sebagai sumber eksplan pada penelitian ini belum ada dilakukan oleh peneliti lain. Penelitian awal yang sangat penting adalah induksi kalus dengan berbagai zat pengatur tumbuh (ZPT) sehingga didapatkan komposisi media yang optimal. ZPT yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan ini adalah auksin dan sitokinin. Auksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,4-D sedangkan untuk sitokinin digunakan BAP. Sehingga judul penelitiannya adalah : Pengaruh Pemberian 2,4-D (*Diclorophenoxy Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Induksi Kalus pada Tanaman Padi Ladang.

B. RESEARCH METHOD

Location and Time Research

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan. Penelitian telah dilakukan pada bulan Oktober sampai Desember 2015.

Material and Tool

Bahan yang akan digunakan berupa 2 macam varietas padi padi ladang asal Lubuk Pakam dan Kabanjahe (Gambar 1). Sebagai pembanding pada kultur *in vitro* digunakan T-309. Bahan kimia yang diperlukan sesuai dengan formula media Murashige dan Skoog (1962). Zat pengatur tumbuh yang digunakan meliputi : Auksin (2,4-D),

sitokinin (BAP). Bahan sterilisasi meliputi : deterjen, benlate, alkohol, sunklin dan akuades steril. Bahan untuk tutup botol kultur antara lain aluminium foil, plastik wrap dan karet gelang.

Alat yang akan digunakan sebagian besar berupa alat gelas standar seperti: botol kultur, erlemeyer, petridis, pipet isap, labu ukur, corong, saringan, timbangan analitik, autoklaf, pH meter, kompor listrik, oven, alat diseksi (pisau, pinset dan gunting), kotak pindah (laminar air flow cabinet), lampu spritus dan rak kultur.

Research Design

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).

Parameter

Parameter yang diamati meliputi : Jumlah (%) eksplan yang membentuk kalus, bobot kalus dilakukan dengan menimbang tumpukan sel kalus pada akhir percobaan, diameter kalus diukur dari ujung ke ujung dari tumpukan sel kalus yang bentuknya hampir menyerupai lingkaran, pengamatan visual dilakukan untuk melihat morfologi luar kalus yang meliputi : warna kalus, remah (friabel), nodul jelas, bening (transparan), serta spot hijau.

Working Procedure

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.

Make Media Culture

Dalam penelitian ini digunakan media padat dari Murashige & Skoog (1962) untuk menginduksi kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh 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.

Preparation Explant and Callus Induction

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 $(26 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ dan diberikan cahaya lampu TL 40 watt selama 16 jam per hari. Setelah satu 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.

Composisi Media Kultur

Komposisi media induksi kalus terdiri dari media MS (Murashige & Skoog, 1962) ditambah dengan 100 mg L^{-1} myoinositol; $0,5\text{ mg L}^{-1}$ asam nikotinat; $0,5\text{ mg L}^{-1}$ pyridoxin HC1; $0,1\text{ mg L}^{-1}$ tiamin HC1; 3 % sukrosa dan 0,25 % gelrite, auksin dan sitokinin (sesuai perlakuan).

Data Analysis

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

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis varians dan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5 % untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.

C. RESULTS AND DISCUSSES

Result

Setelah dilakukan penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan maka diperoleh hasil sebagai berikut.

Jumlah (Persentase) Eksplan Membentuk Kalus

Jumlah (persentase) eksplan membentuk kalus dapat dilihat pada tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 1. 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*) berpengaruh sangat nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus. Seperti terlihat pada tabel 4.2.

Tabel 2. Uji lanjut DNMR 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 4.2 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 dan analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata terhadap bobot akhir kalus pada taraf signifikan 1%. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 3. 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 4.3. 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 dan analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus terdapat pada tabel 4.4.

Tabel 4. 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 4.4. 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 DNMRT (lampiran 2), 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.

Pengamatan Visual

Pengamatan visual dilakukan untuk mengetahui keadaan kalus dari pengamatan pertama ke pengamatan selanjutnya akibat adanya pengaruh dari perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP. Pada akhir pengamatan didapatkan kalus yang embriogenik yang membentuk embrio dan selanjutnya bertunas apabila kalus disubkultur ke media regenerasi.

Warna Kalus

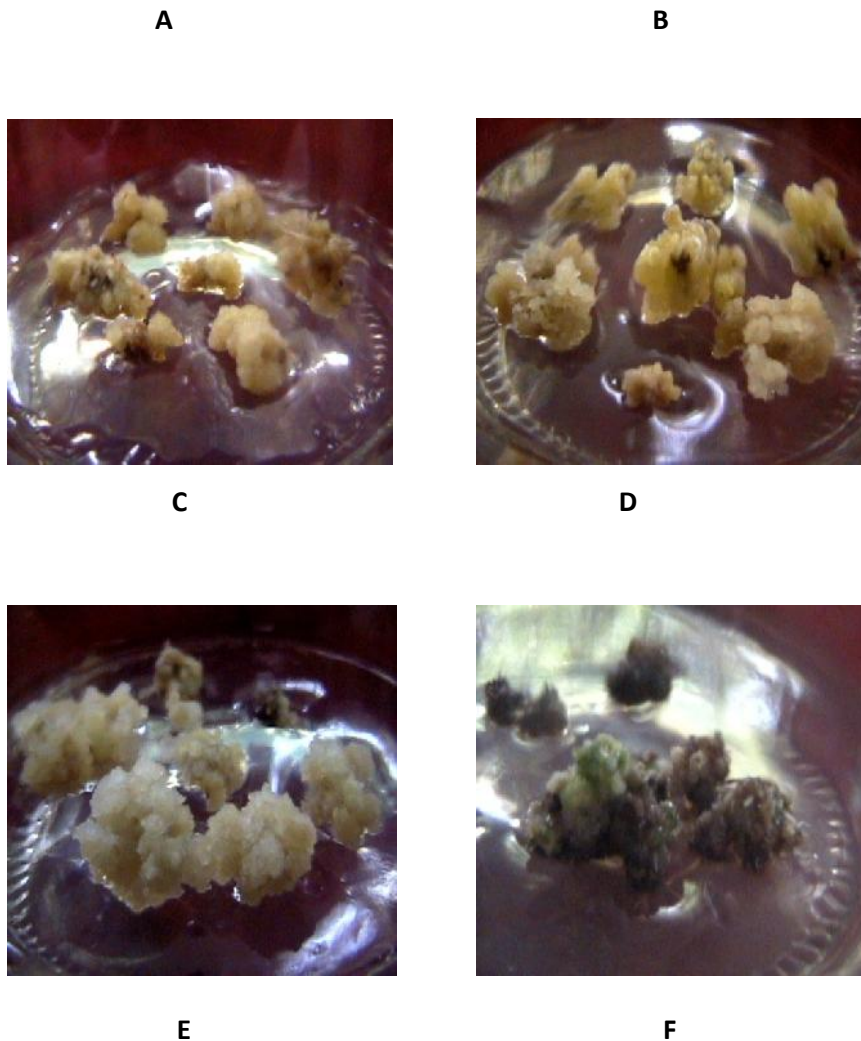
Struktur kalus pada umur 2 minggu umumnya kalus berwarna kuning (Gambar 1 A) pada setiap perlakuan, kecuali pada perlakuan A2B3 dan A3B3 berwarna putih kekuningan. Pengamatan umur 4 minggu, warna kalus pada umumnya sudah berubah dari kuning keputihan menjadi putih kekuningan (Gambar 1 E), kecuali pada perlakuan A1B3, A3B1 dan A3B2 tetap berwarna kuning keputihan (Gambar 2 D). Pada pengamatan umur 4 minggu sudah muncul spot hijau pada perlakuan A1B2, A2B2, A2B3 dan A3B2. Pengamatan umur 6 minggu, umumnya kalus berwarna kuning keputihan, kecuali pada perlakuan A2B2 dan A2B3. Spot hijau sudah terdapat pada hampir semua perlakuan, kecuali pada perlakuan A1B3, A2B1 dan A3B1.

Struktur Kalus

Struktur kalus pada umur 2 minggu umumnya kompak dan kompak tidak merata. Pada umur 4 minggu struktur kalus kompak, kecuali pada perlakuan A1B2, A2B3 dan A3B2 struktur kalus kompak tidak merata (Gambar 1 B). Umur 4 minggu struktur kalus renggang bertambah banyak yaitu pada perlakuan A2B2, A2B3 dan A3B2. Pengamatan umur 6 minggu, struktur kalus adalah freeable (Gambar 1 C), kecuali pada perlakuan A1B3 dan A2B1, struktur kalusnya kompak. *Sifat Kalus*

Pada pengamatan sifat kalus umur 2 minggu kalus sudah mengakar pada perlakuan A3B1. Pada umur 4 minggu sudah ada kalus yang hijau bertunas, yaitu pada perlakuan A2B2, A2B3, dan A1B2. Selanjutnya pada pengamatan kalus umur 6 minggu sudah ada kalus yang hijau bertunas (Gambar 1 F), kecuali pada perlakuan A3B1 dan A3B3 kalusnya mengakar. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 1 dibawah.





Gambar 1. (A) Kalus umur 2 minggu, (B) Kalus umur 4 minggu, (C) Kalus umur 6 minggu, (D) Kalus kuning keputihan, (E) Kalus putih kekuningan, (F) Kalus dengan spot hijau bertunas, (G) Kalus mengakar.

Discusses

Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus padi (Oryza sativa L.) ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

Hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D (Dichlorophenoxy Acetic Acid) berpengaruh sangat nyata pada induksi kalus padi Ladang Si Beru Tarigan, pada bobot kalus dan juga pada diameter kalus. Perlakuan 2,4-D berpengaruh sangat nyata terhadap pembentukan kalus eksplan. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.2. rata-rata 2,4-D yang paling tinggi terdapat pada A2 (2,4-D 2,0 mg/l) yaitu 9 eksplan (90%), berbeda nyata pada A1 dan A3. Ini diduga karena 2,4-D merupakan auksin yang berperan dalam mempengaruhi perpanjangan sel yang diikuti pembesaran sel-sel dan peningkatan volume sel. Ini juga dapat dilihat dari bobot akhir kalus 2,4-D yang paling tinggi terdapat pada A2 (2,4-D 2,0 mg/l) yaitu 0,43 g. Diameter kalus 2,4-D yang paling tinggi terdapat pada A2 (2,4-D 2,0 mg/l) yaitu 1,40 cm. Perlakuan 2,4-D juga berpengaruh sangat nyata dengan interaksi kedua perlakuan dan memberikan pengaruh yang sangat nyata. Hal ini ditegaskan oleh Gunawan (1992) bahwa ZPT 2,4-D sering digunakan untuk inisiasi kalus dan menurut Suryowinoto (1996) penggunaan 2,4-D biasanya diikuti penggunaan sitokinin.

Dari hasil yang didapat diduga konsentrasi 2,4-D 2,00 mg/l sudah mampu meningkatkan parameter yang diamati. Ini dapat dilihat dari semua rataan parameter yang diamati antara lain diameter kalus, bobot kalus dan persentase kalus yang terbentuk berbeda sangat nyata.

Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) adalah [senyawa kimia](#) yang banyak digunakan sebagai [herbisida](#) (pembunuh tanaman pengganggu atau [gulma](#)). Herbisida berbahan 2,4 D pertama kali digunakan pada tahun 1940 di [Amerika Serikat](#). Mekanisme kerja 2,4-D adalah menyebabkan [pembelahan sel](#) yang tidak terkendali di dalam [jaringan pembuluh \(vaskuler\)](#). Paparan senyawa 2,4-D pada jaringan tumbuhan akan menyebabkan produksi [etilen](#) meningkat dan perkembangan [dinding sel](#) tumbuhan menjadi abnormal.

2,4-D memiliki kecepatan perkecambahan benih dan perpanjangan akar pada konsentrasi tertentu. Hal ini disebabkan pada konsentrasi tersebut pembelahan sel bekerja secara optimum. Konsentrasi ZPT 2,4 D yang tepat akan memacu pembelahan sel. Selain pembelahan sel, pada konsentrasi tertentu terjadi peningkatan permeabilitas sel dan penyerapan air oleh benih sehingga cadangan makanan benih dapat dirombak untuk proses perkecambahan benih. Menurut Sutopo (2001) yang terkuip dalam Podesta dkk. (2008) pada waktu perkecambahan, cadangan makanan berupa karbohidrat, protein dan lemak dirombak dan ZPT berupa auksin dan giberelin berperan sebagai prekursor enzim sehingga mempercepat perkecambahan benih dan meningkatkan daya kecambah benih. Perkecambahan yang cepat ini memacu pertumbuhan akar yang cepat pula. Hal ini

disebabkan konsentrasi ZPT memacu pembelahan sel pada sumbu ujung akar embrio dan mendorong terbentuknya inisiasi akar.

Zat pengatur tumbuh 2,4-D (Diclorophenoxy Acetic Acid) merupakan jenis auksin yang sangat umum digunakan pada kultur jaringan dan berbagai jenis tanaman lainnya sebagai zat yang dapat menginduksi pembentukan kalus (George dan Sherington, 1983 dan Gunawan, 1992).

Pengamatan visual kalus terdapat kalus yang tetap berwarna kuning keputihan. Hal ini mungkin disebabkan karena pemakaian ZPT 2,4-D yang berlebih, dimana auksin ini merupakan auksin keras. Menurut Gunawan (1992) pemakaian 2,4-D dalam jumlah yang relatif tinggi dan pada masa kultur yang panjang akan mengakibatkan eksplan yang tidak dapat berkonjugasi sehingga mengalami keracunan.

Dari penelitian juga terdapat adanya rhizogenous (pengakaran) pada perlakuan A2B1, A3B1 dan A3B2. Akar terbentuk akibat kelebihan auksin. Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan bahwa pemberian auksin dengan kadar yang relatif tinggi differensiasi kalus cenderung kearah pembentukan primordial akar. Kalus yang memiliki akar rhizogenous biasanya susah menginduksi tunas.

Kalus pada perlakuan A1B3 dan A3B1 menghasilkan tunas berwarna hijau dan memiliki ukuran yang besar, namun kalus tersebut termasuk kalus yang rhizogenik yaitu kalus yang lebih cepat membentuk akar daripada tunas. Kemungkinan hal ini disebabkan karena ketidakseimbangan antara auksin dan sitokinin didalam eksplan sehingga eksplan lebih cepat membentuk akar daripada tunas, padahal tunas diperlukan untuk fotosintesis. Wattimena (1992) menyatakan bahwa morfogenesis tunas dan akar dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin. Nisbah auksin dan sitokinin yang tinggi akan mendorong morfogenesis akar sebaliknya nisbah auksin dan sitokinin yang rendah mendorong kearah pembentukan tunas.

Pengaruh BAP terhadap induksi kalus pada padi (Oryza sativa L.) ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

Perlakuan konsentrasi BAP berpengaruh sangat nyata terhadap induksi kalus, bobot dan diameter pada padi ladang Si Beru Tarigan. Interaksi kedua perlakuan 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata dalam menginduksi kalus, bobot kalus dan juga diameter kalus. Hal ini dapat dilihat pada tabel anava induksi kalus, pada bobot kalus dan juga pada diameter kalus.

Ini dilihat dari rata-rata induksi kalus BAP yang paling tinggi terdapat pada B2 (BAP 1,5 mg/l), yaitu 9 eksplan (90%) berbeda nyata dengan B1 dan B3. Bobot kalus BAP yang paling tinggi terdapat pada B3 (BAP 1,5 mg/l) yaitu 0,43 gr. Diameter kalus BAP yang

paling tinggi terdapat B3 (BAP 1,5 mg/l) yaitu 1,40 cm. Ini diduga karena BAP termasuk golongan sitokinin sintetik yang mendorong pembelahan sel dan merangsang perbanyakan tunas. BAP dapat merangsang pembelahan sel pada jaringan meristematis yang ditumbuhkan dalam media agar. Proses pembelahan sel oleh sitokinin tergantung dengan adanya hormon lain terutama auksin.

Penggunaan BAP dengan konsentrasi tinggi dan masa yang panjang seringkali menyebabkan differensiasi primordial batang dan tunas (Close dan Ludeman, 1987). BAP adalah golongan sitokinin sintetik yang berperan dalam mendorong pembelahan sel dan merangsang perbanyakan tunas.

Pengamatan visual terdapat kalus yang memiliki banyak spot hijau terdapat pada perlakuan A1B2, A2B3 dan A3B2. Ini mungkin disebabkan karena kelebihan sitokinin. Dimana spot hijau akhirnya merangsang pertumbuhan tunas. Menurut Yusnita (2003) dan Gunawan (1992) menyatakan bahwa jika dalam media tanam terdapat kelebihan sitokinin (BAP), maka akan terbentuk tunas. Hal ini juga dijelaskan oleh Abidin (1990) yang menyatakan perbandingan sitokinin lebih besar dari auksin akan memperlihatkan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun.

Pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus pada padi (Oryza sativa L.) ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

Hasil analisis menunjukkan bahwa interaksi 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata terhadap pembentukan bobot kalus, berpengaruh sangat nyata terhadap induksi kalus begitu juga terhadap diameter kalus.

Pada induksi kalus, perlakuan A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) menghasilkan induksi kalus tertinggi yaitu 9 eksplan (90%), sedangkan pada perlakuan A1B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) menghasilkan induksi kalus terendah yaitu 4 eksplan (40%).

Menurut Katuuk (1989) bahwa interaksi auksin dan sitokinin akan menyebabkan terjadinya perpanjangan dan perbesaran sel. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan 2,4-D dan BAP sebagai suatu interaksi akan menambah ukuran kalus, bobot dan induksi kalus.

Pada bobot kalus, interaksi 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata. Interaksi A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) merupakan bobot kalus tertinggi yang terbentuk yaitu 0,43 gr, sedangkan A1B3 (2,4-D 1,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) merupakan bobot kalus terendah yang terbentuk yaitu 0,25 gr.

Pada diameter kalus, interaksi 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata. Interaksi A2B3 (2,4-D 2,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) merupakan diameter kalus tertinggi yang

terbentuk yaitu 1,40 cm, sedangkan A1B3 (2,4-D 1,0 mg/l + BAP 1,5 mg/l) merupakan diameter kalus terendah yang terbentuk yaitu 0,50 cm. Hal ini tampak bahwa pertumbuhan dan morfogenesis *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan antara suplai zat pengatur tumbuh dalam media. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan 2,4-D dan BAP sebagai suatu interaksi akan menambah ukuran kalus.

Pada pengamatan visual terdapat kalus yang memiliki banyak spot hijau yaitu pada perlakuan A1B2, A2B3, A2B3 dan A3B2 yaitu kalus yang mudah memisah (*freeable*), warna kalus putih kekuningan dengan nodul-nodul yang jelas, dan adanya spot hijau. Kalus yang demikian disebut dengan kalus yang embriogenik, sesuai dengan pendapat Purnamaningsih dan Mariska (2005).

George dan Sherrington (1981) menyatakan salah satu mekanisme yang mengatur organogenesis adalah taraf auksin dan sitokinin. Hal ini juga berhubungan dengan adanya penyerapan eksplan terhadap zat hara yang terdapat dalam media.

D. CONCLUSION

(1) Concentration 2,4-D and BAP influential highly significant to the total (%) explant forming callus, weights and diameter callus, (2) concentration 2,4-D 2.0 mg/l and BAP 1.5 mg/l to get results to the total (%) explant forming calli the best, weights and diameter callus and (3) performance callus embryogenic contained in treatment 2,4-D 2.0 mg/l + BAP 1.5 mg/l namely color callus yellowish white with nodule clear, friable and the present of green spot.

E. ACKNOWLEDGEMENTS

Research Institutions and his officials have approve of my research to the Chairman Unimed.

F. REFERENCES

- Abidin. 1990. Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh Tanaman, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Ambarwati, A. D dan I. Hanarida. 1991. Kultur embrio muda tanaman padi cisadane. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balittan Bogor.
- Ancora, G. And A. Sonuino. 1987. *In Vitro* Induction of potato breeding agriculture and forestry 3. p. 408-424. In Y. P. S. Bajaj (*Ed.*). Springer Verlag. New York.
- Bayliss, M. W. 1980. Chromosomal variation in plant tissue culture. *Int. Rev. Cytol.* (Suppl) 11 A: 113-144.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture, Theory and Practice.* Elsevier Science Publishers. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo. 502p.
- Close, K.R. and L.A. Ludeman. 1987. The effect of auxin-like plant growth regulator and osmotic regulation on induction of somatic embryogenesis from elite maize inbreed, *Plant Sci. Bul.Agron.* (35) (1).

- D'Amato, F. 1978. Chromosome number variation in cultured cells and regenerated plants, p. 287-295. *In* T. A. Trope (Ed). *Frontiers of Plant Tissue Culture*. Calgary Univ. Press.
- 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.
- Edi, S. 2010. Uji cepat perkecambahan beberapa jenis padi yang berasal dari Kepulauan Nias terhadap Al dan pH rendah. SPP/DPP TW. III. Lembaga Penelitian UNIMED.
- 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.
- Hendaryono, D. dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Modern, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Jacobsen, E. 1987. Genetic diversity in protoplast and cell derived plants potato, p. 347-358. *In* Y. P. S. Bajaj (Ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Potato. Springer-Verlag. Berlin.
- Karama, A.S. dan A. Abdurachman. 1993. Optimasi pemanfaatan sumbar 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.
- Katuuk, J. P. R. 1989. Teknik Kultur Jaringan Dalam Mikroprodagasi Tanaman. Departemen P dan K, Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Direktorat, Jakarta.
- 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
- Larkin, P.J. and W.R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60 : 197-214.
- Linsmaier, E. M. and F. Skoog. 1965. Organic growth faktor requirements of tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.* 18:100-127.
- 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.
- Maftuchah, I. H. Slamet-Loedin dan H. Aswidinnor. 2000. Induksi tunas dari kalus embriogenik padi cisadane dalam berbagai konsentrasi IAA dan BAP. Kongres dan Seminar Nasional II PBPI 7 – 8 November 2000. Yogyakarta. Hal 80.

- 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.
- Nasir, M. 2002. Pengantar Pemuliaan Tanaman, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta.
- Purnamaningsih, R. dan I. Mariska. 2005. Seleksi *In Vitro* Tanaman Padi untuk Sifat Ketahanan Terhadap Aluminium, Balai Besar Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian, Bogor, Vol.10, No.2, pp.66-69 Diakses tanggal 14 Februari 2011.
- Reisch, O. 1983. Genetic variability in regenerated plants, p. 748-781. *In* D. A. Dian, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada (Eds.). *Handbook of Plant Cell Culture*. McMillan Co. Inc. New York. Vol. 1.
- Suryowinoto, M. 1996. Pemuliaan Tanaman secara *In Vitro*, Kanisius, Pusat Antar Universitas (PAU), Yogyakarta.
- Sutjahjo, S.H. 1994. Induksi Keragaman Somaklonal ke Arah Ketegangan terhadap Keracunan Aluminium pada Tanaman Jagung, Disertasi, Agronomi PPs, IPB Bogor.
- Wattimena, G. A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas. Bogor. 308 hlm.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan : Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien, Agromedia Pustaka, Jakarta.