



EFEKTIVITAS ZPT 2,4 D PADA MEDIUM MS DAN LAMA PENCAHAYAAN UNTUK MENGINDUKSI KALUS DARI KOTILEDON KEDELAI

Sri Pudyastuti, ✉ Noor Aini Habibah, Sumadi

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Oktober 2011
Disetujui Desember 2011
Dipublikasikan Maret 2012

Keywords:

Callus induction
Long lighting
ZPT 2,4 D

Abstrak

Dalam upaya menghasilkan kedelai yang tahan terhadap hama penyakit, dan cekaman, maka dilakukan pemuliaan dengan kultur jaringan, melalui kalus. Penggunaan kalus sebagai tahap penelitian selanjutnya yaitu induksi variasi somaklonal atau transformasi genetik. Penelitian ini bertujuan mengetahui kondisi cahaya, konsentrasi 2,4 D optimal dalam setiap kombinasi perlakuan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 2 faktor. Konsentrasi 2,4-D dan keadaan cahaya. Konsentrasi 2,4-D terdiri dari 4 taraf (0 ppm; 3 ppm; 6 ppm; dan 9 ppm;) dan 2 taraf lama pencahayaan (24 dan 0 jam). Variabel yang diamati adalah waktu muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi 2,4 D merupakan faktor yang mempengaruhi induksi kalus, interaksi 2,4 D dan kondisi pencahayaan tidak berpengaruh terhadap pembentukan kalus. Interaksi 2,4 D dan kondisi pencahayaan tidak ada yang efektif untuk menginduksi kalus. Berdasarkan uji Duncan dihasilkan konsentrasi 2,4-D yang paling optimal adalah 9 ppm.

Abstract

In an effort to produce soybean that are resistant to pests and diseases and stress, the breeding was done by tissue culture, through callus. The use of callus is the further step in the research phases of somaclonal induction or genetic transformation. This study aimed to determine the condition of light, the optimal concentration of 2,4 D in any combinations of treatment. The research was using randomized block design consisting of two factors: the concentration of 2,4 D and the light. There was 4 levels of 2,4 D concentration (0 ppm; 3 ppm; 6 ppm; 9 ppm), and 2 levels of light exposure (24 and 0 hours). The observed variable was the time of the callus emerged, the percentage of the callus growth and the weight of the callus. The result showed that the concentration of 2,4 D was the factor affecting callus induction, whereas 2,4D and the interaction of light condition was not effective to induce callus. Based on Duncan test, the optimum concentration of 2,4 D was 9 ppm.

© 2012 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

FMIPA UNNES Gd D6 Lt 1 Jln. Raya Sekaran- Gunungpati- Semarang 50229
Telp./Fax. (024) 8508033; E-mail: nooraini.habibah@yahoo.com

ISSN 2085-191X

PENDAHULUAN

Tanaman kedelai (*Glycine max*) merupakan komoditas pertanian yang sangat dibutuhkan di Indonesia baik sebagai bahan baku industri untuk pangan dan untuk bahan minuman lainnya. Kedelai merupakan sumber lemak dan protein nabati yang penting bagi kehidupan dan kesehatan manusia. Permintaan akan komoditas ini terus meningkat dari tahun ke tahun. Tingginya tingkat kebutuhan kedelai tidak diimbangi dengan tingginya tingkat produksi kedelai secara nasional, dimana kebutuhan akan konsumsi kedelai terus meningkat sejalan dengan peningkatan jumlah penduduk. Sedangkan kedelai merupakan salah satu tanaman penting di Indonesia sebagai salah satu sumber protein nabati. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) produksi kedelai tahun 2010 sebanyak 908,11 ribu ton sementara kebutuhan kedelai sekitar 2,4 juta ton. Selama ini kekurangan kedelai di dalam negeri dipenuhi dengan mengimpor dari negara penghasil kedelai.

Dalam rangka meningkatkan ketahanan pangan di tingkat nasional, khususnya ketersediaan bahan pangan kedelai, diperlukan upaya yang sungguh-sungguh untuk meningkatkan produksinya dan tentunya harus diprogramkan secara teliti, terencana, berjangka panjang dan tepat sasaran. Upaya meningkatkan produktivitas kedelai, yang bertujuan untuk menghasilkan kedelai tahan terhadap hama dan penyakit, dan juga ketahanan terhadap cekaman, maka perlu dilakukan pemuliaan tanaman kedelai dengan cara kultur jaringan. Kultur jaringan dapat mengatasi masalah kelemahan produktivitas kedelai, melalui kalus. Penggunaan kalus ini sebagai tahap awal penelitian selanjutnya untuk variasi somaklonal (transformasi genetik).

Hasil penelitian tentang pertumbuhan kalus pada kedelai menunjukkan bahwa untuk tahap induksi maupun proliferasi kalus embriogenik, media dengan penambahan 10 mg/liter 2,4D dan 10 mg/liter NAA memberikan respon yang lebih baik dibandingkan dengan penambahan 40 mg/liter 2,4 D dan 20 mg/

liter (Khumaida dan Handayani 2010). Penelitian induksi kalus dan regenerasi kedelai india menggunakan 2,4 D (4,5-22,5 μ M) (Radhakrishnan dan Ranjithakumari 2004). Peningkatan pembentukan embrio somatik tanaman meranti (*Shorea pinanga* Scheff) menggunakan 2,4 D 5,0 mg/liter merupakan media yang cocok untuk induksi kalus, kalus yang diperoleh bertekstur remah dan berwarna kekuningan (Yelnitis 2005).

Keberadaan cahaya menentukan terbentuknya kalus. Beberapa tanaman memerlukan cahaya dalam induksi kalus, ada yang menggunakan fotoperiode tertentu dan ada pula yang tidak memerlukan cahaya (gelap total). Pada perbanyakan tanaman secara in-vitro, kultur umumnya diinkubasikan pada ruang penyimpanan dengan penyinaran kecuali pada teknik perbanyakan yang diawali dengan pertumbuhan kalus (Mulyaningsih & Aluh 2008). Penelitian terhadap pertumbuhan kalus dan pembentukan senyawa alkaloid kinolina pada *Cinchona ledgeriana* dipengaruhi oleh umur kalus dan ada tidaknya cahaya.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kondisi cahaya, konsentrasi 2,4 D yang optimal untuk mempelajari pertumbuhan kalus dari kultur kotiledon kedelai yang ditumbuhkan dalam media Murashige & Skoog (MS) dengan menggunakan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D untuk mengetahui respon dari eksplan dalam setiap perlakuan kombinasi yang dilakukan. Tanaman kedelai, sampai saat ini belum diketahui kondisi cahaya yang tepat untuk dapat menumbuhkan kalus dari kotiledon kedelai.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan tumbuhan, jurusan Biologi FMIPA UNNES. Bahan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Grobogan yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang.

Penelitian dilaksanakan dengan

Tabel 1. Kecepatan tumbuh kalus (hari) pada tiap kombinasi perlakuan

Perlakuan pencahayaan	D0	D1	D2	D3	Rerata
C1 (24 jam)	0	8,33	27	9	11,08
C2 (0 jam)	0	17,34	8	10	8,83
Rerata	0	12,84 ^a	17,5 ^b	9,50 ^b	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan $\alpha = 0.05$

Tabel 2. Persentase eksplan membentuk kalus (%) pada tiap kombinasi perlakuan

Perlakuan pencahayaan	D0	D1	D2	D3	Rerata
C1 (24 jam)	0	26,67	93,34	66,67	t46,67
C2 (0 jam)	0	53,54	26,67	46,67	42,29
Rerata	0	40,10	60,05	56,67	

Tabel 3 Data hasil pengamatan berat kalus (gram) pada tiap kombinasi perlakuan

Perlakuan pencahayaan	D0	D1	D2	D3	Rerata
C1 (24 jam)	0	0,2 ^a	1,94 ^{ab}	0,5 ^a	0,66
C2 (0 jam)	0	1,31 ^{ab}	0,03 ^b	3,45 ^{ab}	1,19
Rerata	0	0,75	0,985	1,97	

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan $\alpha = 0.05$

menggunakan rancangan acak kelompok faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi ZPT 2,4 D yang terdiri atas empat taraf yaitu : (0 ppm; 3 ppm; 6 ppm; 9 ppm) dan faktor pencahayaan (24 jam dan 0 jam).

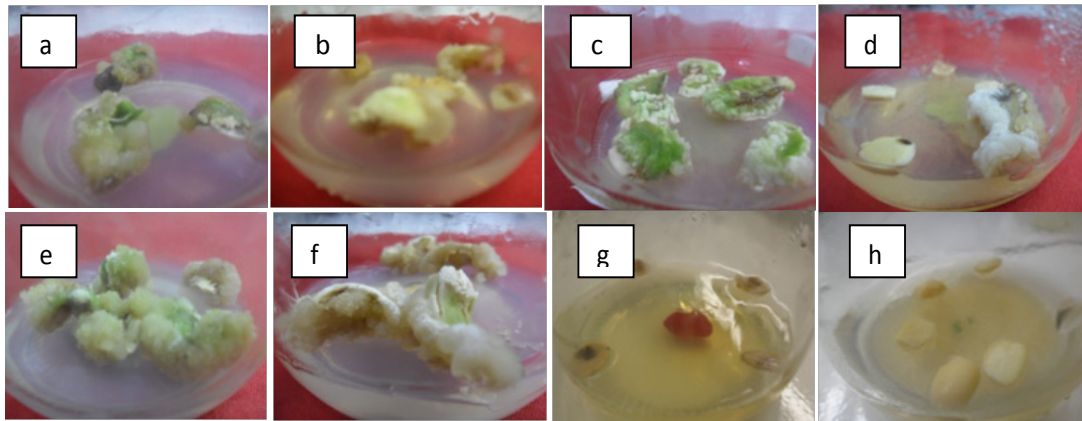
Analisis menggunakan ANAVA dua arah menggunakan SPSS 16 dan uji lanjut Duncan. Parameter yang diamati adalah waktu muncul tunas, persentase jumlah kalus dan berat kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon eksplan kotiledon kedelai terhadap pemberian zat pengatur tumbuh 2,4 D dalam keadaan pencahayaan 24 dan 0 jam dengan berbagai kombinasi taraf

perlakuan dengan induksi kalus disajikan pada Tabel 1 (kecepatan tumbuh kalus), Tabel 2 (persentase jumlah kalus) dan Tabel 3 (berat kalus). Adapun hasil pengamatan keragaman kalus yang tumbuh pada berbagai konsentrasi taraf perlakuan 2,4 D dan pencahayaan tersaji dalam Gambar 1.

Hasil anava dua jalan didapatkan hasil untuk variabel pemberian 2,4 D menunjukkan perbedaan signifikan, sehingga dapat dikatakan pemberian 2,4 D berpengaruh terhadap kecepatan waktu tumbuh kalus dari kotiledon kedelai. Eksplan kotiledon yang ditanam dalam media MS tanpa penambahan 2,4 D tidak membentuk kalus. Sebaliknya, eksplan yang ditanam dalam media dengan penambahan 2,4 D sebagian dapat berkembang membentuk kalus.



Gambar 1. Keragaman kalus pada berbagai taraf perlakuan 2,4 D dan lama pencahayaan
Keterangan:

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| a. D1C1 = perlakuan 3 ppm + 24 jam | e. D3C1 = perlakuan 9 ppm + 24 jam |
| b. D1C2 = perlakuan 3 ppm + 0 jam | f. D3C2 = perlakuan 9 ppm + 0 jam |
| c. D2C1 = perlakuan 6 ppm + 24 jam | g. D0C1 = perlakuan 0 ppm + 24 jam |
| d. D2C2 = perlakuan 6 ppm + 0 jam | h. D0C2 = perlakuan 0 ppm + 0 jam |

Kecepatan waktu tumbuh kalus dari eksplan kotiledon kedelai akibat interaksi 2,4 D dan pencahayaan bervariasi. Hasil uji Anava juga menunjukkan bahwa variabel pencahayaan tidak berpengaruh signifikan, sedangkan interaksi antara faktor 2,4D dengan pencahayaan tidak saling mempengaruhi terhadap kecepatan waktu tumbuh kalus.

Penambahan 2,4 D ini karena berperan untuk mendorong proses morfogenesis kalus, induksi kalus dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi 2003). Menurut George dan Sherrington (1984) penambahan auksin ke dalam media regenerasi *in vitro* berfungsi untuk menginduksi kalus, pembentukan kalus dan embrio somatik. Sedangkan Wattimena *et al* (1988) menyatakan bahwa dalam pembentukan kalus, auksin berperan dalam pembentangan sel.

Persentase jumlah kalus pada semua variabel tidak berbeda signifikan, sehingga didapatkan semua variabel tidak berpengaruh terhadap persentase jumlah kalus. Dengan demikian pada analisis ini rataan pemberian konsentrasi 2,4 D 0 ppm, 2,4 D 3 ppm, 2,4 D 6 ppm dan 2,4 D 9 ppm pada kedua kelompok perlakuan sama. Hasil analisis hasil untuk faktor pencahayaan tidak berbeda signifikan. Jadi rataan waktu pencahayaan yang diberikan

pada kondisi gelap dan kondisi terang sama saja. Artinya semua jenis pencahayaan tidak mempengaruhi jumlah kalus induksi kalus kotiledon kedelai. Demikian pula interaksi antara perlakuan 2,4 D dan pencahayaan tidak menunjukkan perbedaan signifikan dalam persentase jumlah kalus yang tumbuh.

Hasil pengamatan terhadap berat kalus, diketahui bahwa berat terendah terdapat pada perlakuan D2C2 (6 ppm + gelap). Namun demikian interaksi antara 2,4 D dengan pencahayaan berbeda signifikan, sehingga dengan demikian interaksi antara pemberian 2,4 D dan pencahayaan berpengaruh terhadap berat kalus pada induksi kalus kotiledon kedelai.

Nilai variabel pencahayaan terlihat nilai signifikan untuk variabel pencahayaan memiliki sig. = 0,349 > 0,05. Jadi rataan waktu pencahayaan yang diberikan sama saja. Artinya semua jenis pencahayaan tidak mempengaruhi berat kalus induksi kalus kotiledon kedelai. Sedangkan pada interaksi antara 2,4 D dan pencahayaan memberikan pengaruh signifikan terhadap berat kalus pada induksi kalus kotiledon kedelai.

Hasil pengamatan keragaman kalus yang tumbuh pada berbagai konsentrasi taraf perlakuan 2,4 D dan pencahayaan (Gambar 1).

Pada penelitian ini tidak semua bagian

eksplan membentuk kalus. Kalus terbentuk pada bagian perifer dari eksplan yang ditumbuhkan. Gunawan (1987) menyatakan bahwa umumnya kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman tetapi bagian yang berbeda menunjukkan respon yang berbeda. Hal ini diduga disebabkan karena suatu sifat yang terjadi pada semua sel dalam jaringan asal, tetapi hanya terjadi pada sel di lapisan perifer. Sel-sel pada lapisan tersebut membelah terus menerus sedangkan di tengah tetap *quiescent* (tidak membelah).

Pada kondisi morfologi dalam keadaan terang kotiledon selama 24 jam akan menghasilkan kalus yang sama dengan kalus dari kondisi gelap, namun pada penyinaran yang terus menerus kalus akan berwarna hijau. Selain intensitas cahaya, lama penyinaran (fotoperiodisme) mempengaruhi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan (Mulyaningsih dan Aluh 2004).

SIMPULAN

Konsentrasi 2,4 D merupakan faktor yang mempengaruhi induksi kalus kotiledon kedelai. Interaksi 2,4 D dan kondisi pencahayaan tidak berpengaruh signifikan terhadap pembentukan kalus. Interaksi 2,4 D dan kondisi pencahayaan tidak ada yang efektif untuk menginduksi kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 2011. *Luas panen produktivitas dan produksi kedelai menurut Provinsi Jakarta*. Diunduh di http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id_subyek=53¬ab=12. tanggal 10 Juni 2011.
- Khumaida N & Handayani T. 2010. Embryogenic callus induction and proliferation on several soybean genotypes. *J. Agron Indonesia* 38(1): 19-24.
- Mulyaningsih T & Aluh N. 2004. *Faktor-faktor yang berpengaruh pada keberhasilan mikropropagasi*. Diunduh di <http://elearning.Unram.ac.id/K> tanggal 20 oktober 2008.
- Radhakrishnan dan Ranjithakumari BD. 2004. Callus induction and plant regeneration of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr. cv. CO3) via half seed explant culture. *Journal of Agricultural Technology*. 3(2): 287-297.
- Santoso U & Nursandi F. 2003. *Kultur jaringan tanaman*. Malang : Pusbitan UMM.
- Yasmien WG. 2005. *Pembentukan senyawa alkaloid kinolina dalam kultur kalus Cinchona ledgeriana (Howard) Moens pada kondisi terang dan gelap*. Diunduh di <http://www.yliti.or.id/jbptitbbi-gdl-s1-2004-nenychairu> tanggal 15 Maret 2011.
- Yelnititis. 2005. Peningkatan pembentukan embrio somatik tanaman *Shorea pinanga* Scheff. *Tesis*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.