



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI KALUS
BERBAGAI GENOTIPE CABAI (CAPSICUM SP.) SUMATERA
BARAT SECARA IN-VITRO**

SKRIPSI



**DESI RATNA SARI
07112009**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI
KALUS BERBAGAI GENOTIPE CABAI (*Capsicum sp.*)
SUMATERA BARAT SECARA *IN-VITRO***

Oleh :

DESI RATNA SARI
07112009

SKRIPSI

**SEBAGAI SALAH SATU SYARAT
UNTUK MEMPEROLEH GELAR
SARJANA PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

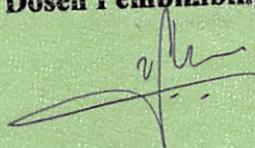
**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI
KALUS BERBAGAI GENOTIPE CABAI (*Capsicum sp.*)
SUMATERA BARAT SECARA *IN-VITRO***

Oleh :

DESI RATNA SARI
07 112 009

MENYETUJUI :

Dosen Pembimbing I



Dr. Yusniwati, SP. MP
NIP. 19701217 2000 122 001

Dosen Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS
NIP. 19620209 198903 1 002

**Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**

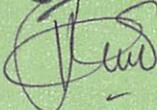
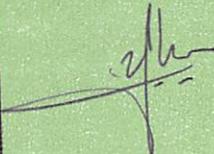
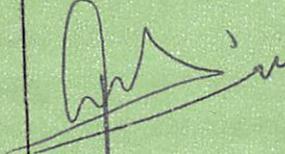



Prof. Ir. Ardi, MSc
NIP. 19531216 198003 1 004

**Ketua Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**


Ir. Fevi Frizia, MS
NIP. 19630315 198712 2 001

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di Depan Sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Pada Tanggal 20 Desember 2011

No	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1	Ir. Sutoyo, MS		Ketua
2	Ir. Rida Putih, MS		Sekretaris
3	Prof. Dr. Ir. Warnita, MP		Anggota
4	Dr. Yusniwati, SP. MP		Anggota
5	Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS		Anggota



Bismillahirrahmanirrahim...

Alhamdulillahillahi'abbil'alamina...

Ku lawati

Satu sisi kehidupan

Diwarnai rintangan dan cobaan

Namun tetap ku berjaya

Dengan harapan

Masa depan yang lebih gemilang

Di bawah lindungan Yang Maha Kuasa

*Puji syukur atas segala berkah dan karamah mu Ya Allah SWT
Yang telah angkat limpahkan pada hamba.*

*Dan dengan segala kerendahan hati ananda mengucapkan
terima kasih*

*kepada Ayahanda tercinta Sudirman dan Ibunda terstayang
Perida Hannura atas segala pengorbanan, kasih sayang,
serta doa yang selalu mengiringi langkah ananda dalam
mencapai asa dan cita-cita.*

*Ananda ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibunda
Dr. Yasnawati, SP. MP dan Ayahanda Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS
selaku pembimbing yang telah memberi banyak saran, perhatian dan
bantuan untuk mencapai cita-cita ananda ini. Terima kasih kepada
saudara-saudaraku tercinta, Kak Cica yang selalu perhatian,
Adikku sayang Imel dan Gani mudah-mudahan ini menjadi motivasi
baik kalian.*

*Selanjutnya terima kasih kepada Baldo honey (Abang Irwandi)
yang selalu memberikan nasihat dalam bernikah, kepada Ibu
Ranfhyani, Kak Shorty, ibu Aisyah dan Bpk. Dr. Aprisal, SP.
MSi di Labor Kujjar, sahabat-sahabat ku BDP '07 yang tidak
bisa saya sebutkan satu persatu, Rina, Meisy, Tika, Aini, Icut..
dan teman-teman kost, Jatipudin, kak Citra, kak Inyas, kak
Ncep, Ika, Oji, Irma.. kebersamaan kita adalah bagian terindah
dalam hidupku.*

BIODATA

Penulis lahir di Bukittinggi pada tanggal 08 Desember 1988 sebagai anak kedua dari 4 orang bersaudara, dari pasangan Sudirman dan Parida Hannum. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD N 09 Pakan Kurai Bukittinggi lulus tahun 2001, dilanjutkan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 6 Bukittinggi dan lulus tahun 2004. Sekolah Lanjutan Tingkat Atas (SLTA) ditempuh di SMA N 2 Tilatang Kamang lulus tahun 2007. Pada tahun 2007 Penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas Jurusan Budidaya Pertanian Program Studi Pemuliaan Tanaman.

Padang, Desember 2011

Desi Ratna Sari

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Berbagai Genotipe Cabai (*Capsicum sp.*) Sumatera Barat Secara *In-Vitro*” dari mata kuliah Kultur Jaringan Tanaman, Program Studi Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April sampai bulan Juli 2011 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang setulusnya kepada Dr. Yusniwati, SP. MP dan Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberi petunjuk, saran dan pengarahan sehingga proposal penelitian ini dapat diselesaikan. Ucapan terimakasih kepada Ketua dan Sekretaris Jurusan Budidaya Pertanian, seluruh dosen, karyawan Fakultas Pertanian yang telah memberi dorongan, semangat, dan bantuan yang berharga selama penulis menyelesaikan proposal penelitian ini.

Harapan penulis semoga penelitian yang akan dilaksanakan ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan umumnya dan ilmu pertanian khususnya.

Padang, Desember 2011

D.R.S.

DAFTAR ISI

	<u>Halaman</u>
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Cabai	4
2.2 Kultur <i>In-vitro</i>	5
2.3 Zat Pengatur Tumbuh	9
III. BAHAN DAN METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Bahan dan Alat	11
3.3 Rancangan Percobaan	11
3.4 Pelaksanaan	12
3.5 Pengamatan	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Saat Terbentuknya Kalus	16
4.2 Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus	17
4.3 Tekstur Kalus	19
4.4 Warna Kalus	20
4.5 Bobot Kalus	22
V. KESIMPULAN DAN SARAN	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	28

DAFTAR TABEL

<u>Tabel</u>	<u>Halaman</u>
1. Saat terbentuknya kalus (hst) beberapa genotipe cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D.....	16
2. Persentase eksplan yang membentuk kalus (%) beberapa genotype cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst).....	17
3. Bobot kalus (g) beberapa genotype cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D.....	22

DAFTAR GAMBAR

<u>Gambar</u>	<u>Halaman</u>
1. Tekstur kalus secara umum hasil mikroskop dengan 400 kali pembesaran yang berasal dari eksplan daun muda genotipe cabai (<i>Capsicum sp.</i>) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst)	19
2. Warna kalus putih yang berasal dari eksplan daun muda beberapa genotipe cabai (<i>Capsicum sp.</i>) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst)	20

DAFTAR LAMPIRAN

<u>Lampiran</u>	<u>Halaman</u>
1. Jadwal kegiatan percobaan dari bulan April 2011 sampai Juli 2011	28
2. Komposisi media Murashige dan Skoog.....	29
3. Denah penempatan botol kultur di Laboratorium berdasarkan RAL (faktorial).....	30
4. Tabel analisis ragam dari beberapa variabel pengamatan.....	32

PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI KALUS BERBAGAI GENOTIPE CABAI (*Capsicum sp.*) SUMATERA BARAT SECARA *IN-VITRO*

ABSTRAK

Penelitian dengan judul pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus berbagai genotipe cabai (*Capsicum sp.*) Sumatera Barat secara *in-vitro* dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Universitas Andalas, Padang. Penelitian dilakukan dari bulan April sampai Juli 2011. Tujuannya untuk mendapatkan konsentrasi 2,4-D yang terbaik untuk menginduksi kalus pada masing-masing genotipe cabai yang dicobakan.

Penelitian ini menggunakan percobaan faktorial yang dilaksanakan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah genotipe cabai terdiri dari 3 genotipe yaitu: cabai kopay dari Payakumbuh, cabai keriting dari Bukittinggi, cabai rawit dari Batusangkar. Faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D terdiri dari 5 konsentrasi yaitu: 4,00 ppm, 6,00 ppm, 8,00 ppm, 10,00 ppm dan 12,00 ppm. Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dengan uji F pada taraf nyata 5%. Apabila F hitung besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D dapat menginduksi terbentuknya kalus pada kultur tanaman cabai, tetapi kalus yang didapatkan belum memenuhi kriteria kalus yang organogenik. Pada beberapa genotipe cabai dan berbagai konsentrasi 2,4-D terbentuk kalus dengan tekstur yang remah dan berwarna putih. Sedangkan untuk bobot kalus, konsentrasi 2,4-D pada beberapa genotipe cabai belum memperlihatkan perbedaan.

Kata Kunci : *Capsicum sp.*, *in-vitro*, konsentrasi 2,4-D

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF 2,4-D ON *IN-VITRO* CALLUS INDUCTION OF VARIOUS GENOTYPES OF CHILI (*Capsicum sp.*) IN WEST SUMATERA

ABSTRACT

The study about effect of the concentration of 2,4-D on callus induction of various genotypes of chili (*Capsicum sp.*) in west Sumatera by *in-vitro* had been done at Tissue Culture Laboratory, majoring in Agricultural Cultivation, Faculty of Agriculture, Andalas University, Padang. Study has been done from April to July 2011. The aim of this study was to obtain the proper (the best) concentration of 2,4-D to induce callus on each of the tested genotypes of chili.

The study used a factorial experiment carried out according to Completely Randomized Design (CRD) with 3 replications. The first factor was 3 different genotypes of chili: kopay chili from Payakumbuh, chili curly from bukittinggi, and cayenne pepper from Batusangkar. The second factor was 5 different the concentration of 2,4-D: 4 ppm, 6 ppm, 8ppm, 10ppm, and 12 ppm. The data analysed statistically with the F test on a real level 5%. If the calculated F greater than F table, then proceed with the DNMRT test on a real level 5%.

The result showed that 2,4-D can induce the formation of callus of pepper plants but the resulting callus still not organogenic. On some pepper genotypes and various concentrations of 2,4-D callus produced with a crust texture and white colour. Where as for callus weight, concentration of 2,4-D on some pepper genotypes do not show any differences.

Key words: Capsicum sp., in-vitro, consentration 2,4-D

I. PENDAHULUAN

Tanaman cabai (*Capsicum sp.*) merupakan tanaman hortikultura semusim yang dapat dikonsumsi baik sebagai rempah maupun untuk sayuran. Daya tarik pengembangan budidaya cabai bagi petani terletak pada nilai ekonominya yang tinggi. Hal ini dapat dilihat bahwa dari waktu ke waktu permintaan produk cabai cenderung meningkat. Hal ini terbukti dalam tahun-tahun terakhir ini, cabai termasuk komoditas sayuran segar yang diekspor Indonesia, yakni bersama-sama dengan bawang merah, tomat, kentang, dan kubis (Kardinan, 2002).

Tanaman cabai mempunyai nilai ekonomi yang tinggi, selain itu cabai juga memiliki beberapa manfaat kesehatan karena mengandung berbagai macam senyawa yang berguna bagi manusia. Setiadi (1991) melaporkan cabai mengandung vitamin C yang berfungsi untuk menjaga tubuh dari serangan radikal bebas, serta zat *capsaicin* yang berfungsi dalam pengendalian penyakit kanker. Zat *capsaicin* tersebut terdapat dalam plasenta buah cabai yang memiliki rasa pedas. Karena rasanya yang pedas di Sumatera Barat cabai sangat penting sekali dalam bumbu masakan, tidak masakan minang namanya kalau tidak pedas. Oleh sebab itu cabai banyak dibudidayakan oleh petani.

Pembudidayaan tanaman cabai terdapat permasalahan yang salah satunya adalah serangan virus yang dapat merusak dan mematikan tanaman cabai (Setiadi, 1991). Untuk mencegah serangan virus tersebut, para peneliti mencoba untuk membuat tanaman yang resisten terhadap serangan virus yaitu dengan mentransfer gen resisten pada tanaman cabai melalui kultur kalus dengan eksplan daun muda, karena selnya masih muda dan belum terorganisir sehingga memudahkan kita untuk memasukkan suatu gen ke dalamnya.

Kalus adalah suatu kumpulan sel amorphous yang terdiri dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus-menerus. Dalam keadaan *in-vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikroorganisme *Agrobacterium tumefaciens*; gigitan atau tusukan serangga dan nematoda. Dalam hal kalus sebagai akibat serangan bakteri *Agrobacterium tumefaciens*, sering disebut serangan tumor. Kalus juga dapat terbentuk sebagai akibat stress (George dan Sherrington, 1984).

Diharapkan kultur kalus dapat memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Sel-sel penyusun kalus adalah sel-sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Kalus dapat diinisiasi menjadi organ, embrio somatik dan sumber variasi somaklonal yang sangat bermanfaat bagi pemuliaan tanaman.

Pembentukan kalus dalam kultur *in-vitro* tergantung pada komposisi media, eksplan yang digunakan dan zat pengatur tumbuh (Wattimena, 1991). Kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril, di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang sitokinin.

Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sering dipakai dalam kultur jaringan. Golongan auksin yang sering dipakai adalah 2,4-Diklorofenoksiasetat acid (2,4-D), Indol Acetat Acid (IAA), Naftalen Acetat Acid (NAA) dan Indol Butirid Acid (IBA), sedangkan golongan sitokinin adalah kinetin, zeatin dan Benzyl Amino Purin (BAP) (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Jenis auksin yang paling sering digunakan untuk induksi kalus adalah 2,4-Diklorofenoksiasetat acid (2,4-D) karena aktifitasnya yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kultur kalus (Budiani tahun 1993 *cit.* Rismayanti, 2004). Selain itu, 2,4-D juga memiliki sifat yang lebih stabil dan tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan tanaman maupun oleh pemanasan waktu sterilisasi eksplan.

Keberhasilan dalam percobaan-percobaan kultur jaringan telah banyak dengan menggunakan zat pengatur tumbuh golongan auksin saja tanpa penambahan sitokinin (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Dari hasil penelitian yang dilakukan Amelia (2010), pemberian konsentrasi 4,0 mg/l 2,4-D merupakan konsentrasi yang baik terhadap munculnya kalus kentang.

Beberapa komponen termasuk hormon tumbuh yang digunakan dalam media induksi mempunyai peranan terhadap perkembangan jaringan kalus. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa penggunaan hormon 1 mg/l 2,4 D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin pada media MS lebih cocok untuk merangsang pembentukan kalus cabai merah keriting (Dewi dan Dwimahyani, 2006).

Berdasarkan hal di atas maka penulis telah melakukan percobaan dengan judul **“Pengaruh Konsentrasi 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Berbagai Genotipe Cabai (*Capsicum sp.*) Sumatera Barat Secara *In-vitro*”**. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi 2,4-D yang terbaik untuk menginduksi kalus pada masing-masing genotipe cabai yang dicobakan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cabai

Cabai adalah tanaman anggota genus *Capsicum*. Buahnya dapat digolongkan sebagai sayuran maupun bumbu, tergantung bagaimana digunakan. Tanaman cabai diduga berasal dari salah satu Negara Amerika yaitu Peru. Oleh pedagang Portugis dan Spanyol, cabai diintroduksi ke Asia pada abad ke-16, dan spesies cabai pedas tersebar luas di Asia Tenggara karena buah cabai yang pedas dapat digunakan sebagai penguat rasa makanan. Cabai masuk ke Indonesia diperkirakan dibawa oleh saudagar-saudagar dari Persia ketika singgah di Indonesia dan daerah-daerah Asia lainnya (Kusandriani, 1992).

Setiadi (1991) melaporkan bahwa lebih dari 100 spesies *Capsicum* telah diidentifikasi, lima spesies diantaranya telah dibudidayakan, yaitu *C. annum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens* dan *C. baccatum*. Klasifikasi spesies-spesies ini berdasarkan pada karakter morfologi, terutama morfologi bunga. Bunga tanaman cabai bervariasi, namun memiliki bentuk yang sama, yaitu berbentuk bintang (Anteridae). Penyerbukan tanaman cabai biasanya dibantu oleh angin atau lebah. Buah cabai merupakan bagian tanaman cabai yang paling banyak dikenal dan memiliki banyak variasi.

Daun tanaman cabai bervariasi menurut spesies dan variasinya. Ada daun yang berbentuk oval, lonjong, bahkan ada yang lanset. Tanaman cabai merupakan tanaman perdu dengan batang tidak berkayu. Biasanya batang akan tumbuh sampai ketinggian tertentu, kemudian membentuk banyak percabangan. Tanaman cabai memiliki akar serabut, biasanya terdapat bintil-bintil akar yang merupakan hasil simbiosis dengan beberapa mikroorganisme (Sunaryono, 2000).

Famili *Solanaceae* ini merupakan tanaman yang mudah ditanam di dataran rendah maupun dataran tinggi. Pada umumnya cabai dapat ditanam sampai ketinggian 200 m dari permukaan laut. Jenis cabai tertentu dapat tumbuh pada ketinggian tertentu untuk dapat tumbuh optimal. Cabai dapat beradaptasi baik pada temperatur 24-27°C dengan kelembaban yang tidak terlalu tinggi (Kusandriani, 1992).

Genotipe cabai lokal Sumatera Barat diantaranya adalah cabai kopay yang merupakan varietas baru dari Payakumbuh, ukurannya lebih panjang dari cabai biasanya serta lebih tahan terhadap hama (Muslim, 2008). Selain itu ada juga cabai lokal Sumatera Barat yang terdapat di Bukittinggi, cabai ini lebih dikenal sebagai cabai kampung, memiliki bentuk yang kecil dan halus tetapi mempunyai rasa yang lebih pedas. Di Batusangkar juga terdapat genotipe cabai lokal yaitu cabai rawit yang memiliki warna yang lebih hijau pada saat muda dan langsung berubah warna menjadi merah saat tua serta memiliki rasa yang sangat pedas.

Salah satu kendala utama dalam produksi cabai di Indonesia adalah adanya serangan virus Gemini. Akibat dari permasalahan tersebut mengakibatkan tanaman cabai rusak dan mati sehingga merugikan para petani. Penggunaan varietas yang resisten adalah sangat ideal karena dapat menekan biaya budidayeranya (Sunaryono, 2000).

Perbaikan varietas tanaman cabai seperti ketahanan terhadap penyakit dapat dilakukan melalui aplikasi teknologi mutasi dan kultur jaringan, sehingga akan memberikan nilai tambah untuk program pemuliaan. Dalam rangka kegiatan pemuliaan tanaman cabai, keragaman genetik merupakan hal yang sangat penting. Dalam kaitan tersebut, maka diperlukan ketersediaan sumber plasma nutfah yang dapat diperoleh baik secara koleksi maupun introduksi, terutama dalam usaha meningkatkan kualitas dan kuantitas produksi cabai secara optimal (Bennet, 1993).

2.2 Kultur *In-Vitro*

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap kembali. Kultur jaringan memiliki beberapa tujuan, diantaranya menciptakan tanaman baru yang bebas penyakit, memperbanyak tanaman yang sukar diperbanyak secara seksual, dan menghasilkan tanaman baru sepanjang tahun (Gunawan, 1988).

Kultur jaringan menggunakan dasar teori sel seperti yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yang menyatakan bahwa sel mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel dari bagian maupun sel yang

diambil, apabila diletakkan dalam lingkungan yang sesuai maka akan tumbuh menjadi tanaman yang lengkap (Nugroho dan Sugito, 1996).

Sistem perbanyakan kultur jaringan ini dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak pada waktu yang singkat. Tanaman baru yang dihasilkan mempunyai sifat-sifat keturunan dan sifat biologis yang sama dengan induknya. Budidaya jaringan ini juga memiliki keuntungan lainnya yakni sedikit tenaga, waktu dan tidak membutuhkan areal pertanaman yang luas (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Teknik kultur jaringan dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat tersebut meliputi penggunaan media yang cocok, pemilihan eksplan sebagai bahan dasar pembentukan kalus, keadaan aseptik dan pengaturan udara yang baik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Gunawan (1988) menyatakan bahwa eksplan adalah bahan tanaman yang dipakai untuk perbanyakan tanaman dengan sistem kultur jaringan, tetapi sel-sel yang tidak mengalami diferensiasi lebih sukar untuk ditumbuhkan dibandingkan sel-sel meristem. Hidayat (1995) mengungkapkan pembelahan serta penggandaan sel terjadi hanya di beberapa bagian tumbuhan, yakni di tempat jaringan yang bersifat meristem dan tetap mempertahankan kemampuan untuk membelah. Oleh karena itu pemilihan eksplan yang tepat sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus sangat penting untuk mendukung kultur jaringan, karena tiap eksplan yang ditanam responnya berbeda-beda. Pada percobaan ini digunakan eksplan daun muda.

Ukuran eksplan juga menentukan keberhasilan pengkulturan. Bagian tanaman yang banyak mengandung persediaan makanan serta bahan lain untuk pertumbuhan akan semakin mudah untuk beregenerasi dibanding bagian tanaman yang kurang mengandung persediaan makanan. Namun makin besar ukuran eksplan, makin besar pula kemungkinan jaringan yang terkontaminasi. Ukuran eksplan bervariasi tergantung jenis tanamannya, umumnya ukuran eksplan yang baik berkisar antara 0,5 – 1,0 cm, apabila lebih kecil maka daya tahannya akan semakin berkurang (Katuuk, 1989).

Menginduksi kalus merupakan salah satu langkah penting dalam penerapan metode pemuliaan tanaman secara *in-vitro*, yang mana nantinya kalus yang

terbentuk dapat dideferensiasi dengan cara mengsubkulturnya pada penanaman sehingga diusahakan terbentuknya tunas dan akar. Proses mulai terbentuknya kalus sampai diferensiasi berbeda tergantung macam dan bagian tanaman yang digunakan serta zat-zat tanaman yang ditambahkan ke media (Suryowinoto, 2000).

Kalus adalah suatu kumpulan sel *amorphous* yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus-menerus. Penelitian pembentukan kalus pada jaringan terluka pertama kali dilakukan oleh Sinnott pada tahun 1960. Pembentukan kalus pada jaringan luka dipacu oleh zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin endogen (Gunawan, 1988).

Tujuan kultur kalus adalah untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus diharapkan dapat memperbanyak dirinya (massa selnya) secara terus-menerus. Sel-sel penyusun kalus berupa sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kultur jaringan, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril, di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin. Kalus mempunyai pertumbuhan yang abnormal dan berpotensi untuk berkembang menjadi akar, tunas dan embrioid yang nantinya akan dapat membentuk planlet (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Keberhasilan dalam metode kultur jaringan sangat tergantung pada media yang digunakan. Nutrisi sangat penting untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan tanaman baik secara *in-vitro* maupun *in-vivo* (Triatminingsih, Karsinah dan Wahyuni, 2000).

Gunawan (1988) menyatakan bahwa media kultur *in-vitro* tersusun dari beberapa atau seluruh komposisi berikut: hara makro dan mikro dalam jumlah perbandingan tertentu, vitamin-vitamin, gula, asam amino dan N organik, dapat pula berupa persenyawaan kompleks alamiah seperti air kelapa, arang aktif, zat pengatur tumbuh, bahan pematid dan lain sebagainya. Unsur makro yang mutlak dibutuhkan oleh tanaman untuk pertumbuhannya. Enam unsur makro yang utama untuk pertumbuhan tanaman dalam kultur *in-vitro* yaitu: N, P, K, Ca, Mg dan S. Untuk mendapatkan media yang baik untuk tanaman diperlukan keseimbangan antara ion-ion dan unsur makro tersebut (George dan Sherrington, 1984).

Hendaryono dan Wijayani (1994) mengemukakan bahwa media padat yang digunakan untuk memperoleh kalus dan kemudian dengan media diferensiasi yang berguna untuk menumbuhkan akar serta tunas, sehingga kalus dapat tumbuh menjadi planlet. Media yang mengandung semua komponen kimia yang dibutuhkan oleh tanaman dipadatkan dengan penambahan agar.

Agar merupakan campuran polisakarida dengan berat molekul yang tinggi dan mempunyai kemampuan sebagai pematat (George dan Sherrington, 1984). Kelebihan dari sifat dari agar ini adalah mampu membeku pada suhu 45 °C dan mencair diatas suhu 100 °C sehingga agar dalam keadaan beku yang stabil termasuk pada suhu pertumbuhan kalus, tidak tercerna oleh enzim tanaman, tidak bereaksi dengan senyawa penyusun media. Pada kultur *in-vitro* dikenal banyak jenis media penanaman. Media Murashige dan skoog umumnya digunakan untuk hampir semua kultur *in-vitro*. Karena unsur-unsur makro dalam media MS pada umumnya juga mendukung kultur tanaman lainnya (Gunawan, 1988).

Santosa, Djazuli dan Marjono (1993) menyatakan media sebagai salah satu hal pendukung keberhasilan perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan yang memerlukan komposisi nutrisi yang tepat. Suatu jenis tanaman mempunyai kecocokan terhadap suatu jenis media yang belum tentu cocok pada media yang lainnya. Pada tanaman cabai digunakan media MS.

Vitamin yang sering digunakan dalam media kultur *in-vitro*, pada konsentrasi tertentu dapat menunjang perkembangan sel. Vitamin yang sering diberikan dalam media kultur jaringan adalah: thiamine-HCl, vit B6, asam nikotinat, niacin dan pyridoxine-HCl (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Menurut Wattimena, Gunawan, Mattjik, Syamsudin, Wiendi dan Ernawati (1992), keberhasilan kultur jaringan sangat tergantung dari zat pengatur tumbuh atau hormon yang digunakan. Abidin (1993) berpendapat bahwa di dalam dunia pertumbuhan, zat pengatur tumbuh mempunyai peranan dalam pertumbuhan dan perkembangan untuk kelangsungan hidupnya. Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang rendah dapat mempengaruhi proses-proses fisiologis dari tanaman terutama proses pertumbuhan, diferensiasi, dan perkembangan tanaman. Penggunaan dari auksin akan mendorong primordial akar dan jika konsentrasi auksin relatif tinggi akan menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar tetapi

mampu meningkatkan jumlah akar. Sedangkan peranan sitokinin pada tanaman akan mendorong terjadinya pembelahan sel.

2.3 Zat Pengatur Tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan kultur jaringan, dimana merupakan agen yang mengatur arah pertumbuhan dan pengembangan tanaman disamping lingkungan. Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara kultur jaringan dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari ZPT, baik yang bersifat eksogen (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Heddy (1996) menyatakan zat pengatur tumbuh ini dibedakan menjadi dua, yaitu zat pengatur tumbuh eksogen yang merupakan senyawa yang berasal dari luar tumbuhan dan zat pengatur tumbuh endogen sering disebut dengan hormon, merupakan senyawa yang dihasilkan dalam tumbuhan itu sendiri. Lebih lanjut Wattimena *et al.* (1991) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh yaitu auksin, sitokinin, giberalin, asam absisik, retardan dan etilen.

Zat pengatur tumbuh yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah golongan auksin dan sitokinin. Golongan auksin yang sering dipakai adalah 2,4-Diklorofenoksiasetat acid (2,4-D), Indol Acetat Acid (IAA), Naftalen Acetat Acid (NAA) dan Indol Butirid Acid (IBA), sedangkan golongan sitokinin adalah kinetin, zeatin dan Benzil Amino Purin (BAP) (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Wattimena *et al.* (1992) menyatakan auksin sangat luas digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Auksin dapat meningkatkan Adenosin difosfat (ADP) dan Adenosin trifosfat (ATP) yang dapat mengakibatkan pembesaran dan pengembangan sel meningkat. Hendaryono dan Wijayani (1994) menambahkan bahwa pengaruh rangsangan auksin terhadap jaringan berbeda-beda. Di dalam jaringan bersama sitokinin, auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan. Pada pemberian auksin dengan kadar yang cukup tinggi diferensiasi kalus cenderung kearah pembentukan primordia akar.

Pemberian konsentrasi dan jenis auksin ditentukan oleh beberapa faktor, yakni : (a) tipe pertumbuhan dan perkembangan yang dikehendaki seperti kalus,

akar tunas, regenerasi dinding sel dan lain-lain. (b) Tingkat taraf auksin di dalam eksplan pada waktu eksplan diambil. (c) Kemampuan jaringan yang dikulturkan untuk mensintesis auksin secara alamiah. (d) Interaksi antara auksin yang diberikan secara eksogen dan endogen (Wattimena *et.*, 1991).

Auksin jenis 2,4-D yang mempunyai sifat lebih stabil dari pada IAA dan tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau oleh pemanasan saat sterilisasi. Dari hasil penelitian yang dilakukan Amelia (2010), pemberian konsentrasi 4,0 mg/l 2,4-D merupakan konsentrasi yang baik terhadap munculnya kalus kentang.

Beberapa komponen termasuk hormon tumbuh yang digunakan dalam media induksi mempunyai peranan terhadap perkembangan jaringan kalus. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa penggunaan hormon 1 mg/l 2,4 D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin pada media MS lebih cocok untuk merangsang pembentukan kalus cabai merah keriting (Dewi dan Dwimahyani, 2006).

Lingkungan tempat tumbuh juga menentukan keberhasilan selain ukuran eksplan. Lingkungan tempat tumbuh yang utama adalah cahaya dan suhu ruang kultur. Cahaya dibutuhkan untuk morfogenesis dan embriogenesis. Morfogenesis adalah proses terbentuknya struktur tertentu, seperti akar atau tunas. Sedangkan embriogenesis adalah proses pembentukan embriosomatik, embrio yang terbentuk bukan dari zigot tetapi dari sel biasa dari tumbuhan (Gunawan, 1987).

Kultur jaringan memiliki pertumbuhan yang berbeda tergantung pada tipe lingkungan dimana jaringan tanaman tersebut ditumbuhkan, intensitas, kualitas, lamanya penyinaran, temperatur, oksigen, karbondioksida dan konsentrasi gas-gas lain dan juga komposisi dari media memegang peranan penting dalam morfogenesis tersebut (Tisserat, 1985 *cit* Amelia, 2010).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Percobaan ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas Padang. Kegiatan ini telah dilaksanakan selama 4 bulan dari bulan April sampai bulan Juli 2011 (Lampiran 1).

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah daun muda cabai dengan berbagai genotipe yakni cabai kopay yang diambil dari Payakumbuh, cabai keriting yang diambil dari Bukittinggi, dan cabai rawit dari Batusangkar. Daun muda yang diambil adalah daun pertama setelah kotiledon. Daun muda tersebut dipotong dua, dan yang diambil hanya bagian pangkalnya saja dengan mengikut sertakan petiolnya, sedangkan bagian ujungnya tidak diambil. Dasar pengambilan eksplan untuk kultur kalus ini adalah bahwa daun muda merupakan bagian dari jaringan meristem yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah. Media yang digunakan adalah media MS, komposisi media dapat dilihat pada (Lampiran 2), 2,4-D dengan berbagai konsentrasi yang digunakan, sukrosa, agar *powder* pematik, alkohol 70%, NaOCl, detergen, *aquades*, zat desinfektan *Natrium hipoklorit* (Bayclin), NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N.

Alat yang digunakan meliputi botol kultur, *autoclave*, timbangan analitik, *Petri dish*, gunting, pinset, gelas piala, gelas ukur, corong gelas, oven, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *aluminium foil*, plastik isolasi, lampu spiritus, scalpel, selotip bening, kompor gas, *erlenmeyer*, pH meter, *hand sprayer*, kamera digital, lemari pendingin dan rak kultur yang dilengkapi dengan pencahayaan 4000 lux sebagai sumber penerangan.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan yang dipakai dalam percobaan ini adalah Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah eksplan beberapa genotipe cabai yang terdiri dari 3 genotipe, yaitu :

A1 = Cabai Kopay Payakumbuh

A2 = Cabai Keriting Bukittinggi

A3 = Cabai Rawit Batusangkar

Sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 5 konsentrasi, yaitu :

B1 = Konsentrasi 2,4-D 4,00 ppm

B2 = Konsentrasi 2,4-D 6,00 ppm

B3 = Konsentrasi 2,4-D 8,00 ppm

B4 = Konsentrasi 2,4-D 10,00 ppm

B5 = Konsentrasi 2,4-D 12,00 ppm

Dengan 2 faktor tersebut maka didapatkan 15 perlakuan, setiap perlakuan diulang 3 kali, sehingga didapatkan 45 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdapat 4 sampel botol kultur, sehingga jumlah botol kultur yang digunakan ada 180 botol. Pada masing-masing botol kultur ditanam 1 eksplan dan semua populasi diamati. Penempatan masing-masing perlakuan secara acak dan denah percobaan dapat dilihat pada Lampiran 3. Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dan bila berbeda nyata, dilanjutkan dengan DNMRT pada taraf 5%.

3.4 Pelaksanaan

3.4.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan seperti *Petri dish*, botol kultur, gunting, pinset dan peralatan lainnya dicuci dengan deterjen dan dibilas hingga bersih, selanjutnya botol direndam dengan *natrium hipoklorit* selama 24 jam setelah itu dibilas hingga bersih. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C, setelah tercapai tekanan tersebut maka akan dipertahankan selama 15 menit. Alat-alat lain selain botol kultur dibungkus dengan kertas stensil sebelum dimasukkan ke dalam *autoclave*. Alat-alat yang tidak langsung digunakan setelah disterilisasi disimpan dalam oven tetap dalam keadaan terbungkus dengan kertas stensil pada suhu 80°C sampai waktu digunakan. *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) disemprot dengan alkohol 70% setiap kali digunakan dan kemudian disterilisasi dengan menyalakan lampu UV selama 30 menit setiap akan digunakan.

3.4.2. Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah media MS (Lampiran 2). Zat kimia penyusun dibagi menjadi beberapa larutan stok (A, B, C, D, E dan F) berdasarkan jenis garamnya. Larutan ditempatkan pada botol yang terpisah. Dalam larutan stok ini takaran dipekatkan, sehingga pada saat pembuatan media tanam, hanya memipet sejumlah volume tertentu sesuai dengan takaran yang diperlukan.

Total media yang dibuat sebanyak 7,5 L dimana masing-masing media perlakuan dibagi menjadi 500 ml. Tahap pertama pembuatan media adalah dipipet unsur hara (A sampai F), *myo-inositol* serta vitamin sesuai dengan takaran (Lampiran 2), ditambahkan *aquades* dan cukupkan volume 3000 ml. Kemudian media dibagi 15 ke dalam gelas piala volume 500 ml dengan volume masing-masing 200 ml. Lalu dipipet larutan 2,4-D sesuai perlakuan dan diukur pH media sampai 5,8. Jika pH kurang dari 5,8 digunakan beberapa tetes NaOH 0,1 N dan digunakan HCl 0,1 N jika pH lebih dari 5,8.

Setelah itu ditambahkan agar padat 4 g, sukrosa 15 g dan ditambahkan *aquades* sampai volume 500 ml. Setiap campuran media yang telah dibuat diberi label sesuai dengan perlakuan. Larutan media dimasak sampai mendidih. Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 10 ml tiap botolnya dan ditutup dengan plastik kaca dan diikat dengan karet gelang.

Media yang telah ditutup disterilkan dalam *autoclave* pada tekanan 15 psi dengan suhu 121° selama 15 menit. Media yang telah disterilkan dikeluarkan dan diletakkan dalam ruang inkubasi selama satu minggu untuk melihat keberhasilan sterilisasi. Media yang terkontaminasi harus segera dikeluarkan dari ruang inkubasi agar tidak menyebar ke media lainnya.

3.4.3 Perkecambahan Benih *In-vitro*

Buah cabai yang terpilih dari masing-masing genotipe dibersihkan dengan air. Setelah bersih buah cabai tersebut dibawa ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Pada saat akan melakukan perkecambahan buah cabai tersebut dibakar dengan api, tidak sampai gosong tetapi hanya untuk menghindari adanya kontaminasi yang terbawa oleh buah cabai. Kemudian benih diambil dari dalam buah dengan cara membelah buah tersebut. Benih dikecambahkan secara *in-vitro* pada media MS, tanpa zat pengatur tumbuh.

3.4.4. Induksi Pembentukan Kalus dari berbagai Genotipe

Kecambah yang telah berumur 23 hari dikeluarkan dari botol dan diambil daun mudanya. Eksplan tersebut dilukai dengan scalpel, lalu ditanam pada media induksi kalus satu potongan tiap botolnya. Potongan dikulturkan selama 2 minggu pada suhu 22°C dibawah pencahayaan 4000 lux sehingga membentuk kalus (Yusniwati, 2008). Media yang digunakan yaitu MS dengan berbagai perlakuan konsentrasi 2,4-D.

3.4.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi menjaga kebersihan, memisahkan eksplan atau media yang terkontaminasi oleh mikroorganisme dari ruangan inkubasi. Penyemprotan ruang kultur dan botol-botol kultur dilakukan setiap hari dengan alkohol 70% untuk menjaga kondisi lingkungan tetap aseptik. Suhu ruang inkubasi diatur sama, baik siang maupun malam pada suhu 22 °C dan kelembaban 85%. Pencahayaan diatur dengan menggunakan lampu neon 4000 lux secara terus-menerus.

3.5 Pengamatan

3.5.1. Saat Terbentuknya Kalus

Kalus dinyatakan telah mulai terbentuk apabila pada salah satu populasi sampel telah muncul atau tumbuh kalus. Cara perhitungannya adalah dengan menjumlahkan hari-hari setiap eksplan yang membentuk kalus dibagi dengan jumlah eksplan yang membentuk kalus pada setiap satuan percobaan.

3.5.2. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Pengamatan dilakukan pada minggu terakhir yaitu 10 mst. Persentase eksplan yang membentuk kalus dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ eksplan yang membentuk kalus} = \frac{\sum \text{eksplan yang membentuk kalus}}{\sum \text{eksplan yang dikulturkan}} \times 100\%$$

3.5.3 Tekstur Kalus

Tekstur kalus diamati secara visual. Menurut Yusniwati (2008) tekstur kalus yang baik adalah kalus yang bertekstur remah. Pengamatan juga menggunakan mikroskop untuk memperjelas gambar hasil pengamatan. Hasil Pengamatan

didokumentasikan menggunakan kamera digital. Data yang diambil dijelaskan secara deskriptif.

3.5.4 Warna Kalus

Warna kalus yang terbentuk pada umumnya berwarna putih, kuning atau kuning kehijauan. Pengamatan dilakukan secara visual setiap hari setelah tanam. Hasil Pengamatan didokumentasikan menggunakan kamera digital. Pengamatan dilakukan menggunakan *color chart* dan data dijelaskan secara deskriptif.

3.5.5 Bobot Kalus

Pengamatan bobot kalus dilakukan pada pengamatan terakhir yaitu dengan cara mengeluarkan kalus dari botol kultur kemudian dibersihkan dari media yang menempel dengan menggunakan *tissue* dan menimbanginya dengan timbangan analitik.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Saat Terbentuknya Kalus

Dari analisis ragam dapat dilihat bahwa tidak ada interaksi antara konsentrasi 2,4-D dengan berbagai genotipe cabai terhadap saat terbentuknya kalus (Lampiran 4.a). Namun pengaruh dari masing-masing faktor menunjukkan perbedaan yang nyata. Hasil saat terbentuknya kalus ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Saat terbentuknya kalus (hst) beberapa genotipe cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe Cabai	Saat Terbentuknya Kalus (hst) pada Konsentrasi 2,4-D (ppm)					Rata-rata
	4,00	6,00	8,00	10,00	12,00	
Kopay	4,67	6,17	3,75	8,67	10,33	6,72 a
Keriting	4,42	4,50	4,67	6,83	6,67	5,42 ab
Rawit	3,83	3,83	3,90	5,50	5,25	4,46 b
Rata-rata	4,31 B	4,83 B	4,11 B	7,00 A	7,42 A	

KK = 24%

Angka-angka sebaris dengan huruf besar yang sama dan selajur dengan huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada genotipe cabai kopay saat terbentuk kalus adalah (6,72 hari) yang berbeda tidak nyata dengan cabai keriting (5,42 hari) namun berbeda nyata dengan cabai rawit (4,46 hari), sehingga dapat dikatakan bahwa genotipe cabai rawit lebih cepat dalam pembentukkan kalus dibandingkan dengan genotipe cabai kopay dan cabai keriting.

Waktu pembentukan kalus dapat menentukan efektivitas induksi kalus. Induksi kalus diawali dengan membengkaknya eksplan cabai yang kemudian diikuti dengan munculnya kalus pada bagian eksplan yang mengalami pelukaan dan permukaan eksplan.

Sementara itu pada konsentrasi 2,4-D 12 ppm, kalus baru muncul pada 7,42 hari yang berbeda tidak nyata dengan konsentrasi 2,4-D 10 ppm (7,00 hari). Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 2,4-D 4 ppm (4,31 hari), 6 ppm (4,83

hari) dan 8 ppm (4,11 hari). Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah akan lebih baik dalam pembentukan kalus.

Hal ini terjadi karena pemberian 2,4-D yang berbeda akan memberikan reaksi saat terbentuknya kalus. Keberadaan 2,4-D dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan, terutama pada kecepatan menginduksi kalus. Ini disebabkan kandungan auksin pada eksplan (hormon endogen) sangat rendah untuk menginduksi kalus, sehingga pemberian 2,4-D (hormon eksogen) ke dalam media sangat membantu peningkatan jumlah auksin sehingga merespon aktivitas sel untuk menginduksi kalus. Tetapi penambahan konsentrasi 2,4-D yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan kalus.

Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan akan terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut.

4.2 Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Hasil dari sidik ragam terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus sampai umur 10 minggu setelah tanam dapat dilihat pada Lampiran 4.b. Interaksi antara faktor beberapa genotipe cabai dan berbagai konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus. Hasil persentase eksplan yang membentuk kalus ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase eksplan yang membentuk kalus (%) beberapa genotipe cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst)

Genotipe Cabai	Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%) pada Konsentrasi 2,4-D (ppm)				
	4,00	6,00	8,00	10,00	12,00
Kopay	100,00 a A	100,00 a A	79,17 b B	75,00 b B	75,00 b B
Keriting	95,83 b A	100,00 a A	100,00a A	83,30 b AB	91,67 b A
Rawit	100,00 a A	50,00 b B	58,33 b B	91,67 a A	100,00 a A

KK = 21,93%

Angka-angka sebaris dengan huruf besar yang sama dan selajur dengan huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT pada taraf nyata 5%

Pada Tabel 2 dapat dilihat, bahwa pada cabai kopay peningkatan konsentrasi 2,4-D akan mengakibatkan penurunan persentase eksplan yang membentuk kalus. Sementara itu pada cabai keriting konsentrasi 2,4-D 6 ppm dan 8 ppm memperlihatkan persentase eksplan membentuk kalus yang baik dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan pada cabai rawit konsentrasi 2,4-D 4 ppm dan 12 ppm yang menunjukkan persentase eksplan yang baik dalam pembentukan kalus.

Berdasarkan pada konsentrasi 2,4-D 4 ppm memperlihatkan bahwa genotipe cabai kopay, cabai keriting dan cabai rawit memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus. Pada konsentrasi 2,4-D 6 ppm genotipe cabai kopay dan cabai keriting memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata, namun berbeda nyata dengan genotipe cabai rawit. Sedangkan pada konsentrasi 2,4-D 8 ppm genotipe cabai kopay berbeda nyata dengan cabai keriting namun berbeda tidak nyata dengan genotipe cabai rawit. Pada konsentrasi 2,4-D 10 ppm memperlihatkan bahwa genotipe cabai kopay memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata dengan genotipe cabai keriting, namun berbeda nyata dengan genotipe cabai rawit. Pada konsentrasi 2,4-D 12 ppm genotipe cabai kopay memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata dengan genotipe cabai keriting, namun berbeda tidak nyata dengan genotipe cabai rawit.

Persentase pembentukan kalus terendah terdapat pada konsentrasi 2,4-D 6,00 ppm pada genotipe cabai rawit yaitu 50 persen. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D yang berbeda-beda akan memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap berbagai genotipe cabai yang digunakan.

Hal ini terjadi karena interaksi antara konsentrasi 2,4-D dan beberapa genotipe cabai pada medium dan hormon tumbuh endogen pada jaringan eksplan yang digunakan, dapat mengendalikan aktifitas gen. Gen akan mengatur aktifitas enzim yang akhirnya mengendalikan reaksi kimia di dalam sel, sehingga menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan (Salisbury dan Ross, 1995)

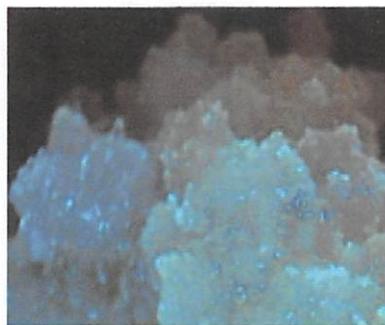
Tingginya kemampuan hidup eksplan yang ditanam karena jenis medium dan zat pengatur tumbuh yang diberikan telah memenuhi kebutuhan hidup tanaman. Medium yang digunakan untuk nutrisi eksplan tanaman cabai terdiri dari unsur-unsur makro dan mikro, sumber karbon, vitamin, asam amino dan zat

pengatur tumbuh. Kesemuanya merupakan unsur-unsur yang dibutuhkan oleh jaringan tanaman untuk meneruskan metabolisme hidup, sehingga eksplan yang ditanam masih dapat melaksanakan aktifitas untuk tumbuh dan berkembang serta tetap bertahan hidup.

Pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in-vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi zat pengatur tumbuh yang terdapat dalam eksplan, baik yang bersifat endogen maupun eksogen. Zat pengatur tumbuh endogen merupakan faktor pemacu untuk proses tumbuh dan morfogenesis eksplan baik yang membentuk kalus, tunas, akar dan planlet (Gunawan, 1988).

4.3 Tekstur Kalus

Pengamatan tekstur kalus dilakukan secara visual, yang mana menurut Yusniwati (2008) tekstur kalus yang baik adalah kalus yang bertekstur remah. Pengamatan tekstur kalus ini menggunakan mikroskop untuk membantu memperjelas hasil gambar pengamatan. Hasil pengamatan tersebut telah didokumentasikan dengan kamera digital, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa semua eksplan dari beberapa genotipe cabai yang dikultur kaluskan dengan berbagai konsentrasi 2,4-D menunjukkan tekstur kalus remah (Gambar 1). Menurut Triatmaningsih *et al.* (2000) menyatakan bahwa bentuk dan warna kalus akan menentukan arah morfogenesis selanjutnya.



Gambar 1. Tekstur kalus secara umum hasil mikroskop dengan 400 kali pembesaran yang berasal dari eksplan daun muda genotipe cabai (*Capsicum sp.*) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst).

Pada penelitian ini hanya ditemukan tekstur kalus yang remah, tidak ada terdapat satu pun kalus yang bertekstur padat. Wattimena *et al.* (1992) bahwa

pembentukan kalus atau organ pada teknik kultur *in-vitro* lebih dipengaruhi oleh genotipe sumber jaringan atau bahan yang digunakan sebagai eksplan. Kalus yang dihasilkan dari jaringan tanaman yang berasal dari varietas-varietas yang cukup dekat juga dapat berbeda dalam tekstur, warna dan kemampuan morfogenesisnya.

Salisbury dan Ross (1995) juga menyatakan bahwa tumbuhan merupakan makhluk hidup yang melakukan berbagai aktifitas agar tetap bertahan hidup, yakni dengan melakukan pengangkutan air dan bahan molekul organik serta melakukan reaksi kimia yang terjadi di dalam setiap sel hidup. Reaksi kimia tersebut mengubah air, garam mineral dan gas dari lingkungan menjadi jaringan yang terorganisasi serta berbagai organ tumbuhan.

Sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Wareing dan Philips (1981) bahwa tanggap tanaman terhadap hormon dan zat pengatur tumbuh sangatlah bervariasi tergantung pada kepekaan organ tanaman tersebut. Bekerjanya hormon tumbuh yang diberikan pada jaringan tanaman yang tanggap, akan membawa perubahan yang akibatnya dapat diukur pada pengaruh fisiologis dan morfologis tanaman. Pengaruh tersebut juga tergantung pada ekspresi genetik dan status sel-sel yang menanggapi.

4.4 Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual yang mana warna kalus yang terbentuk umumnya berwarna putih, kuning dan hijau kekuningan. Pada kalus yang diberikan perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D umumnya berwarna putih (Gambar 2).



Gambar 2. Warna kalus putih yang berasal dari eksplan daun muda beberapa genotipe cabai (*Capsicum sp.*) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (umur 10 mst).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) sel-sel muda yang sehat akan menunjukkan warna kuning bening, namun akan berubah menjadi kecoklatan seiring dengan pertumbuhan kalus yang akan semakin tua. Gunawan (1988) menambahkan bahwa kalus yang berwarna kekuningan cenderung bersifat embriogenik. Warna kalus yang berwarna kecoklatan, kehijauan atau putih cenderung tidak bersifat embriogenik. Warna hijau yang tampak pada kalus menunjukkan bahwa jaringan masih mampu untuk berdiferensiasi. Morfologi dan sifat kalus melibatkan suatu hubungan yang kompleks antara eksplan, komposisi medium, dan kondisi lingkungan kultur.

Winata (1995) menyatakan suatu eksplan yang ditanam dalam medium akan menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan tertentu. Arah pertumbuhan dan perkembangan regenerasi ditentukan oleh beberapa hal yakni: komposisi medium dan zat pengatur tumbuh yang digunakan (jenis zat pengatur tumbuh dan konsentrasinya), serta bagian tanaman yang dijadikan eksplan dan lingkungan tempat tumbuhnya.

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah fisiologi tumbuhan (Abidin, 1993). Komposisi dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang ditambahkan ke dalam media sangat mempengaruhi arah pertumbuhan dan regenerasi eksplan yang dikulturkan. Komposisi dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang ditambahkan ke dalam media kultur sangat tergantung dari jenis eksplan yang dikulturkan dan tujuan pengkulturannya.

Menurut Hendaryono (1994) dan Fitrianti (2006) dalam kultur *in vitro* terdapat 2 golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting, yakni auksin dan sitokinin. Sandra (2010) menyatakan bahwa peranan auksin dalam aktifitas kultur jaringan sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi terjadinya kalus, menghambat kerja sitokinin membentuk klorofil dalam kalus, mendorong proses morfogenesis kalus, membentuk akar atau tunas, mendorong proses embriogenesis, dan auksin juga dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman.

Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Interaksi dan perimbangan dalam zat

pengatur tumbuh yang diberikan dalam media yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah suatu kultur. Auksin sintetik terdiri dari IAA, IBA, NAA dan 2,4-D yang merupakan auksin yang bersifat herbisida (Sandra, 2010).

Menurut Ariwahono (2010) 2,4-D adalah herbisida sistemik yang umum untuk digunakan dalam mengontrol gulma yang tumbuh dalam tanaman pertanian. Selain 2,4-D dikenal sebagai salah satu jenis auksin sintetik, 2,4-D juga merupakan jenis auksin sintesis yang sering digunakan dalam kultur jaringan (Abidin, 1993). Dalam dosis rendah 2,4-D dapat berfungsi sebagai zat pengatur tumbuh yang mampu merangsang dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hal serupa juga diungkapkan oleh Fitrianti (2006) bahwa 2,4-D adalah salah satu auksin yang berperan dalam pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman.

4.5 Bobot Kalus

Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D pada beberapa genotipe cabai, memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap bobot kalus setelah dianalisis secara sidik ragam (Lampiran 4.c). Untuk lebih jelasnya, pada Tabel 3 disajikan rata-rata bobot kalus genotipe cabai setelah diberi perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D .

Tabel 3. Bobot kalus (g) beberapa genotipe cabai dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Bobot Kalus (g) pada Konsentrasi 2,4-D (ppm)				
	4,00	6,00	8,00	10,00	12,00
Cabai					
Kopay	0,31	0,21	0,25	0,15	0,16
Keriting	0,43	0,20	0,16	0,15	0,15
Rawit	0,37	0,20	0,42	0,09	0,12
KK = 34,30%					

Dari Tabel 3 dapat kita lihat belum ada perbedaan yang nyata dari bobot kalus yang diberi perlakuan. Namun kalus pada perlakuan konsentrasi 2,4-D 4,00 ppm memperlihatkan rata-rata bobot kalus yang terbesar yaitu 0,43 g. Sedangkan

bobot kalus terendah terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi 2,4-D 10,00 ppm yaitu 0,09 g. Genotipe cabai dengan bobot kalus yang terbesar terdapat pada cabai keriting, sedangkan bobot kalus yang terkecil terdapat pada cabai rawit.

Hal ini diduga disebabkan oleh belum adanya keseimbangan antara 2,4-D yang diberikan dengan eksplan berbagai genotipe cabai, sehingga tidak mempengaruhi bobot kalus. Selain itu juga dari perlakuan tidak dapat dijamin seragam sumber eksplannya.

Setiawan (2001) menyatakan bahwa bobot kalus merupakan biomassa jaringan yaitu hasil sintesis dan kandungan air dalam jaringan, sehingga dapat dilihat peranan kandungan media, zat pengatur tumbuh yang mampu untuk mendorong pembesaran sel, dengan demikian semakin besar sel maka bobotnya akan semakin meningkat.

Pertumbuhan dan morfogenesis secara *in-vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan antara hormon tanaman yang ditambahkan pada medium (hormon eksogen) dan hormon tanaman (hormon endogen) yang dihasilkan sendiri oleh sel yang dikulturkan (George dan Sherington, 1984). Pemberian hormon eksogen akan menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesis protein dan permeabilitas sel terhadap air, serta melunakkan dinding sel yang diikuti dengan menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel dan sel akan memperbesar dan memanjang (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Auksin memberikan pengaruh terhadap aspek perkembangan eksplan, seperti perpanjangan sel dengan cara mempengaruhi metabolisme dari dinding sel. Auksin menyebabkan bahan yang dihasilkan oleh dinding sel primer ditranslokasikan ke ujung bagian tunas dan akar, akibatnya ujung tunas dan akar mengalami perpanjangan sel (Heddy, 1996).

Menurut Gunawan (1988), zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan diperlukan untuk mengendalikan dan mengatur pertumbuhan kultur tanaman. Zat ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Hal ini sejalan dengan pendapat Salisbury dan Ross (1995) yang menyatakan bahwa auksin dari jenis 2,4-D sangat efektif untuk menginduksi kalus, dimana konsentrasi yang dibutuhkan untuk setiap spesies tanaman berbeda-

beda dan pasokan hormon endogen yang bersifat auksin berbeda dalam konsentrasi yang rendah.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus beberapa genotip cabai dapat diambil kesimpulan:

1. Pemberian konsentrasi 2,4-D dan berbagai genotipe cabai yang digunakan menunjukkan tidak adanya interaksi terhadap saat terbentuknya kalus, namun masing-masing faktor memberikan pengaruh terhadap saat terbentuknya kalus.
2. Pemberian konsentrasi 2,4-D dan berbagai genotipe cabai yang digunakan menunjukkan terdapatnya interaksi dalam mempengaruhi persentase eksplan yang membentuk kalus.
3. Semua genotipe cabai dan berbagai konsentrasi 2,4-D yang digunakan dalam percobaan ini memperlihatkan kalus dengan tekstur kompak dan warna kalus adalah putih.
4. Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D pada beberapa genotipe cabai yang digunakan menunjukkan pengaruh yang tidak nyata terhadap bobot kalus.

5.2 Saran

Pemberian zat pengatur tumbuh pada media yang digunakan dapat menginduksi terbentuknya kalus pada kultur tanaman cabai, tetapi kalus yang didapatkan belum memenuhi kriteria kalus yang organogenik. Jadi diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan untuk penelitian yang lain dalam mencari konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat untuk menginduksi kalus yang organogenik pada berbagai genotipe cabai, sehingga hal tersebut dapat bermanfaat dalam merakit tanaman cabai yang resisten terhadap serangan virus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1993. Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Penerbit Angkasa. Bandung. 85 hal.
- Amelia, M. 2010. Induksi Pemberian Kalus Kentang Batang Hitam (*Solanum tuberosum* L.) Secara *In-vitro* pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D dan Bap. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Ariwahono. 2010. Uji Biologi 2,4-Diklorofenoksiasetat. <http://www.esaflora.com>. Diakses pada 28 September 2011.
- Bennet J. 1993. Gens for Crop Improvemens. Genet. Eng. 16:93-113.
- Dewi, A.K. dan Dwimahyani. 2006. Mempelajari Kultur Anther Galur Mutan Cabai Merah Keriting (*Capsicum annum* L.) Secara *In-vitro*. Peneliti Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN.
- Fitrianti, A. 2006. Efektifitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kinetin pada medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan eksplan Potongan Daun. Skripsi Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- George, E.F and P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegatics Press. New york. P 21-24.
- Gunawan, L.W 1988. Teknik kultur jaringan tumbuhan. Pusat Antar Universitas, Bioteknologi. IPB. Bogor. 252 hal.
- Heddy, S. 1996. Hormon Tumbuhan. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 97 hal.
- Hendaryono, D.P.S., dan Wijayani, A. 1994. Teknik kultur jaringan. Kanisius. Yogyakarta. 139 hal.
- Hidayat, E.B. 1995. Anatomi tumbuhan Berbiji. ITB. Bandung. 275 hal.
- Kardinan. 2002. Pestisida nabati ramuan dan aplikasi. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Katuuk, J.R.P. 1989. Teknik kultur jaringan dalam propagasi tanaman secara *in-vitro*. Departemen Pertanian dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Proyek Pengembangan Pendidikan Tinggi. Jakarta.
- Kusandriani, Y. 1992. Perbaikan varietas cabai. Skrining Varietas Cabai. Laporan Penelitian Balithort. Lembang.
- Muslim, M. 2008. Syahrul Yondri: Penemu Cabe Kopay. Diakses pada 30 Agustus 2011.
- Nugroho, A. dan Sugito, H. 1996. Pedoman pelaksanaan teknik kultur jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta. 1-3 hal.

- Rismayanti. 2004. Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Tanaman Kubis (*Brassica oleraceae* L. var *capitata* L.) secara In-vitro. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Salisbury, F.B dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid III. ITB. Bandung. 343 hal.
- Sandra, E. 2010. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Kultur Jaringan. Esha Flora.
- Santosa, B., Djazuli, dan Marjono. 1993. Modifikasi media untuk perbanyakan tanaman ubi kayu secara *in-vitro*. Dalam Majalah Risalah Penelitian. Vol : 3. Hal 59-63. Bogor.
- Setiadi. 1991. Bertanam Cabai. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Setiawan, I. 2001. Inisiasi Kalus Eksplan Daun Melinjo (*Gnetum gnemon*, L) pada Berbagai Arang Aktif Dengan Berbagai Konsentrasi BAP+NAA Secara In-vitro. [Skripsi]. Faperta Unand.
- Sunaryono, H. 2000. Budidaya cabe merah. Sinar baru Algensindo. Bandung.
- Suryowinoto, M. 2000. Pemuliaan tanaman secara in-vitro. Kanisius. Yogyakarta.
- Triatningsih, R. Karsinah dan D. Wahyuni. 2000. Kultur Jeruk Nipis Terhadap Keberhasilan Embriogenesis Somatik. Bahan Seminar Nasional II Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia. Yogyakarta.
- Wattimena, N.M. Ansori, Sjamsudin, Armini. 1991. Bioteknologi tanaman. Pusat Antar Universitas, Bioteknologi. IPB. Bogor. 512 hal.
- _____, G.A ; L.W. Gunawan; Mattjik; A. Syamsudin; Wiendi dan Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman. PAU IPB. Bogor. 507 hal.
- Wareing, P.F. and I.D.J. Philips. 1981. Growth and differentiation in plant. Pergamon Press Tokyo. 342 p.
- Winata, L.G. 1995. Teknik kultur in vitro dalam hortikultura. Penebar Swadaya. Jakarta. 115 hal.
- Yusniwati. 2008. Studi Regenerasi Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum annum* L) untuk Regenerasi Genetika. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. [Artikel Ilmiah, 15 hal].

Lampiran 1. Jadwal kegiatan percobaan dari bulan April 2011 sampai Juli 2011

No.	Kegiatan	Minggu ke-																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1.	Persiapan alat dan bahan																	
2.	Sterilisai alat																	
3.	Pembuatan media																	
4.	Persiapan eksplan																	
5.	Penanaman																	
6.	Pemeliharaan																	
7.	Pengamatan																	
8.	Pengolahan data																	

Lampiran 2. Komposisi media Murashige dan Skoog

Kode Stok	Senyawa	Konsentrasi dalam medium (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	1650
B	KNO ₃	1900
C	H ₃ BO ₃	6,2
	KH ₂ PO ₄	170
	KI	0,83
	NA ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
	CoCl ₂ .2H ₂ O	0,025
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
E	MgSO ₄ .4H ₂ O	370
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
F	Na ₂ -EDTA	37,3
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
	Thiamin-HCl	0,1
	Nicotinic acid	0,5
	Pyridoxin-HCL	0,5
	Glycine	2,0
	Myo-inositol	100

Lampiran 3. Denah penempatan botol kultur di Laboratorium berdasarkan RAL (Faktorial)

a ₃ b ₁ 0000 II	a ₂ b ₅ 0000 III	a ₂ b ₁ 0000 I
a ₁ b ₁ 0000 III	a ₃ b ₄ 0000 I	a ₂ b ₂ 0000 III
a ₃ b ₅ 0000 II	a ₂ b ₄ 0000 III	a ₁ b ₃ 0000 I
a ₃ b ₄ 0000 III	a ₁ b ₄ 0000 II	a ₂ b ₃ 0000 I
a ₃ b ₂ 0000 III	a ₂ b ₅ 0000 I	a ₂ b ₂ 0000 II
a ₁ b ₅ 0000 II	a ₁ b ₂ 0000 III	a ₂ b ₅ 0000 II
a ₃ b ₃ 0000 II	a ₃ b ₅ 0000 I	a ₁ b ₂ 0000 I
a ₁ b ₅ 0000 I	a ₁ b ₁ 0000 II	a ₂ b ₁ 0000 III
a ₁ b ₃ 0000 II	a ₂ b ₄ 0000 I	a ₃ b ₂ 0000 II
a ₃ b ₁ 0000 III	a ₃ b ₃ 0000 I	a ₃ b ₅ 0000 III
a ₂ b ₃ 0000 II	a ₃ b ₃ 0000 III	a ₁ b ₄ 0000 I
a ₁ b ₅ 0000 III	a ₁ b ₂ 0000 II	a ₃ b ₁ 0000 (I)

a_2b_2 0000 I	a_3b_4 0000 II	a_1b_4 0000 III
a_1b_1 0000 I	a_2b_3 0000 III	a_3b_2 0000 I
a_2b_1 0000 II	a_1b_3 0000 III	a_2b_4 0000 II

Keterangan :

A_xb_y = Perlakuan
0000 = Jumlah botol
I, II, III = Ulangan

Lampiran 4. Tabel analisis ragam dari beberapa variable pengamatan

a. Saat terbentuknya kalus (mst)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. hit	F. tabel 5%
Faktor A	2	38,275	19,14	4,01 *	3,22
Faktor B	4	87,46	21,865	4,58 *	2,69
Interaksi AB	8	29,385	191,615	0,77 ^{tn}	2,27
Sisa	30	143,205	4,77		
Total	44	298,325			
KK = 24%					

*) = berbeda nyata

^{tn} = berbeda tidak nyata

b. Persentase eksplan yang membentuk kalus (%)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. hit	F. tabel 5%
Faktor A	2	1520,83	760,42	12,17 *	3,22
Faktor B	4	2034,72	508,68	8,14 *	2,69
Interaksi AB	8	7506,95	938,37	15,01 **	2,27
Sisa	30	1875	62,5		
Total	44	12937,5			
KK = 21,93%					

*) = berbeda nyata

***) = berbeda sangat nyata

c. Bobot Kalus (g) (Data ditransformasi dengan rumus log y)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. hit	F. tabel 5%
Faktor A	2	0,07	0,04	0,24 ^{tn}	3,22
Faktor B	4	1,04	0,26	1,53 ^{tn}	2,69
Interaksi AB	8	1,46	0,18	1,06 ^{tn}	2,27
Sisa	30	5,18	0,17		
Total	44	7,75			
KK = 34,30%					

*) = berbeda tidak nyata