

## INDUKSI KALUS PADI (*Oryza sativa* L.) VARIETAS IR64, MENTIK WANGI DAN ROJOLELE MELALUI KULTUR *IN VITRO*

Angga Rahabistara Sumadji  
Program Studi Biologi – Fakultas MIPA  
Universitas Katolik Widya Mandala Madiun

### ABSTRACT

*Rice (*Oryza sativa* L.) is a very important food crops because rice is still consumed as a staple food for most of the people all over the world, especially Asia. This study aims to determine the right concentration of growth regulating substances 2.4-D + BA that can be used to induce the emergence of callus from rice seed and to determine the effect of growth regulating substances on the growth of rice callus IR64, Mentik Wangi, and Rojolele. This study made use of a completely randomized design (CRD), by the addition of growth regulating substances 2.4-D + BA with 0; 0.5; 1; and 2 mg/l level for each. Rice seed varieties used are IR64, Mentik Wangi, and Rojolele. Each treatment was done with three replications. The data were analyzed using descriptive method. The results showed that the concentration of growth regulating substances which could most rapidly induce the emergence of callus with good color and texture was medium with the concentration of 2.4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l and the concentration of 2.4-D 0.5 mg/l + BA 2 mg/l. Rice seed explants were forming callus fastest in 9 days after the planting time. The effect of growth media formulations of 2.4-D + BA was that they could produce callus of a crumb texture (friable) in golden brown with the highest callus fresh weight of 21.7 g.*

**Key words:** *callus induction, in vitro, 2.4-D, BA, rice*

### A. Pendahuluan

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan yang sangat penting karena sampai saat ini beras masih digunakan sebagai makanan pokok bagi sebagian penduduk dunia terutama Asia (Purnamaningsih, 2006).

Di Indonesia sendiri beras masih dipandang sebagai produk kunci bagi kestabilan perekonomian dan politik. Saat ini Indonesia menghadapi masalah pangan akibat peningkatan jumlah penduduk dan diikuti oleh banyaknya sawah subur beririgasi di Pulau Jawa yang beralih fungsi menjadi kawasan industri dan pemukiman (Purnamaningsih, 2006).

Peningkatan jumlah penduduk yang semakin tinggi merupakan suatu tantangan bagi dunia pertanian. Hal ini erat kaitannya dengan kebutuhan akan bahan makanan pokok yang juga semakin bertambah. Sementara itu, peningkatan kebutuhan bahan makanan pokok tidak diimbangi dengan penyediaan lahan

pertanian subur, sehingga berakibat pada penurunan jumlah produksi setiap tahun (Santoso, 2008).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah-masalah tersebut adalah melalui penerapan teknik transformasi gen yang menyandi sifat tertentu, antara lain tahan terhadap penyakit/hama, ataupun gen untuk ketahanan terhadap faktor abiotik seperti kekeringan. Seiring meningkatnya ketahanan terhadap faktor biotik atau abiotik diharapkan dapat meningkatkan jumlah produksi padi setiap tahunnya (Purnamaningsih, 2006).

Untuk mewujudkan swasembada pangan dan untuk meningkatkan jumlah produksi padi setiap tahunnya, penerapan teknik kultur jaringan tanaman dapat digunakan untuk mengatasi masalah tersebut, baik untuk tanaman pangan maupun tanaman perkebunan (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

Senada yang diungkapkan oleh Yunus *et al.* (2010), teknik kultur jaringan memegang peranan penting dalam memproduksi bibit tanaman pertanian dan hortikultura, memperbaiki sifat-sifat tanaman, membebaskan bibit tanaman dari penyakit, memproduksi metabolit sekunder tanaman, membuat keragaman somaklonal, dan merupakan media dalam melakukan rekayasa genetik tanaman sehingga diharapkan swasembada pangan di Indonesia dapat terwujud.

Efektivitas penggunaan teknik kultur jaringan dalam melakukan eksploitasi keragaman somaklonal dan seleksi *in vitro* tergantung dari tersedianya metode baku yang efisien untuk menginduksi terbentuknya kalus serta dapat meregenerasikannya menjadi tanaman lengkap (*planlet*). Kalus adalah suatu jaringan yang bersifat meristematis akibat timbulnya luka dan merupakan salah satu wujud dari dediferensiasi (Suryowinoto, 1996).

Zat tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan ataupun kultur *in vitro* adalah kelompok auksin dan sitokinin. Kelompok auksin jenis 2,4-D secara sendiri maupun bersama sitokinin sering digunakan untuk induksi kalus dan pemeliharaan (Abidin, 1985). Hasil-hasil penelitian tentang metode induksi kalus melalui teknik kultur *in vitro* dan regenerasi padi subspecies *japonica* dan *javanica* telah banyak dilakukan, akan tetapi untuk padi yang masuk ke dalam subspecies *indica* masih sedikit informasi yang diperoleh (Purnamaningsih, 2006).

Padi subspecies *indica* memiliki tingkat keberhasilan regenerasi yang masih rendah dan biasanya proses tersebut tidak dapat diulang (*reproducible*). Selain itu regenerasi tanaman melalui kultur *in vitro* bersifat spesifik, artinya media yang dapat digunakan untuk meregenerasikan varietas padi tertentu belum tentu dapat digunakan untuk varietas lainnya (Purnamaningsih, 2006).

Regenerasi proses perubahan eksplan menjadi kalus merupakan proses yang kompleks, karena dipengaruhi oleh banyak factor, di antaranya faktor genotip, tipe eksplan, dan keseimbangan zat pengatur tumbuh. Kinetin yang berimbang dengan auksin dapat menyebabkan pertumbuhan kalus (Fitrianti, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji zat pengatur tumbuh yang tepat sehingga dapat digunakan untuk menginduksi munculnya kalus dari beberapa

varietas benih padi dan untuk mengkaji pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan kalus padi IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele.

## **B. Tinjauan Pustaka**

### **1. Tanaman Padi**

Di Indonesia, tanaman padi ditanam di dataran rendah sampai dataran tinggi. Pada umumnya padi yang diusahakan adalah padi sawah, padi gogo, dan padi gogo rancah. Padi gogo merupakan padi yang biasa diusahakan di tanah tegalan kering secara menetap dan dengan menerapkan teknik budidaya seperti pengolahan tanah, pemupukan, dan sebagainya, namun kebutuhan airnya relatif lebih sedikit (Basyir *et al.*, 1995).

Spesies *Oryza sativa* L. dibagi atas 2 golongan yaitu *utilissima* (beras biasa) dan *glutinosa* (ketan). Golongan *utilissima* dibagi 2 yaitu *communis* dan *minuta*. Golongan yang banyak ditanam di Indonesia adalah golongan *communis* yang terbagi menjadi 2 sub golongan, yaitu *indica* (padi bulu) dan *sinica* (padi cere/*Japonica*). Perbedaan mendasar antara padi bulu dan cere mudah terlihat dari ada tidaknya ekor pada gabah. Padi cere tidak memiliki ekor sedangkan padi bulu memiliki ekor (Soemartono dan Haryono, 1972).

Tinggi tanaman padi berkisar 1 sampai 1,5 meter, pada tiap-tiap buku batang tumbuh daun yang berbentuk pita dan pelepah. Pelepah ini membalut hampir sekeliling batang. Di dalam tanah dari tiap-tiap buku tumbuh tunas yang dapat menjadi batang (anakan). Anakan padi itu dapat pula beranak sehingga tumbuh 40-50 batang anakan (Soemartono dan Haryono, 1972). Akar padi digolongkan dalam akar serabut, akar yang pertama muncul pada saat berkecambah dari embrio disebut akar primer. Akar sekunder yang tumbuh dari buku terbawah dari batang disebut juga akar adventif (Manurung dan Ismunadji, 1988).

Pertumbuhan padi terdiri atas tiga fase, yaitu fase vegetatif, reproduktif, dan pemasakan. Fase vegetatif dimulai dari saat berkecambah sampai dengan primordial malai, fase reproduktif terjadi saat tanaman membentuk malai sampai berbunga, dan fase pemasakan dimulai dari pembentukan biji sampai panen. Fase ini terdiri atas empat stadia yaitu stadia masak susu, stadia masak kuning, stadia masak penuh, dan stadia masak mati. Lamanya fase vegetatif berkisar selama 55 hari, fase reproduktif 35 hari dan fase pemasakan selama 30 hari. Lamanya fase vegetatif berbeda-beda tergantung pada varietas (Vergara, 1995).

### **2. Padi IR64**

Padi IR64 merupakan salah satu varietas unggul dari hasil silangan IRRI (Purwono dan Purnamawati, 2008). Benih padi IR64 dilepas pada tahun 1986. Penggunaan benih padi IR64 di Indonesia masih tinggi mencapai 45% dengan produktivitas 4,1 sampai 5,6 ton per hektar. Keunggulan padi IR64 adalah berumur panen 115 hari, produksi mencapai 5 ton/ha, rasa nasi yang enak, tahan wereng cokelat tipe 1 dan tipe 2, dan tahan kerdil rumput (BPTP, 2008).

Tanaman padi IR64 memiliki ciri: daun berwarna hijau dengan permukaan daun yang kasar dan berbulu, bentuknya relatif tegak termasuk posisi daun serta daun benderanya. Tinggi tanaman padi IR64 dapat mencapai kurang lebih 85 cm. Jumlah anakan maksimum yang dapat dihasilkan oleh padi IR64 berjumlah kurang lebih 25 anakan per tanaman, sedangkan jumlah anakan produktif terbanyak yang dapat dihasilkan adalah 22-23 anakan per tanaman. Tanaman padi IR64 cocok ditanam di sawah irigasi dataran rendah, khususnya untuk sawah irigasi di daerah Jawa Timur (BPPT, 2007).

### 3. Padi Mentik Wangi

Padi Mentik Wangi merupakan padi lokal Indonesia yang memiliki aroma khas pada nasinya, sehingga padi Mentik Wangi termasuk ke dalam golongan padi aromatik (Haryanto, 2008). Aroma khas yang dihasilkan oleh padi Mentik Wangi disebabkan karena adanya senyawa kimia yang mudah menguap. Aroma pada padi tersebut merupakan perpaduan antara faktor genetik dengan lingkungan. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lebih dari 114 senyawa yang ada pada padi aromatik (Bradbury *et al.*, 2005).

Senyawa utama yang menyebabkan aroma wangi pada padi adalah senyawa 2-asetil-1-pirolin (2AP). Senyawa 2AP memiliki gugus pirol dan keton yang terdiri atas 6 atom karbon (C), 9 atom hidrogen (H), 1 atom nitrogen (N), dan 1 atom oksigen (O) (Praptiwi, 2010). Selain ditemukan pada padi Mentik Wangi senyawa aromatik ternyata juga dihasilkan oleh tanaman pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) yang merupakan penyebab bau harum pada daun pandan (Buttery *et al.*, 1983).

### 4. Padi Rojolele

Padi Rojolele merupakan tanaman padi yang ditanam di berbagai wilayah di Indonesia dan merupakan padi yang termasuk ke dalam golongan subspecies *Javanica* (Rachmawati *et al.*, 2004). Menurut Graham (2002), tanaman padi Rojolele memiliki fenotipe daun yang ramping dan panjang, memiliki komposisi amilum yang sedang, dan merupakan padi golongan aromatik, serta memiliki rasa yang enak.

Tanaman padi Rojolele memiliki tinggi normal 146-155 cm, batang kuat dan tebal, daun kasar, sistem perakaran kuat, dan tahan terhadap serangan hama wereng coklat. Walaupun padi Rojolele tahan terhadap serangan hama wereng coklat, tetapi padi Rojolele memiliki waktu panen yang cukup lama (kurang lebih 155 hari) (Rachmawati *et al.*, 2004).

### 5. Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid)

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang sering ditambahkan ke dalam media tanam kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin sintesis yang memiliki sifat lebih stabil dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh lainnya seperti IAA dan IBA, hal ini dikarenakan 2,4-D tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan sel atau oleh pemanasan pada saat proses sterilisasi (Prakoewa *et al.*, 2009).

Pada dosis yang tepat, 2,4-D dapat menghasilkan pembelahan sel terus menerus sehingga terbentuk sekumpulan sel yang tidak berdiferensiasi yang disebut kalus (Yunita dan Lestari, 2008). Menurut penelitian Husni *et al.* (1997) dan Dewi *et al.* (1997) pemberian 2,4-D pada eksplan tanaman gaharu dan padi dapat menghasilkan kalus yang embriogenik dengan bulatan-bulatan pada kalus berwarna kekuningan dan mengkilat.

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

#### **6. Zat Pengatur Tumbuh BA (*Benzyl Adenine*)**

Zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenine*) adalah zat pengatur tumbuh yang termasuk ke dalam golongan sitokinin (Jati, 2013). Prawiranata *et al.* (1981) menyatakan bahwa ZPT sitokinin memainkan peranan dalam sebagian fase dari metabolisme asam nukleik atau metabolisme protein sehingga sitokinin penting dalam berbagai fase tumbuh dan perkembangan. Beberapa senyawa dengan aktivitas sitokinin telah dapat diisolasi dari sejumlah tumbuhan dan telah dapat dikenali, misalnya *zeatin*, *ribosilzeatin*, dan *rebozilzeatin* dengan gugusan fosfat. Sitokinin berpengaruh sangat luas pada proses-proses fisiologis tumbuhan.

Jenis sitokinin BA (*Benzyl Adenine*) sering digunakan dalam proses kultur jaringan atau kultur *in vitro* dikarenakan efektivitasnya yang tinggi, harganya murah dan bisa disterilisasi (Andriana, 2005). Menurut penelitian Purnamaningsih (2006), penambahan BA (*Benzyl Adenine*) 2 mg/l dan NAA (*Naftalene Asam Asetat*) 0,5 mg/l pada medium agar MS dapat menghasilkan daya regenerasi kalus padi Taipei 309 sebesar 76-79% dan rata-rata jumlah tunas terbentuk yaitu 8,5.

### **C. Metode Penelitian**

#### **1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Katolik Widya Mandala Madiun. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari hingga bulan Agustus 2013.

#### **2. Alat Penelitian**

Peralatan utama yang digunakan untuk penelitian ini meliputi, *autoclave*, bunsen, lampu UV dan oven listrik, sedangkan peralatan lainnya yang digunakan adalah timbangan analitik, *autoclave*, pH meter, panci pemanas, labu takar, gelas ukur, pipet, botol kultur, *spatula*, kertas label, *erlenmeyer*, plastik PP, karet, oven dan *Enkast* yang telah disterilisasi.

### 3. Bahan Tanaman Sumber Eksplan

Tanaman sumber eksplan yang digunakan pada penelitian ini berupa benih padi IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele yang diperoleh dari Balai Benih Padi Tegalondo Sukoharjo, Jawa Tengah.

### 4. Sterilisasi Eksplan

Benih padi yang digunakan sebagai eksplan dicuci bersih dan direndam selama 1 jam pada larutan 2 g *detergent*, 2 g *agrymicin*, dan 2 g *benlate*. Setelah 1 jam, kemudian benih dibilas dengan aquades dan disterilkan kembali dengan *bayclin* selama 10 menit. Setelah itu benih dibilas dengan akuades steril. Sebagai penutup benih padi sebelum ditanam dicelupkan terlebih dahulu ke dalam akuades steril yang diberi *betadine* sebanyak 2-3 tetes, setelah itu benih dilewatkan di atas api, kemudian ditanam pada media MS.

### 5. Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dengan menginduksi kalus pada media MS + 2,4-D + BA dengan berbagai konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi 2,4-D (2,4-*Dichlorophenoxy Acetic Acid*) yang digunakan adalah 0; 0,5; 1; dan 2 mg/l. Konsentrasi BA (*Benzyl Adenine*) yang digunakan adalah 0; 0,5; 1; dan 2 mg/l.

### 6. Rancangan Percobaan

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D + BA masing-masing dengan taraf (0; 0,5; 1; dan 2 mg/l). Masing-masing perlakuan dengan 3 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

### 7. Pengamatan Kalus

Parameter yang diamati dari perlakuan ini adalah :

#### a. Kalus yang terbentuk

Pengamatan munculnya kalus dilakukan setiap 7 hari pada tiap-tiap botol kultur dengan menghitung berapa hari kalus sudah mulai muncul atau tumbuh. Waktu muncul kalus ditentukan dalam Hari Setelah Tanam (HST).

#### b. Berat segar kalus

Penghitungan berat segar kalus dilakukan setelah muncul kalus dan pada akhir pengamatan.

#### c. Tekstur dan warna kalus

Tekstur dan warna kalus diamati pada 42 HST (sekitar 6 minggu setelah penanaman eksplan).

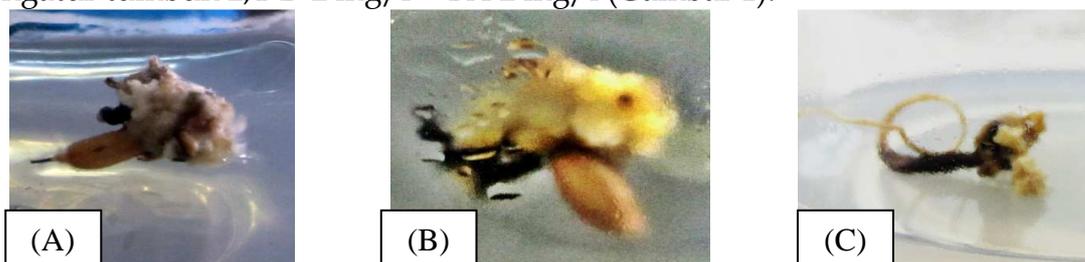
## D. Hasil dan Pembahasan

### 1. Induksi Kalus pada Media Perlakuan

Pada media pertumbuhan, penggunaan kombinasi ZPT berupa sitokinin (BA) dan auksin (2,4-D) mampu menginduksi terbentuknya kalus yang berasal dari eksplan berupa benih padi. Kalus merupakan kumpulan sel *amorphous* yang mengalami pembelahan secara tidak teratur dan terjadi secara terus menerus dalam

keadaan *in vitro* (George dan Sherrington, 1993). Kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang, dan daun (Moega, 1991).

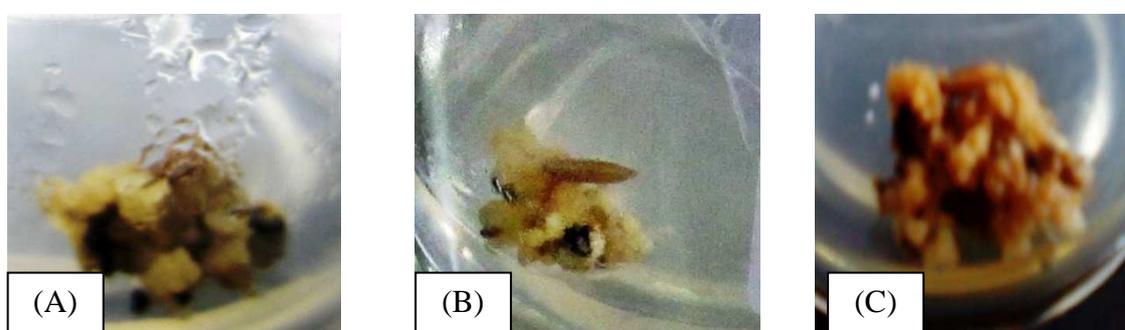
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada minggu kedua mulai terlihat pembengkakan pada masing-masing eksplan benih padi. Adanya pembengkakan pada eksplan menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA mulai diserap oleh jaringan eksplan. Kalus dari eksplan benih padi muncul paling cepat pada 9 dan 13,34 Hari Setelah Tanam (HST). Kalus tersebut muncul pada media konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l (Gambar 1).



Gambar 1.

**Kalus benih padi (A) Rojolele 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l pada 14 HST  
(B) Kalus Mentik Wangi 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l pada 21 HST dan  
(C) IR64 0,5 mg/l + BA 2 mg/l pada 14 HST**

Konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l pada perlakuan *in vitro* mampu menghasilkan kalus yang berwarna kekuningan dan ada juga kalus yang memiliki warna kuning kecoklatan (Gambar 2). Selain konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l warna kuning pada kalus juga dihasilkan pada formulasi media tanam yang lain. Warna kuning yang dihasilkan pada kalus eksplan benih padi menunjukkan bahwa kalus tersebut masih aktif berdiferensiasi (Purnamaningsih dan Ashrina, 2011).



Gambar 2.

**(A) Kalus Mentik Wangi 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l pada 21 HST  
(B) Kalus Rojolele 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l pada 28 HST  
(C) Kalus IR64 2,4-D 1 mg/l + BA 1 mg/l pada 21 HST**

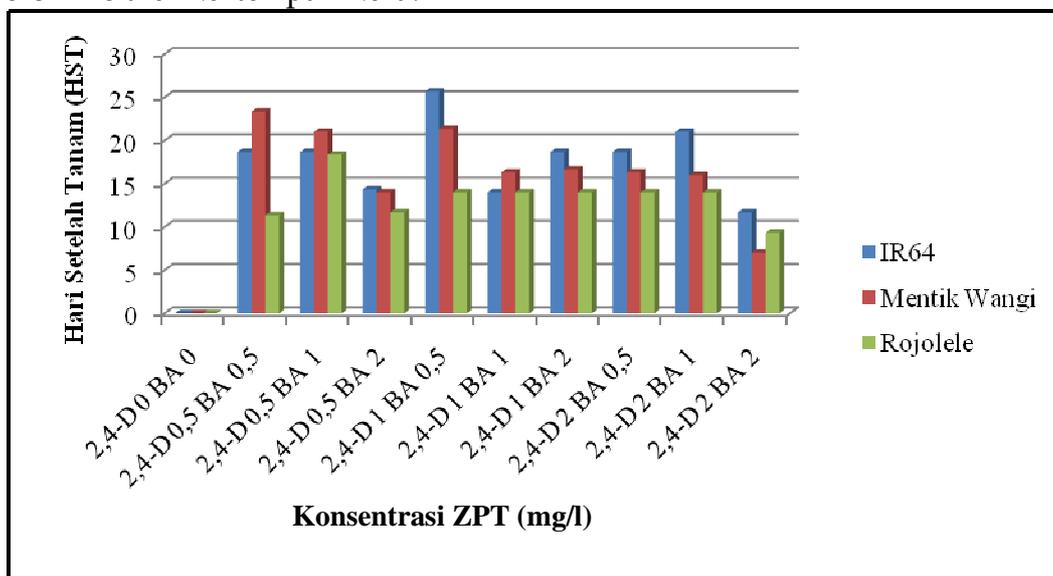
Senada yang diungkapkan oleh Yunus *et al.* (2010) selain tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan, umur tanaman juga berpengaruh terhadap kemampuan eksplan tersebut untuk tumbuh dan beregenerasi menjadi kalus.

Faktor lainnya yang berpengaruh terhadap munculnya kalus adalah ukuran eksplan yang ditumbuhkan pada media tanam. Semakin kecil eksplan maka diperlukan media yang lebih kompleks untuk pertumbuhan dan regenerasinya (Yunus *et al.*, 2010).

Gambar 3 menunjukkan rerata pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus dari eksplan benih padi IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele. Dari grafik tersebut terlihat bahwa rerata munculnya kalus yang paling cepat adalah pada 14-25 HST.

Kemunculan kalus yang mencapai 14-25 HST di karenakan IR64 termasuk ke dalam kelompok padi subspecies *indica* (Purnamaningsih, 2006), sedangkan untuk Mentik Wangi dan Rojolele masuk ke dalam kelompok padi subspecies *javanica* (Sasmita, 2007).

Kedua kelompok padi baik subspecies *indica* maupun *javanica* memiliki daya responsif yang rendah apabila dikulturkan secara *in vitro* (Masyhudi dan Rianawati, 1994). Khanna dan Raina (1998) menyatakan bahwa padi tipe *indica* sulit diregenerasikan melalui kultur kalus, sedangkan keberhasilan yang lebih tinggi diperoleh melalui kultur panikula.



**Gambar 3.**

**Rerata pengaruh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus pada eksplan benih padi**

Untuk padi subspecies *javanica* dapat digunakan kultur antera untuk menghasilkan kalus padi yang diinginkan dengan cara menyilangkan indukan padi subspecies *indica* dengan subspecies *japonica* atau persilangan di antara subspecies *indica* yang salah satu indukannya memiliki daya kultur antera yang baik (Sasmita, 2007).

Pada perlakuan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l, konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 1 mg/l + BA 1, mg/l kalus muncul lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh lainnya terutama pada eksplan benih padi Mentik Wangi dan Rojolele (Gambar 3). Kemunculan kalus yang cepat pada masing-masing eksplan benih padi sesuai dengan yang dikemukakan oleh Rahardja (1988), bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan induksi kalus semakin cepat terjadi, tetapi kadar auksin yang tinggi juga dapat bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa tidak semua eksplan yang dikulturkan dapat membentuk kalus. Pada perlakuan 2,4-D + BA dengan konsentrasi yang tinggi eksplan tidak menunjukkan perubahan dalam bentuk apapun, walau dikulturkan dalam jangka waktu yang lama, begitu pula yang terjadi pada perlakuan 2,4-D + BA pada konsentrasi yang rendah.

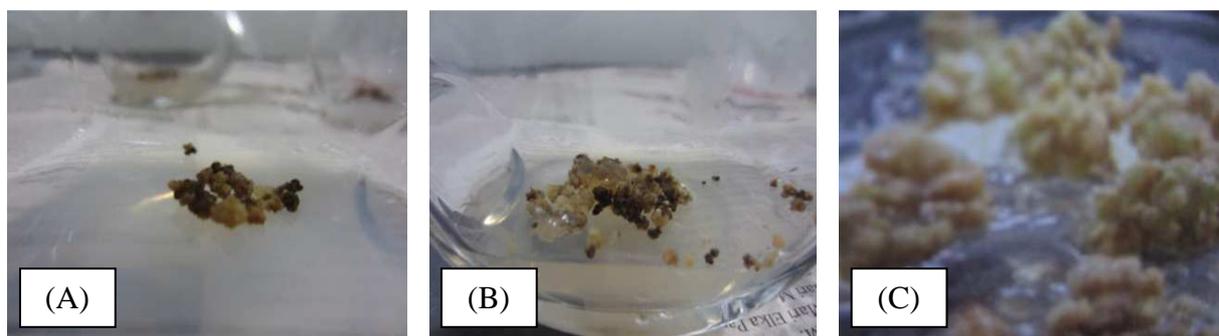
Kegagalan eksplan membentuk kalus diduga adanya perbedaan kemampuan jaringan menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media induksi kalus. Eksplan yang tidak membentuk kalus pada perlakuan kultur *in vitro* bisa mengalami perubahan warna dari hijau menjadi coklat kemudian mati. Hal ini dapat disebabkan oleh timbulnya senyawa fenolik yang keluar dari eksplan tersebut (Lizawati *et al.*, 2012).

## **2. Tekstur dan Warna Kalus pada Media Perlakuan**

Indikator pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro* berupa warna dan tekstur kalus yang menggambarkan penampilan visual kalus, sehingga dapat diketahui kalus yang masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau telah mati (Indah dan Ermavitalini, 2013).

Menurut Dehghani *et al.* (2011) warna dan tekstur kalus yang dihasilkan tergantung pada eksplan yang digunakan, umur kalus, dan kondisi pertumbuhannya.

Dilihat dari struktur dan warna kalus, pada minggu pertama hingga minggu terakhir, pengamatan tekstur kalus yang muncul pada eksplan dari ketiga benih padi IR64, Mentik Wangi, maupun Rojolele merupakan kalus yang remah (*friable*) (Gambar 4).



**Gambar 4.**

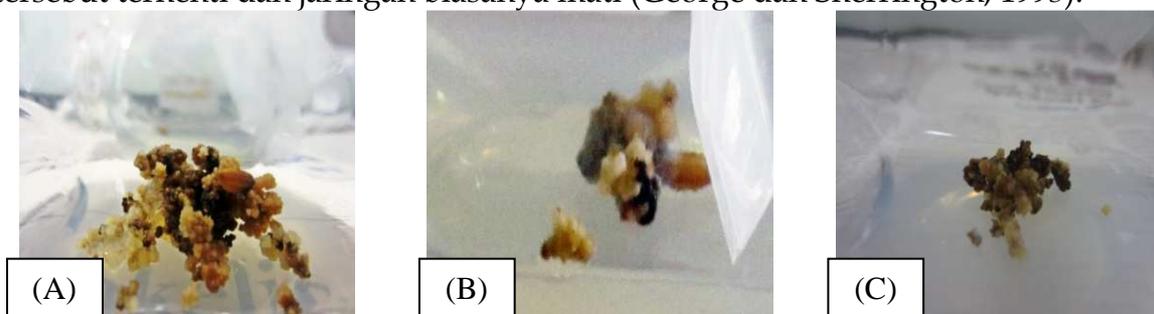
**Warna dan tekstur kalus (A) kalus warna kuning kecoklatan dan remah (*friable*) pada benih IR64 dengan media tanam 2,4-D 1 mg/l + BA 2 mg/l (B) kalus warna kuning kecoklatan dan remah (*friable*) pada benih Rojolele dengan media tanam 2,4-D 2 mg/l + BA 0,5 mg/l (C) kalus warna kuning kecoklatan dan remah (*friable*) pada benih Mentik Wangi dengan media tanam 2,4-D 1 mg/l + BA 2 mg/l dengan media tanam 2,4-D 1 mg/l + BA 2 mg/l**

Kalus yang remah dari masing-masing eksplan benih padi menunjukkan bahwa kalus tersebut banyak mengandung air (*vitrous*). Ciri dari kalus yang remah yaitu antara satu sel dengan sel yang lain mudah dipisahkan atau bila kalus diambil dengan menggunakan pinset secara otomatis sel-sel kalus akan mudah menempel pada pinset (Santoso *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil pengamatan warna kalus yang dihasilkan dari masing-masing eksplan benih padi IR64, Mentik Wangi, maupun Rojolele memiliki kalus yang berwarna kuning kecoklatan.

Warna kuning kecoklatan pada masing-masing kalus menandakan bahwa kalus tersebut mulai mengalami oksidasi dan gejala pencoklatan (*browning*) yang menyebabkan perkembangan kalus menjadi lambat, sehingga proses diferensiasi sel juga berjalan lambat (Purnamaningsih dan Ashrina, 2011) (Gambar 5).

Adanya warna coklat pada kalus disebabkan oleh akumulasi senyawa fenol pada eksplan. Warna coklat tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut terhenti dan jaringan biasanya mati (George dan Sherrington, 1993).



**Gambar 5.**

**Kalus remah dan berwarna kuning kecoklatan pada (A) Roiolele 42 HST (B) Mentik**

Warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan dari suatu kalus yang terbentuk. Warna kalus semakin gelap (kecoklatan) berarti pertumbuhan kalus semakin menurun (Widyawati, 2010).

Peristiwa pencoklatan yang terjadi pada semua kalus yang muncul merupakan suatu peristiwa alamiah dan merupakan proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat adanya pengaruh fisik seperti pengupasan, pemotongan, dan sterilisasi. Gejala pencoklatan merupakan tanda-tanda terjadinya kemunduran fisiologis dari eksplan (Rohmah, 2007).

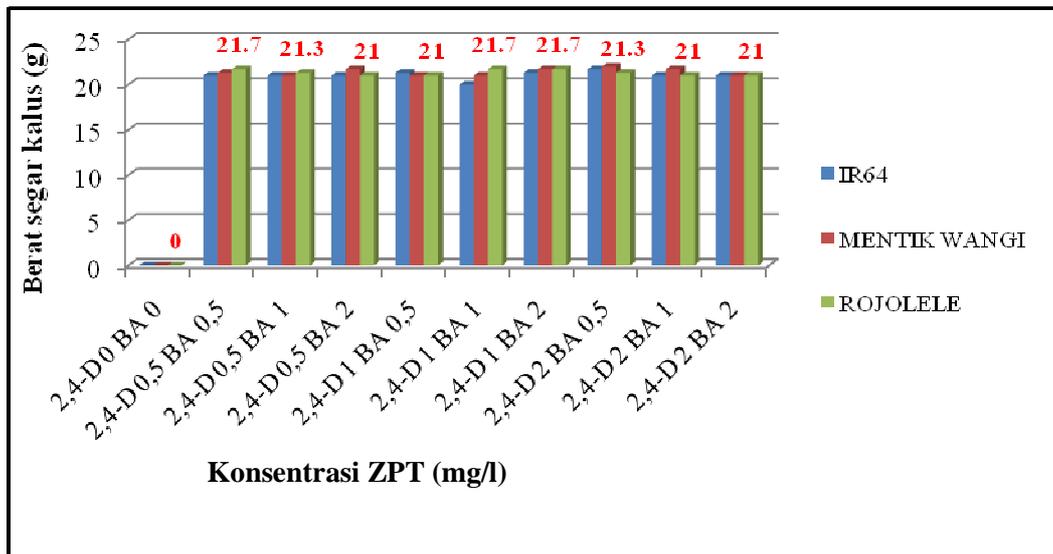
Beberapa kemungkinan yang menyebabkan kalus berwarna coklat dan tidak dapat beregenerasi antara lain karena media tidak sesuai antara zat pengatur tumbuh yang ada di dalam sel dan di luar sel baik antara auksin dan sitokinin (Thorpe, 1994).

Selain zat pengatur tumbuh yang tidak sesuai untuk pertumbuhan kalus, perlakuan radiasi dan seleksi juga dapat mengakibatkan penurunan kemampuan regenerasi dari masing-masing kalus, sehingga kalus yang dihasilkan memiliki tekstur yang remah dan berwarna kecoklatan (Biswas *et al.*, 2002).

### **3. Berat Segar Kalus**

Penimbangan berat segar kalus dilakukan pada akhir pengamatan (42 HST). Berat segar kalus diukur dengan cara menimbang pada timbangan digital. Dari grafik berat segar kalus (Gambar 6) terlihat bahwa penambahan 2,4-D dan BA pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap berat segar dari masing-masing kalus, kalus IR 64, Mentik Wangi, ataupun Rojolele.

Rerata berat segar masing-masing kalus hingga akhir pengamatan (42 HST) yaitu sebesar 21 g. Berat segar kalus yang sama antara benih padi IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele yang dihasilkan dari masing-masing kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D + BA, dimungkinkan karena adanya ketidakseimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen dengan penambahan zat pengatur tumbuh yang diberikan secara eksogen (Santoso *et al.*, 2004).



Gambar 6.

Rerata berat segar kalus dengan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BA dari eksplan benih padi IR64, Mentik Wangi dan Rojolele

Adanya keseimbangan jumlah zat pengatur tumbuh pada perlakuan *in vitro* sangat diperlukan. Menurut George dan Sherrington (1993) proses pertumbuhan dan morfogenesis tanaman *in vitro* dipengaruhi oleh adanya interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media dan hormon pertumbuhan yang dihasilkan secara *endogenous* oleh sel-sel yang dikultur.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa penambahan *Benzyl Adenine* (BA) dapat menginduksi munculnya kalus dari masing-masing eksplan benih padi dengan berat segar kalus tertinggi yang dihasilkan yaitu 21,7 g.

Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada media pertumbuhan dikarenakan 2,4-D berperan untuk mendorong proses morfogenesis kalus, induksi kalus dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Pawar *et al.*, 2007).

Kalus yang terbentuk pada perlakuan ini, dipengaruhi oleh adanya zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin baik secara endogen maupun eksogen. Penggunaan auksin dan sitokinin dengan perbandingan yang tepat dan sesuai akan mendukung pertumbuhan kalus secara *in vitro* dan juga akan mempengaruhi kalus baik secara warna, tekstur, ataupun berat segar kalus (Indah dan Ermavitalini, 2013).

## E. Kesimpulan dan Saran

### 1. Kesimpulan

Perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l dan 2,4-D 0,5 mg/l + BA 2 mg/l dapat menginduksi munculnya kalus dengan warna dan tekstur yang baik dari eksplan benih padi varietas IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele. Munculnya kalus tercepat terjadi pada 9 hari setelah tanam. Pengaruh konsentrasi zat pengatur

tumbuh 2,4-D + BA mampu menginduksi kalus dari masing-masing eksplan benih padi dengan morfologi kalus yang remah (*friable*) dan berwarna kuning kecoklatan dengan berat segar kalus tertinggi yaitu sebesar 21,7 g.

## 2. Saran

Perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh yang lebih sesuai agar semua eksplan benih padi varietas IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele yang ditanam mampu berubah menjadi kalus, yang kemudian dari kalus tersebut mampu untuk diakarkan sampai tahap aklimatisasi plantlet.

## Daftar Pustaka

- Abidin, Z. 1985. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Andriana, D. 2005. Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tunas dan Giberelin terhadap Kualitas tunas Pisang FHIA-17 *In Vitro*. *Skripsi*. Program Studi Hortikulturan Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Basyir, P., A.P. Suyamto dan S. Supriyatin. 1995. *Padi Gogo*. Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Malang.
- Biswas, J., B. Chowdhury., A. Bhattacharya and A.B. Mandal. 2002. In Vitro Screening For Increases Drought Tolerance In Rice. *J. In Vitro Cell. Dev Biol-Plant* 38: 525-530.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (BPPT), 2007. *Teknologi Budidaya Padi*. Penerbit Agro Inovasi. Jakarta.
- Balai Penelitian Tanaman Padi (BPTP), 2008. *Deskripsi Padi Varietas IR64*. <http://www.pustaka-deptan.go.id>. Diakses 2 Januari 2014.
- Bradbury, L.M., Fitzgerald, T.L., Henry, R.J., Jin, Q and Waters, D.L. 2005. The Gene For Fragrance In Rice. *J. Plant Biotechnol.* 3(3): 363-70.
- Buttery, R.G., L.C. Ling., B.O. Juliano and J.G. Turnbaugh. 1983. Cooked Rice Aroma And 2-Acetyl-1-Pyroline In Rice. *J. Agric Food Chem* 31(4): 823-826.
- Dehghani, I., A. Mostajeran dan G. Asghari. 2011. In Vitro and In Vivo Production Of Gingerols And Zingiberene in Ginger Plant (*Zingiber officinale* Roscoe). *Iranian J. of Pharmaceutical Sciences.* 7(2): 117-121.

- Dewi, I.S., Harjosudarmo., Birch and Dietagen. 1997. The Effect Of 2,4-D, NAA And Picloram On Somatic Embryogenesis And Plant Regeneration From Immature Peanut Seed. *J. Biotek. Pertanian* 2 (1): 23-30.
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- George, EF and P.D. Sherrington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture Technology part I. 2<sup>nd</sup> (ed)*. Exegetics Limited. England.
- Graham, R.A. 2002. Proposal For IRRI To Establish A Grain Quality And Nutrition Research Center. *IRRI Discussion Paper Series No. 44 Los Banos (Philippines)*. International Rice Research Institute.
- Haryanto, T.A.D. 2008. Mutiara Yang Terlupakan (Upaya Peningkatan Ketahanan Pangan Melalui Pengembangan Padi Gogo Aromatik). *Orasi Ilmiah Guru Besar*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Husni, A., I. Mariska dan M. Kosmiatin. 1997. Embriogenesis Somatik Tanaman Lada Liar. *Makalah dalam Simposium Nasional dan Kongres III PERIPI*. Bandung, 24-25 September.
- Indah, P.N dan D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 2 (1): 1-6.
- Jati, G.E.S. 2013. Pengaruh Media Tanam dan Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin (BA) terhadap Perbanyak Tunas Pisang Raja Bulu (*Musa Paradisiaca* L.) dari Cacahan Bonggol. *Skripsi*. Departemen Agronomi Dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
- Khanna, H. K dan S.K. Raina. 1998. Genotype X Culture Media Interaction Effect On Regeneration Response Of Three Indica Rice Cultivars. *J. Plant Cell Tissue, and Organ Culture*. 52:145-153.
- Lizawati., Neliyati dan Desfira. 2012. Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Durio Zibethinus* Murr. Cv. Selat Jambi) Pada Beberapa Kombinasi 2,4-D Dan BAP. *Jurnal Agroteknologi*. 1 (1): 23-29.

- Manurung, S.O dan M. Ismunadji. 1988. *Morfologi dan Fisiologi Padi*. Balitan Pangan Bogor.
- Masyhudi, M.F dan S. Rianawati. 1994. Pengaruh Genotipe Dan Sumber Karbon Pada Kultur Antera Tanaman Padi Bulu. *Jurnal Zuriat : Jurnal Pemuliaan Indonesia*. 5:61-68.
- Moega, J.P. 1991. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Pawar, K.D., Joshi, S.P., Bhide, S.R and Thengane, S.R. 2007. Pattern Of Anti-HIV Dipyrancoumarin Expression In Callus Cultures Of *Calophyllum inophyllum* Linn. *J. of Biotechnology*. 130: 346-353.
- Prakoewa, S.A., Ribkahwati dan D.R. Suryaningsih. 2009. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit Dian Prisma Lestari. Jawa Timur.
- Praptiwi, D. 2010. Pembentukan Dan Seleksi F1 Padi Ciherang Pandan Wangi Dan Fatmawati-Mentik Wangi Menggunakan Marka Aromatik. *Skripsi*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Prawiranata, Harran dan Tjondronegoro. 1981. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Departemen Botani Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Purnamaningsih, R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi Melalui Kultur In Vitro. *Jurnal AgroBiogen* 2 (2): 74-80.
- Purnamaningsih, R. dan M. Ashrina. 2011. Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi* 10 (4): 481-489.
- Purwono dan Purnamawati, H. 2008. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggulan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rachmawati, D., Hosaka, T., Inoue, E., and Anzai, H. 2004. Agrobacterium-Mediated Transformation of Javanica Rice cv. Rojolele. *J Biosci. Biotechnol. Biochem*. 68 (6): 1193-1200.
- Rahardja, P.C. 1988. *Kultur Jaringan Teknik Perbanyak Tanaman Secara Modern*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Rohmah, S.N. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D Dalam Kultur *In Vitro* Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume, 1837). *Skripsi*. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Santoso., Untung., dan Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Santoso, 2008. Kajian Morfologis dan Fisiologis Beberapa Varietas Padi Gogo (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Cekaman Kekeringan. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sasmita, P. 2007. Aplikasi Teknik Kultur Antera Pada Pemuliaan Tanaman Padi. *Apresiasi Hasil Penelitian Padi Tahun 2007*. Halaman 595-609.
- Soemartono, S dan B. Haryono. 1972. *Bertjotjok Tanam Padi*. Kanisius. Yogyakarta.
- Sukmadjaja, D dan I. Mariska. 2003. *Perbanyak Bibit Jati Melalui Kultur Jaringan*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Suryowinoto. 1996. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Thorpe, T.A. 1994. Morphogenesis and Regeneration. *Plant Cell and Tissue Culture*. Kluwer Acad Publisher. Dordrecht. p. 17-36.
- Vergara, B.S. 1995. *Bercocok Tanam Padi*. Program Nasional PHT Pusat. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Widyawati, G. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Tesis*. Program Studi Biosain. Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Yunita dan E.G. Lestari. 2008. Induksi Kalus dan Regenerasi Tunas Pulai Pandak (*Rauwolfia serpentina* L.). *Berita Biologi*. 9 (1): 91-97.
- Yunus, A., Samanhudi., A.T. Sakya dan M. Rahayu. 2010. *Teknologi Kultur Jaringan*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.