

49



LAPORAN HASIL RESEARCH GRANT TAHUN 2011

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

Oleh :
Drs. Lazuardi, M.Si

Dibiayai oleh Dana PO Unimed SK Rektor No. 0486/UN33.1/KEP/2011
tanggal 30 Mei 2011

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
NOVEMBER 2011**

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN HASIL RESEARCH GRANT**

1. Judul	: Pengaruh Pemberian 2,4-D (Diclorophenoxy Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) terhadap Induksi Kalus pada Tanaman Padi Ladang
2. Payung/Tema Penelitian	: Pengembangan varietas tanaman unggul/ Pengembangan varietas padi dan jagung dengan rekayasa dan kultur jaringan
a. Nama Lengkap dan Gelar b. Pangkat, Golongan, NIP c. Jurusan/Fakultas d. Bidang Keahlian e. Alamat Rumah	: Drs. Lazuardi, M.Si : Penata Tk.I, III/d, 196004231989021001 : Biologi/MIPA : Biologi (PSL) : Jl. Mansyurdin, Gang Anggrek Merah III/2 Pasar IV Timur, Bandar Khalifah Medan : 081376844931 : lazuardilukman@yahoo.com
Nomor Telepon/HP E-mail	
4. Nama Anggota	: -
5. Nama Mahasiswa yang dilibatkan	: Mirna Elfera Manalu
6. Waktu Pelaksanaan	: Juni – November 2011
7. Biaya yang Diperlukan a. Sumber dari Unimed b. Sumber lain c. Jumlah	: Rp. 10.000.000,- Rp. – Rp. 10.000.000,-

Ketua Jurusan Biologi

Medan, November 2011

Ketua Peneliti,

Drs. Lazuardi, M.Si
NIP. 196004231989021001

Drs. Tri Harsono, M.Si
NIP. 196512311990031018

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian Unimed



Mengetahui
Prof. Drs. Motan, M.Sc., Ph.D
NIP. 195908051986011001

Dr. Ridwan, S.Si, M.Si
NIP. 196406101993031017

RINGKASAN

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.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmatNya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan membuat laporan hasil Research Grant Tahun 2011. Penelitian ini bertujuan untuk 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.

Selesainnya penelitian ini tidak lepas dari bantuan dan arahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada :

1. Bapak Rektor Universitas Negeri Medan yang telah menyetujui dan memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian.
2. Bapak Ketua beserta Staf Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan yang telah memproses secara baik, mulai dari pengajuan proposal sampai dengan penerimaan laporan hasil penelitian.
3. Bapak Dekan FMIPA Universitas Negeri Medan yang selalu memotivasi penulis mulai dari pembuatan proposal sampai penulisan laporan hasil penelitian.
4. Bapak Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan beserta jajarannya yang telah memberikan sarana dan prasarana penelitian sehingga penelitian ini dapat berjalan sebagaimana mestinya.

Akhirnya kepada semua pihak yang turut membantu dalam penelitian hingga penulisan laporan hasil penelitian, penulis sampaikan terima kasih. Semoga laporan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu biologi, khususnya bidang kultur jaringan tanaman.

Medan, November 2011

Penulis,

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
III. METODE PENELITIAN	8
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1. Jumlah benih yang tumbuh setelah sterilisasi	12
4.2. Rata-rata jumlah (%) eksplan membentuk kalus akibat pengaruh 2,4-D dan BAP pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)	13
4.3. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap eksplan membentuk kalus	14
4.4. Uji lanjut DNMRT 5% rata-rata jumlah eksplan yang dapat menginduksi kalus pada perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP	14
4.5. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus (g) pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)	16
4.6. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap bobot kalus	17
4.7. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap rata-rata bobot (g) kalus	18
4.8. Data pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus (cm) pada tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan)	19
4.9. Analisis varian pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap diameter kalus	20
4.10. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap rata-rata diameter kalus (cm)	21
4.11. Pengamatan visual kalus pada perlakuan 2,4-D dan BAP untuk tanaman padi ladang asal Kabanjahe (Si Beru Tarigan) umur 2,4 dan 6 minggu	23

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Bagan Alir Penelitian yang Sudah Dilaksanakan	11
2. (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	26

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Analisis Data Jumlah (%) Eksplan Membentuk Kalus 37



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

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, 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 podsilik merah kuning (Karama dan Abdurachman, 1993).

Langkah awal untuk mengatasi masalah tersebut adalah mencari plasma nutrifah lokal yang dapat dijadikan sebagai sumber eksplan untuk membuat varietas padi unggul lahan kering lebih banyak. Hasil observasi di Kabupaten 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 podsilik merah kuning (cekaman Al dan pH rendah). Jenis padi ladang 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. Zat pengatur tumbuh yang paling banyak digunakan dalam dalam kultur jaringan ini adalah auksin dan sitokin. Auksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,4-D sedangkan untuk sitokin digunakan BAP. Sehingga judul penelitian adalah : Pengaruh Pemberian 2,4-D (Diclorophenoxy Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) terhadap Induksi Kalus pada Tanaman Padi Ladang.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ada pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus secara *in vitro* pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*) ?
2. Apakah ada pengaruh BAP terhadap induksi kalus secara *in vitro* pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*) ?
3. Apakah ada pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus secara *in vitro* pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*) ?

1.3. Tujuan Penelitian

Dari latar belakang dan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan komposisi media kultur *in vitro* terbaik untuk menginduksi kalus secara *in vitro* menggunakan 2,4-D pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*)
2. Memperoleh komposisi media kultur *in vitro* terbaik untuk menginduksi kalus secara *in vitro* menggunakan BAP pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*)
3. Mendapatkan komposisi media kultur *in vitro* terbaik untuk menginduksi kalus secara *in vitro* menggunakan 2,4-D dan BAP pada tanaman padi (*Oryza sativa L.*)

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Digunakan sebagai dasar/pijakan untuk penelitian selanjutnya dalam bidang pemuliaan tanaman untuk mendapat keragaman somaklonal.
2. Metode yang dihasil dari penelitian ini dapat digunakan pada tanaman yang sejenis sebagai titik awal untuk memodifikasi komposisi media yang terbaik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Kajian Pustaka yang relevan dengan judul penelitian sangat penting dilakukan guna melihat apa saja yang telah dilaksanakan dan kelemahan (kekurangan) apa saja yang didapati serta masalah apa yang belum terselesaikan. Hal ini dapat dijadikan landasan untuk penelitian yang sedang diajukan. Berikut ini beberapa penelitian tentang pengaruh beberapa media dasar dan zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan dan regenerasi kalus melalui kultur *in vitro*.

2.1. Media Dasar

Media dasar adalah media kultur yang mengandung hara esensial (makro dan mikro), sumber energi dan vitamin (Gunawan, 1992). Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan pembibitan 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 Fl 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.

2.2. Zat Pengatur Tumbuh

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 auksi 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 (IAA, NAA, dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP, zeatin dan ibidiazuron) 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 kesimbangan antara suplai zat pengatur tumbuh dalam media dan yang diproduksi secara endogen oleh sel-sel yang dikultur.

Beberapa penelitian pendahuluan yang telah dilaksanakan pada tanaman padi adalah : (a) induksi tunas dari kalus embrionik padi cisadane dalam berbagai

konsentrasi IAA dan BAP. Dari hasil penelitian didapatkan konsentrasi IAA 0,1 mg/l dan BAP 0,7 mg/l memberikan persentase kalus bertunas yang tertinggi yaitu 16,67 % (Maftuchah, Slamet-Loedin dan Aswidinnor, 2000), (b) variasi somaklonal padi indika dan javanika. Dari hasil penelitian didapatkan varietas kapuas dapat menghasilkan planlet walaupun dengan persentase yang rendah yaitu pada media BAP 1 mg/l + NAA 0,5 mg/l (Masyhudi dan Ambarwati, 1993). Dari hasil penelitian tersebut terlihat bahwa setiap varietas mempunyai respon yang berbeda terhadap zat pengatur tumbuh yang digunakan serta rendahnya persentase pertumbuhan dan regenerasi kalus menjadi planlet, sehingga perlu dicari metode baru untuk meningkatkan keberhasilan tersebut.

2.3. Kultur Jaringan (Kultur *In Vitro*)

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, skelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan berregenerasi menjadi tanaman utuh kembali (Bhojwani dan Razdan, 1983). Pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman secara *in vitro* ditentukan oleh beberapa faktor kompleks di antaranya : (1) susunan genetik dari spesies tanaman, (2) nutrisi, (3) faktor-faktor pertumbuhan fisik, (4) beberapa senyawa organik seperti zat pengatur tumbuh, vitamin dan sebagainya.

Metode kultur jaringan selain menghasilkan propagula yang bermutu, juga dapat menghasilkan keragaman somaklonal yang dapat dipergunakan dalam pemuliaan tanaman secara *in vitro*. Keragaman somaklonal tanaman didefinisikan sebagai karagaman genetik dari tanaman yang dihasilkan melalui kultur jaringan (Larkin dan Scowcroft, 1981).

Keragaman somaklonal yang dihasilkan dari penerapan teknik kultur jaringan dalam budidaya tanaman, merupakan suatu bukti bahwa melalui perbanyak secara vegetatif terdapat kemungkinan diperoleh individu baru yang tidak seperti induknya. Dua keuntungan dari perubahan kromosom yang diperoleh melalui keragaman somaklonal yaitu : (1) keragaman yang diperoleh kemungkinan tidak akan diperoleh pada *genepool* yang ada, (2) perubahan beberapa sifat yang akan memperbaiki penampilan. Melalui teknik kultur jaringan terdapat dua hal yang berbeda

kepentingannya bagi pemulihan tanaman yaitu mempertahankan kestabilan genotipe dan merangsang keragaman genetik. Kestabilan genotipe dapat dicapai dengan mendorong sesingkat mungkin fase pertumbuhan tak berdiferensiasi (fase kalus, sel bebas), sedangkan keragaman genetik dapat dicapai pada fase tak berdiferensiasi yang relatif panjang. Sejumlah mutan diduga dapat terbentuk pada fase kalus dan sel bebas, dari sini dapat diseleksi turunan yang sangat berguna bagi pemuliharaan tanaman. Oleh karena itu dari hasil kultur jaringan dapat diseleksi genotipe yang berguna bagi pemuliharaan tanaman seperti sifat-sifat tahan penyakit, toleransi terhadap salinitas dan ion-ion yang meracuni tanaman (seperti Al, Mn, Pb, Fe), kekeringan serta herbisida (Gunawan, 1992).

Pada kultur jaringan keadaan eksplan dan keseimbangan zat pengatur tumbuh dalam media dapat mempengaruhi kestabilan genetik materi kultur (Ancora dan Sonuino, 1987). Menurut D'Amoto (1978) dan Bayliss (1980) kultur jaringan merupakan sumber potensial untuk mendapatkan keragaman, yaitu dengan cara mengatur komposisi media, keseimbangan zat pengatur tumbuh, dan lama mengkulturkan. Terdapat tiga cara memperoleh keragaman somaklonal dari eksplan yang telah berhasil dikerjakan yaitu : (1) eksplan yang beregenerasi langsung membentuk tunas dan akar, (2) menginduksi kalus terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan penanaman sel tunggal, dan (3) kultur protoplasma (Jacobsen, 1987).

Reisch (1983) mengungkapkan bahwa kultur kalus dapat menghasilkan keragaman somaklonal. Keragaman ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan mutagen. Mutagen yang digunakan dapat berupa mutagen fisik seperti sinar-x dan sinar gamma, maupun mutagen kimia dapat berupa bahan kimia antara lain etil metan sulfonat (EMS), dietil sulfat (DES) dan nitroso metil urea (NMU) (Ancora dan Sonuino, 1987).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan. Penelitian dimulai bulan Juni sampai November 2011.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang akan digunakan berupa 1 macam varietas padi padi ladang asal Kabanjahe (Gambar 1). Bahan kimia yang diperlukan sesuai dengan formula media Murashige & 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 (taminar air flow cabinet), lampu spritus dan rak kultur.

3.3. Desain (Rancangan) 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 BA : 0,5; 1,0; 1,5 mg/l

Terdapat 9 (3×3) kombinasi perlakuan, dengan ulangan 3 kali (botol kultur) untuk setiap kombinasi perlakuan. Setiap botol kultur berisi 10 buah eksplan (embrio).

3.4. Pengamatan

Peubah yang diamati meliputi :

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

3.5. Prosedur Percobaan

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.

3.5.1. Pembuatan Media Kultur

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 diautokaf 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.

3.5.2. Penyiapan Eksplan dan Induksi Kalus

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 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.

3.6. Komposisi 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).

3.7. Analisis Data

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

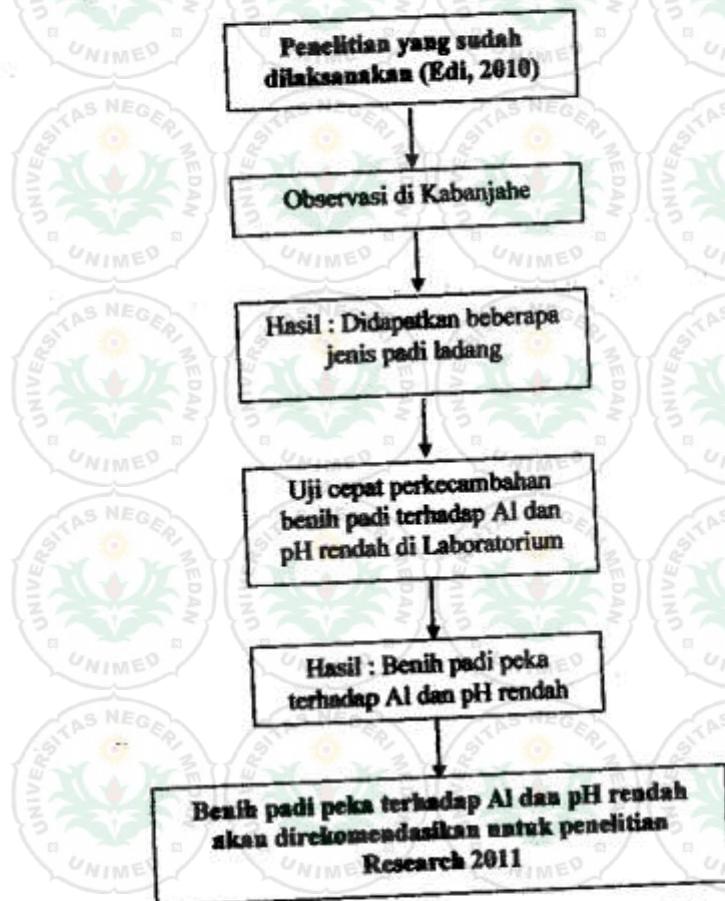
ϵ_{ijk} = error pada α ke-i, β ke-j, dan ulangan ke-k

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

3.8. Indikator Keberhasilan Penelitian

Adapun indikator keberhasilan yang dicapai dari penelitian ini adalah :

1. Memperoleh kalus dengan pertumbuhan dan pembelahan sel cepat yang terindikasi pada diameter kalus, bobot kalus yang tinggi.
2. Mendapatkan kalus embriogenik dengan kriteria : Warna kalus putih kekuningan, bening, nodul jeins, tidak kompak (freabel) dan adanya spot hijau.



Gambar 1. Bagan Alir Penelitian yang Sudah Dilaksanakan

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

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

4.1.1. Persentase Biji yang Steril

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 $HgCl_2$ 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	Perubahan/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 = $HgCl_2$ 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 = $HgCl_2$ 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 = $HgCl_2$ 0,2 % selama 2 menit.

Dari tabel 4.1. dapat dilihat perbandingan sterilisasi dengan menggunakan bayclin (30%, 20% dan 10%) dan dilanjutkan dengan penggunaan $HgCl_2$ 2% 0,1 dan 2. Dari tabel di atas dapat dihitung persentase biji yang steril dan tumbuh dari semua biji yang dikulturkan adalah :

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

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

$$= 27,78$$

4.1.2. 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 :

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

Jumlah semua eksplan

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

270

$$= 68,88 \%$$

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 tabel	
					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 def	6,00 bc
B2	8,00 cfg	8,33 fg	7,67 def
B3	4,00 a	9,00 g	5,00 ab

Keterangan : Angka-angka yang dilikuti 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 berbeda 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 menunjukan 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.

4.1.3. 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.	Perikanan 2,4-D dan BAP (mg/l)	Bobot kalus/ulangan (bobot)/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
		0,96	0,90	0,93
		Rataan	0,32	0,30
		Total	0,37	0,40
2.	2,4-D1,0 + BAP1,0	0,39	0,38	0,36
		0,38	0,39	0,38
		1,14	1,17	1,11
		Rataan	0,38	0,39
		Total	0,24	0,29
		Rataan	0,26	0,25
3.	2,4-D1,0 + BAP1,5	0,25	0,27	0,23
		0,75	0,81	0,69
		Rataan	0,25	0,27
		Total	0,32	0,30
		Rataan	0,34	0,34
		Total	0,36	0,32
4.	2,4-D2,0 + BAP0,5	1,02	0,96	0,99
		Rataan	0,34	0,32
		Total	0,40	0,38
		Rataan	0,41	0,39
		Total	0,39	0,40
		Rataan	1,20	1,17
5.	2,4-D2,0 + BAP1,0	1,14	1,17	1,14
		Rataan	0,40	0,39
		Total	0,40	0,38
		Rataan	0,39	0,37
		Total	0,40	0,38
		Rataan	0,40	0,38
6.	2,4-D2,0 + BAP1,5	1,29	1,23	1,35
		Rataan	0,43	0,41
		Total	0,45	0,41
		Rataan	0,41	0,42
		Total	0,43	0,40
		Rataan	0,43	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
		0,84	0,90	0,96
		Rataan	0,28	0,30
		Total	0,28	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	
		1,05	1,08	1,02	
Total		0,35	0,36	0,34	
Rataan		0,28	0,29	0,28	
9.	2,4-D3,0 + BAP1,5	0,30	0,27	0,26	
		0,29	0,28	0,27	
		0,87	0,84	0,81	
		0,29	0,28	0,27	

Analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan koncentrasi 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 dilukiskan 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).

4.1.4. 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.	Perikanan 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
		3,0	2,7	2,4
		1,1	1,4	1,2
		1,4	1,3	1,0
		1,2	0,9	1,5
2.	2,4-D1,0 + BAP1,0	1,3	1,1	1,1
		3,9	3,3	3,6
		1,3	1,1	1,2
		0,4	0,5	0,6
		0,3	0,7	0,4
		0,5	0,6	0,5
		1,2	1,8	1,5
3.	2,4-D1,0 + BAP1,5	0,4	0,6	0,5
		1,2	1,8	1,5
		0,4	0,6	0,5
		1,0	0,9	0,9
		0,9	1,0	1,0
		1,1	1,4	0,8
		3,0	3,3	2,7
4.	2,4-D2,0 + BAP0,5	1,0	1,1	0,9
		1,0	1,1	0,9
		1,4	1,3	1,3
		1,2	1,5	1,2
		1,3	1,4	1,1
		3,9	4,2	3,6
		1,3	1,4	1,2
5.	2,4-D2,0 + BAP1,0	1,5	1,4	1,4
		1,3	1,2	1,6
		1,4	1,3	1,5
		4,2	3,9	4,5
		1,4	1,3	1,5
		1,3	1,4	1,1
		3,9	4,2	3,6
6.	2,4-D2,0 + BAP1,5	1,3	1,2	1,6
		1,4	1,3	1,5
		4,2	3,9	4,5
		1,4	1,3	1,5
		1,5	1,4	1,4
		1,3	1,2	1,6
		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
		2,4	2,7	2,1
		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
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
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 tabel	
					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 cf
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 DNMRT (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.

4.1.5. 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. Keadaan kalus dapat diamati melalui warna, struktur dan sifat kalus pada tabel 4.11.

4.1.5.1 Warna Kalus

Struktur kalus pada umur 2 minggu umumnya kalus berwarna kuning (Gambar 4.2 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 4.2 E), kecuali pada perlakuan A1B3, A3B1 dan A3B2 tetap berwarna kuning keputihan (Gambar 4.2 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.

4.1.5.2 Struktur Kales

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 4.2 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 4.2 C), kecuali pada perlakuan A1B3 dan A2B1, struktur kalusnya kompak.

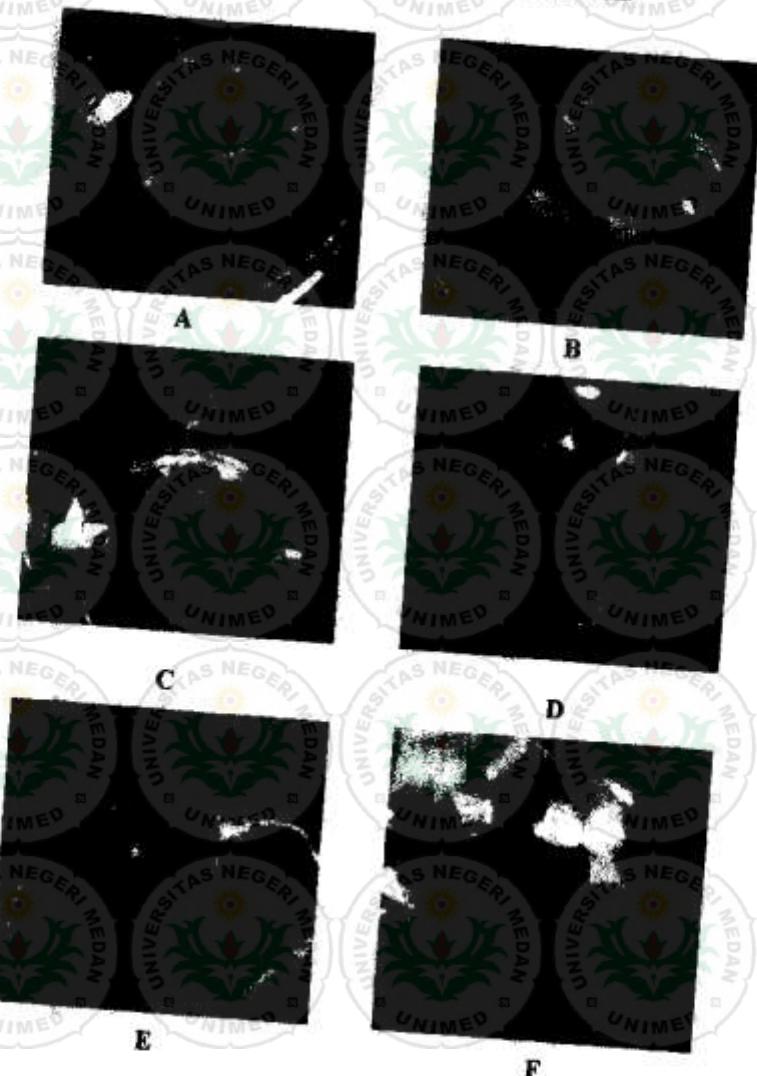
Tabel 4.11. Pengamatan visual kalus pada perlakuan 2,4-D dan BAP untuk tanaman padi ladang asal Kabupaten Si Beru Tarigan
umur 2,4 dan 6 minggu

No	Perlakuan	Ulangan	Visualisasi Kalus												Macam (Spesialisasi)								
			Warna			Putih Kekuningan			Putih dengan Spot Hijau			Kompak			Kompak Tidak Merata			Renggang (freeable)			Mengakar (Rhizogenous)		
			2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
1	A1B1	1	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		2	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
		3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
2	A1B2	1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
		2	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
		3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
3	A1B3	1	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		2	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		3	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
4	A2B1	1	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		2	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
5	A2B2	1	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		2	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
		3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

No	Perlakuan	Ujangan	Visualisasi Kalus												Macam (Spesialitas)		
			Warna				Putih dengan Spot Hijau				Kompak		Kompak Tidak Merata		Renggang (freeable)	Mengakar (Rhizogenous)	
2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
6	A2B3	1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
7	A3B1	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	A3B2	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	A3B3	1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.1.5.3. Sifat Kalus

Pada pengamatan sifat kalus umur 2 minggu kalus sudah mengakar (Gambar 4.2 G), 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 4.2 F), kecuali pada perlakuan A3B1 dan A3B3 kalusnya mengakar. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 4.2 berikut ini.





Gambar 2 : (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.

4.2. Pembahasan

4.2.1. Persentase Biji Steril

Dari hasil penelitian yang diuraikan pada Tabel 4.1. dapat diketahui bahwa sterilisasi benih merupakan faktor utama dalam induksi kalus. Kalus dapat terbentuk dari tanaman yang tumbuh dalam kondisi aseptik dengan permukaan biji yang disterilisasi untuk mengurangi permasalahan kontaminasi mikroorganisme (Nasir, 2002).

Pada Tabel 4.1. terlihat bahwa bayclin dengan konsentrasi 30%, 20% dan 10% dan pemakaiannya berturut-turut dan dilanjutkan dengan perendaman $HgCl_2$ 2% berturut-turut 0, 1 dan 2 menit masih menghasilkan kontaminasi namun dengan jumlah persen yang berbeda. Menurut Yusnita (2003) hal yang paling penting dalam sterilisasi eksplan adalah mengutamakan antara usaha mendapatkan eksplan yang steril dan menjaga jaringan eksplan tidak rusak akibat tingginya konsentrasi desinfektan. Dalam sterilisasi juga perlu diperhatikan bahwa sel tanaman dan kontaminan adalah sama-sama benda hidup. Kontaminan harus dihilangkan tanpa mematikan sel tanaman.

$HgCl_2$ 2% merupakan bahan kimia yang bersifat racun dan penggunaannya relatif lebih pendek dari bayclin. Bila sterilisasi terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan eksplan (berwarna coklat) sehingga eksplan tidak dapat

tumbuh (Hendrayono dan Wijayani, 1994). $HgCl_2$ 2% (merkuri klorida) sering digunakan sebagai bahan sterilisasi eksplan yang berfungsi menghilangkan mikroorganisme pada permukaan eksplan. Sedangkan penggunaan bayclin digunakan untuk menghasilkan sterilisasi yang efektif.

4.2.2. 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 aktsin 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 terkutip dalam Podesta dkk. (2008) pada waktu perkecambahan, cadangan makanan berupa karbohidrat, protein dan lemak dirombak dan ZPT berupa auksin dan giberelin berperan sebagai prekusor enzim sehingga mempercepat perkecambahan benih dan meningkatkan daya kecambahan 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.

4.2.3. 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 analisa induksi kalus, pada bobot kalus dan juga pada diameter kalus.

Ini dilihat dari rataan 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 perbanyak 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 perbanyak 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 memperlakukan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun.

4.2.4. Pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus pada padi (*Oryza sativa L.*) ladang asal Kabanjahe (St 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 menunjukan 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 auxin dan sitokinin. Hal ini juga berhubungan dengan adanya penyerapan eksplan terhadap zat hara yang terdapat dalam media.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

1.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

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 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.

1.2. Saran

1. Perlu dilanjutkan penelitian ini untuk meregenerasikan kalus menjadi planlet pada berbagai media regenerasi.
2. Membuat kombinasi zat pengatur tumbuh lebih beragam, sehingga induksi kalus lebih maksimum.

DAFTAR PUSTAKA

- 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 inbread, 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 Ketengggungan 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 perkembahan 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 Perbanyakan 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 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.
- 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. Somatic 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 *Kalmia 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 Jenderal 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 PP, 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.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Data Jumlah (%) Eksplan Membentuk Kalus

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.	Perilaku 2,4-D dan BAP (mg/l)	Jumlah (%) kalus/uang			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
Total					186 (68,88)	-

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FK} &= \frac{\sum_{ij} y_{ij}^2}{r.b} \\
 &= \frac{(186)^2}{3.3.3} \\
 &= \frac{34596}{27} \\
 &= 1281,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JKT} &= \sum_{ij} y_{ij}^2 - FK \\
 &= (7^2 + 8^2 + 3^2 + \dots + 4^2) - 1281,33 \\
 &= 1352 - 1281,33 \\
 &= 70,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKA} &= \frac{\sum_{ij} (ai)^2 - FK}{r.b} \\
 &= \frac{(56^2 + 74^2 + 56^2)}{3.3} - 1281,33 \\
 &= \frac{(3136 + 5476 + 3136)}{9} - 1281,33 \\
 &= 1305,33 - 1281,33 \\
 &= 24
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JKB} &= \frac{\sum_{i=1}^r (bi)^2 - FK}{r.b} \\
 &= \frac{(60^2 + 72^2 + 54^2)}{3.3} - 1281,33 \\
 &= \frac{(3600 + 5184 + 2916)}{9} - 1281,33 \\
 &\approx 1300 - 1281,33 \\
 &= 18,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ JKP} &= \sum_{i=1}^r \frac{y_i^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(20^2 + 24^2 + 12^2 + \dots + 15^2)}{3} - 1281,33 \\
 &\approx \frac{4036}{3} - 1281,33 \\
 &= 1345,33 - 1281,33 \\
 &= 64,00
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ JK(AB)} &= \text{JKP} - (\text{JKA} + \text{JKB}) \\
 &= 64 - (24 + 18,67) \\
 &= 64 - 42,67 \\
 &= 21,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 70,67 - 64,00 \\
 &= 6,67
 \end{aligned}$$

Derajat kebebasan

$$A = a - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$B = b - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$AB = (a - 1)(b - 1) = (3 - 1)(3 - 1) = 4$$

$$\text{Galat} = a.b(r - 1) = 3.3(3 - 1) = 18$$

$$\text{Perikuan} = (a.b - 1) = (3.3 - 1) = 8$$

Kuadrat Nilai Tengah

$$\begin{aligned}
 1. \text{ KTP} &= \frac{\text{JKP}}{(a.b - 1)} \\
 &= \frac{64}{8} \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$2. KTA = \frac{JKA}{a-1}$$

$$= \frac{24}{2}$$

$$= 12$$

$$3. KTB = \frac{JKB}{b-1}$$

$$= \frac{18,67}{2}$$

$$= 9,33$$

$$4. KT(AB) = \frac{JK(AB)}{(a-1)(b-1)}$$

$$= \frac{21,33}{(3-1)(3-1)}$$

$$= 5,33$$

$$5. KTG = \frac{JKG}{ab(r-1)}$$

$$= \frac{6,67}{3 \cdot (3-1)}$$

$$= 0,37$$

F Hitung

1. F.hit Perlakuan

$$= \frac{KTP}{KTG}$$

$$= \frac{8}{0,37}$$

$$= 21,62$$

2. F.hit Aed

$$= \frac{KTA}{KTG}$$

$$= \frac{12}{0,37}$$

$$= 32,43$$

3. F.hit B

$$= \frac{KTB}{KTG}$$

$$= \frac{9,33}{0,37}$$

$$= 25,21$$

4. F.hit (AB)

$$= \frac{KT(AB)}{KTG}$$

$$= \frac{5,33}{0,37}$$

$$= 14,40$$

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

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					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

Uji lanjut induksi kalus

Uji lanjut memakai uji Duncan Multiple Range Test

$$Rp = q \cdot a^1 \cdot sy^- \quad a^1 = 1 - (1 - a)^{p-1}$$

$$p = 2,3, \dots, t$$

$$Sy^- = \sqrt{\frac{KTerror}{r}} = \sqrt{\frac{0,3706}{3}} = \sqrt{0,1235} = 0,35$$

P	2	3	4	5	6	7	8	9
q (9,18)	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,35	3,37	3,39
Rp	1,0395	1,092	1,1235	1,1445	1,162	1,1725	1,1795	1,1865

Tabel 3. Perbedaan rata-rata antara perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap jumlah (%) eksplan membentuk kalus pada ladang asai
 Kabanjahe (Si Beru Tarigan)

PERLAKUAN NOMOR	RATAAN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	LSR %	NOTASI
3	4,00	—									—	a
9	5,00	1,00	—								1,04	ab
7	6,00	2,00*	1,00	—							1,09	bc
1	6,67	2,67*	1,67*	0,67	—						1,12	cd
4	7,30	3,30*	2,30*	1,30*	0,63	—					1,14	de
8	7,67	3,70*	2,70*	1,67*	1,00	0,37	—				1,16	de
2	8,00	4,00*	3,00*	2,00*	1,33*	0,70	0,33	—			1,17	ef
5	8,33	4,33*	3,33*	2,33*	1,66*	1,03	0,66	0,33	—		1,18	ef
6	9,00	5,00*	4,00*	3,00*	2,33*	1,70*	1,33*	1,00	0,67	—	1,19	f

KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
(STATE UNIVERSITY OF MEDAN)
LEMBAGA PENELITIAN
(RESEARCH INSTITUTE)

Jl. W. Iskandar Pto. V-kota Ptu No.1589 Medan 20221 Telp. (061) 6636757, Fax. (061) 6636757, alam (061) 6613365 Psw 228, E-mail:
Penitrian Unimed@yahoo.com - penitrian.unimed@gmail.com

SURAT PERJANJIAN PENGGUNAAN DANA (SP2D)
No.: 100 /UN33.8/PL/2011

Pada hari ini Rabu tanggal delapan bulan Juni tahun dua ribu sebelas, kami yang bertanda tangan di bawah ini:

1. Dr. Ridwan Abd. Sani, M.Si : Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan, dan atas nama Rektor Unimed, dan dalam perjanjian ini disebut PIHAK PERTAMA
2. Drs. Lazuardi, M. Si : Dosen FMIPA bertindak sebagai Peneliti/Ketua pelaksana Research Grant, selanjutnya disebut PIHAK KEDUA

Kedua belah pihak secara bersama-sama telah sepakat mengadakan Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) untuk melakukan kegiatan penelitian Research/Teaching Grant sebagai berikut :

Pasal 1

Berdasarkan PO Unimed dan SK Rektor Nomor : 0486/UN33.I/KEP/2011 tanggal 30 Mei 2011, tentang kegiatan Penelitian Research/Teaching Grant, PIHAK PERTAMA memberi tugas kepada PIHAK KEDUA dan PIHAK KEDUA menerima tugas tersebut untuk melaksanakan/mengkoordinasikan pelaksanaan kegiatan Research/Teaching Grant berjudul :

"**Pengaruh Pemberian 2,4-D (Diclorophenoxy Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) Terhadap Induksi Kalus pada Tanaman Padi Ladang"**

yang berada di bawah tanggung jawab/yang diketahui oleh : PIHAK KEDUA dengan masa kerja 5 (lima) bulan, terhitung sejak diterbitkannya SP2D ini ditandatangani.

Pasal 2

- PIHAK PERTAMA memberikan dana penelitian tersebut pada Pasal 1 sebesar Rp. 10.000.000,- (Sepuluh Juta Rupiah), secara bertahap.
- Tahap pertama sebesar 40% yaitu Rp. 4.000.000,- (Empat Juta Rupiah) dibayarkan sewaktu Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) ini ditandatangani oleh kedua belah pihak.
- Tahap kedua sebesar 30% yaitu Rp. 3.000.000,- (Tiga Juta Rupiah) dibayarkan setelah PIHAK KEDUA menyerahkan laporan kemajuan Research/Teaching Grant dan laporan penggunaan dana kepada PIHAK PERTAMA.
- Tahap ketiga sebesar 30% yaitu Rp. 3.000.000,- (Tiga Juta Rupiah) dibayarkan setelah PIHAK KEDUA menyerahkan laporan hasil Research/Teaching Grant kepada PIHAK PERTAMA.
- PIHAK KEDUA dikenakan pajak (PPH) sebesar 15% dari jumlah dana kegiatan yang diterima dan disetorkan ke kas negara.
- Biaya material untuk SP2D dan kuianansi yang berkaitan dengan administrasi kegiatan ditanggung oleh PIHAK KEDUA

Pasal 3

- PIHAK KEDUA mengajukan/menyerahkan rincian anggaran biaya (RAB) pelaksanaan kegiatan sesuai dengan besarnya dana penelitian yang telah disetujui.
- Semua kewajiban yang berkaitan dengan pengelolaan keuangan dan aset Negara termasuk kewajiban membayar dan menyertorkan pajak dibebankan kepada PIHAK KEDUA.

- Pasal 4

- PIHAK KEDUA harus menyelesaikan kegiatan serta menyerahkan laporan hasil kegiatan Research/Teaching Grant kepada PIHAK PERTAMA sebagaimana yang dimaksud dalam Pasal 1 (selambat-lambatnya tanggal 12 Nopember 2011) sebanyak 8 (delapan) eksampiar, dalam bentuk "Hard Copy" disertai dengan 2 (dua) buah file elektronik "Soft Copy" yang berisi laporan hasil penelitian dan naskah artikel ilmiah hasil penelitian dalam bentuk compact disk (CD).
- Sebelum laporan akhir penelitian diselesaikan PIHAK KEDUA melakukan disseminasi hasil kegiatan melalui forum yang dikoordinasikan oleh Lembaga Penelitian yang dananya dibebankan kepada pihak kedua.
- Desiminasi kegiatan dilakukan di Unimed dengan mengundang dosen dan mahasiswa sebagai peserta.
- Bukti pengeluaran keuangan menjadi arsip pada PIHAK KEDUA dan 1 (satu) rangkap dilaporkan ke Lemlit Unimed dalam bentuk laporan penggunaan dana Research/Teaching Grant paling lambat tanggal 12 Nopember 2011.

Pasal 5

1. Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat menyelesaikan pelaksanaan kegiatan Research/Teaching Grant sesuai dengan Pasal 1 diatas , maka PIHAK KEDUA wajib mengembalikan dana kegiatan.
2. Apabila sampai batas waktu masa penelitian ini berakhir PIHAK KEDUA belum menyerahkan hasil kegiatan kepada PIHAK PERTAMA, maka PIHAK KEDUA dikenakan denda sebesar 1% perhari dan setinggi-tingginya 5% dari seluruh jumlah dana kegiatan yang diterima sesuai dengan Pasal 2.
3. Bagi dosen yang tidak dapat menyelesaikan kewajibannya dalam tahun anggaran berjalan dan proses pencairan biaya telah berakhir, maka seluruh dana yang belum cais yang belum sempat dicairkan dinyatakan hungus dan PIHAK KEDUA harus membayar denda sebagaimana tersebut diatas kepada Kas Negara.
4. Dalam hal PIHAK KEDUA tidak dapat memenuhi perjanjian pelaksanaan kegiatan Research/Teaching Grant PIHAK KEDUA wajib mengembalikan dana kegiatan yang telah diterima kepada PIHAK PERTAMA untuk selanjutnya disetorkan kembali ke Kas Negara

Pasal 6

Laporan hasil kegiatan Research/Teaching Grant yang tersebut dalam Pasal 4 harus memenuhi ketentuan sbb:

- a. Ukuran kertas kuarto
- b. Warna cover hijau
- c. Di bawah bagian kulit/cover depan ditulis : dibayai oleh Dana PO Unimed SK Rektor No.0486/UN33/WKEP/2011 tanggal 30 Mei 2011
- d. Pada bagian akhir laporan hasil penelitian dilampirkan Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D)

Pasal 7

Hak cipta produk Research/Teaching Grant tersebut ada pada PIHAK KEDUA, sedangkan untuk penggandaan dan penyebarluasan laporan hasil kegiatan berada dalam PIHAK PERTAMA

Pasal 8

Surat perjanjian kerja ini dibuat rangkap 5 (lima) dimana 2 (dua) buah diantaranya dibubuh material sesuai dengan ketentuan yang berlaku yang pembayarannya dibebankan kepada PIHAK KEDUA, satu rangkap untuk PIHAK PERTAMA satu rangkap untuk PIHAK KEDUA, dan selainnya akan digunakan bagi pihak yang berkepentingan untuk diketahui.

Hal-hal yang belum diatur dalam Surat Perjanjian Penggunaan Dana (SP2D) ini akan ditentukan kemudian oleh dua belah pihak.



PIHAK KEDUA

Dr. Hediardi, M.Si
NIP. 196008041986011001