



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 NAA DAN BAP TERHADAP REGENERASI KALUS  
KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) HASIL INDUKSI MUTASI  
ETHYL METHANE SULPHONATE (EMS)**

**SKRIPSI**



**RIWAHYU WARTINA  
07111056**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

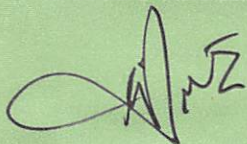
**PENGARUH NAA DAN BAP TERHADAP REGENERASI  
KALUS KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) HASIL INDUKSI  
MUTASI ETHYL METHANE SULPHONATE (EMS)**

**OLEH**

**RIWAHYU WARTINA**  
**07111056**

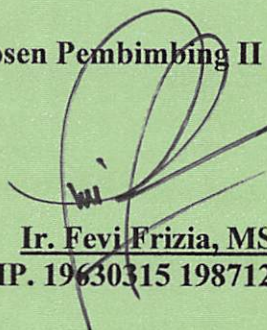
**MENYETUJUI :**

**Dosen Pembimbing I**





**Prof. Dr. Ir. Warnita, MP**  
**NIP. 196401011989112001**

**Dosen Pembimbing II**



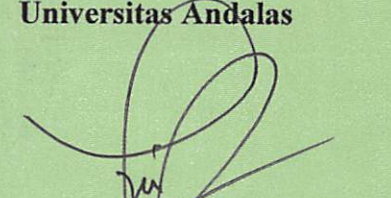
**Ir. Fevi Frizia, MS**  
**NIP. 19630315 198712 2 001**

**Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Andalas**







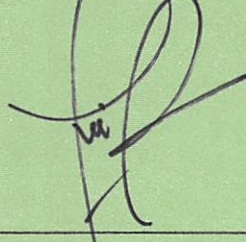
**Prof. Ir. Ardi, MSc**  
**NIP. 19531216 198003 1 004**

**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 Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada tanggal 03 Februari 2012.

No.	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1.	Prof. Dr. Ir. Auzar Syarif, MS		Ketua
2.	Prof. Dr. Ir. Zulfadly Syarif, MS		Sekretaris
3.	Prof. Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS		Anggota
4.	Prof. Dr. Ir. Warnita, MP		Anggota
5.	Ir. Fevi Frizia, MS		Anggota



"Allah SWT memberikan ujian berupa kegagalan dan kehilangan kepada kita untuk mengajarkan hikmah kepada kita. Mungkin, kegagalan, masalah, dan lingkungan yang tidak menyenangkan adalah sebagian dari skenario Allah SWT dalam membina diri kita"

Bismillahirrahmanirrahim.....

Alhamdulillah rabbill'alamin..... sujud syukurku kepada Allah SWT. Akhirnya hamba bisa menyelesaikan karya kecil ini. Karya ini ku persembahkan kepada orang-orang yang bermakna dalam hidup ini.. kepada Ibunda ku (Erni Wati), wanita hebat yang ku panggil umi. Nama mu akan slalu ada didalam hatiku dan ku eja dalam setiap doaku.. Terimakasih umi telah mendidik & membesarkanku dg penuh kasih sayang tanpa henti, semoga Allah membalas semua kebaikan hatimu Umi. Terima kasihku kepada laki-laki teristimewa dihidup ku ini untuk Ayahanda (Anwar) dalam lantunan doa ku berharap semoga Ayah bahagia disana, banyak pelajaran yg sngat berarti yg Ayah tinggalkan untukku dan ajaran mu ku jadikan panutanku dalam menjalani hari2 ku... walau Ayah tak hadir & mendampingiku ketika menggunakan toga dihari wsuda ku nanti, namun ku yakin Ayah merasakan kebahagiaan yg kurasakan saat ini... semoga kita kan dipertemukan kembali di alam mu nanti.. Amiin.  
Miss u Ayah..

Terima Kasih ku teruntuk kakak ku tercinta Ari Warti Wahyuri, S.Pd... terima kasih tll mjg kakak yg baik dikehidupanku, terima kasih tuk bantuan, semangat & supportnya, semoga Allah SWT membalas semua kebaikan mu.. terima kasih buat abangku Betria Dinata, abg yg mjg sosok bapak setelah kepergian Ayah dan byk ilmu yg kudapatkan darimu... untuk Da Zendrianto S.Sos terima kasih atas bantuannya dan terimakasih untuk kakak ipar ku ni Rini

.....  
Buat saudara-saudara ku winda, Cindy, Sucy, Nuri dan Mega (semoga kita menjadi orang2 sukses dan dapat membanggakan keluarga kita nantinya). Amiiinn..

Terspesial tuk anak-anak bunda "Jordan Arzen, Andin Adhana Arzen, dan AlFarzy A. Rinnata", terimakasih telah menjadi penghibur hati bunda dan membuat bunda selalu rindu pulang, rumah terasa hangat dan indah dg hadirnya kalian.. bunda doakan kalian jadi anak2 yang pintar dan berbakti tuk agama dan keluarga... buatlah papa dan mama kalian bangga  
... Love u so much...

Ku ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Dosen pembimbing, Ibunda Prof. Dr. Ir. Warita, MP dan Ibunda Ir. Fevi Frizia, MS terimakasih atas bimbingannya, sehingga aku bisa menyelesaikan skripsi ini... terimakasih kepada Ibu Dr. Yulmira Yanti, S.Si, MP terimakasih untuk waktu dan bimbingannya bu, serta Kepada seluruh dosen2 BDP dan semua Karyawan Jurusan Budidaya Pertanian.

Terima kasih ku untuk kalian sahabat-sahabatku tersayang:

Novti SP terimakasih tll mjg sahabat terbaik ku, slalu setia menemaniku tanpa lelah, tempat ku melepaskan semua cerita hari-hariku, skrg janji tu tll na tepati dan akhirnya kita bisa sama2 lempar toga juga vit hehehe. \* \* .. buat Mimi SP (terima ksh tlah mjg teman curhat dan menydi tempat ku bertanya akan ketidaktahuanku), Megi SP (smga cpt dpt jodoh yg baik yo ga, hehehe), Ayu SP (selalu nanyain penelitian dan keadaan ku, trmksh bantuannya y xulik) dan buat Wiwi SP (termksh tuk kata2 semangatnya), Franky SP (mksh bantuan edit-editnya

dan akhirnya kita sudah bareng jg, hehe) dan untuk Gustian SP (terimakasih tian dah b'sdia menjadi Dosen Rancangan RAL Faktorial, hehehe)..

Terima kasih untuk bu Aisyah, bu evi, bu ida, bu lily dan bg Ade, terima kasih atas bantuannya dalam penelitian ku ini..

Teruntuk anggota labor yan mengisi hari2 ku selama penelitian di Labor Kultur Jaringan : kak shery (semangat y kak tuk thesisnya), bu yen (terimakasih atas bantuan ibu dlm penelitian ina), tika SP (makasih dah jadi teman curhat dikala na butuh teman berbagi), Desi SP (semangat ya ci tuk kerjanya), buk yet (semangat y buk untuk S3 nya), rika, kurnadi, diana, icut, dan Aim (semangat teman2 untuk penelitian dan skripsinya, semua kan indah pada waktunya) Special tuk teman sepebimbing dan penelitanku "Meisilva Erona" (mksh dah setia menemani dan membantu ina slma penelitian ini... hehe... byk suka duka yg kita lalui slma penlitian ini,, semangat tuk komprenya y sy).

Terimakasihku untuk teman sepebimbing: Franky SP, Ario SP, Fajrin SP, Riki SP (akhirnya kita bareng jg usdanya), otun, seby, ayu lisma (cepat menyusul ya, semga skripsi nya lancar2 ya). amin...

Terimakasihku buat teman2 BDP yg tli mengisi hari2 ku selama berada dikampus UNAND ini (Anggia SP, Ledhy SP, Chaca SP, Azizah SP, Wtwik SP, Vinda, Doli SP, Tomy SP, Mukhlis SP, Aris SP, Roby, Arian, Ajha, Rezi, Efri, Eka, Iqbal, Harzuki SP, Dan untuk semua teman2 BDP Lainnya.

Anak2 kos Orange: Ayu (semangat tuk penelitiannya), adik2ku mona, fani, rani, dan ria (kak pasti rindu dg kebersamaan kita dan canda tawa kita, hehehe), Icha, tiara, Vela, Vera, Elsa, Gina, Era, Anggi, Putri, Ema, Riri, Vani dan Ragil.. (semoga sukses ya dek)

... dan terspesial buat seseorang yang kusayang "Lukman Hakim", terimakasih tuk kasih sayang, perhatian, semangat dan waktu yang diberikan kepada ku, yang telah mengajarku Arti kemudahan dibalik kesusahan, dan indah dibalik kegagalan,,, Dan terimakasih telah meulurkan tanganmu ketika ku terjatuh dan berdiri disampingku ketika ku menghadapi permasalahan yg sulit kupecahkan sendiri... Smga semua mimpi kita kan jadi kenyataan.. Amin ya Robbi.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Regenerasi Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Induksi Mutasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS).

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Hj. Warnita, MP dan Ibu Ir. Fevi Frizia, MS yang telah banyak memberikan bimbingan, saran dan arahan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Bapak dan Ibu Dosen sebagai staf pengajar, Kepala Laboratorium Kultur jaringan beserta teknisi yang telah membantu penulis selama penulisan skripsi ini. Kepada rekan-rekan seperjuangan terima kasih atas dukungannya. Penulis ucapkan terimakasih yang mendalam kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah membantu dan memotivasi penulis untuk bisa menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis mengharapkan adanya kritik dan saran dari para pembaca, agar penulisan skripsi selanjutnya menjadi lebih baik lagi. Besar harapan penulis semoga skripsi ini berguna dan bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan terutama di bidang pertanian.

**Padang, Februari 2012**

**R.W**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>ABSTRAK</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Kentang.....	5
2.2 Kultur Jaringan .....	6
2.3 Mutasi .....	10
<b>III. BAHAN METODA</b>	
3.1 Waktu dan tempat.....	13
3.2 Bahan dan alat.....	13
3.3 Rancangan Percobaan.....	13
3.4 Pelaksanaan.....	14
3.5 Pengamatan.....	17
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHSAN</b>	
4.1 Waktu Muncul Rootlet (mst) dan Jumlah Rootlet.....	19
4.2 Diameter Kalus (cm).....	20
4.3 Bobot Kalus (g).....	22
4.4 Tekstur Kalus.....	23
4.5 Warna Kalus .....	25
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	27
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	28
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b><u>Halaman</u></b>
1. Waktu Muncul Rootlet setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus tanaman kentang .....	19
2. Jumlah rootlet setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus tanaman kentang .....	19
3. Diameter kalus setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus kentang (umur 7 MST) .....	21
4. Bobot kalus setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP terhadap kalus kentang (umur 7 MST) .....	22
5. Variasi warna kalus kentang pada pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP (umur 7 MST) .....	25



## DAFTAR GAMBAR

<u>Gambar</u>	<u>Halaman</u>
1. Tekstur kalus secara umum hasil mikroskop (400 kali pembesaran) pada umur 7 MST .....	24
2. Variasi warna kalus kentang setelah pemberian NAA dan BAP .....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Jadwal pelaksanaan percobaan dari awal bulan Juli 2011 sampai Desember 2011 .....	32
2. Komposisi media Murashige dan Skoog .....	33
3. Denah penempatan botol kultur di Laboratorium berdasarkan RAL (Faktorial) .....	34
4. Deskripsi tanaman kentang batang hitam .....	35
5. Tabel analisis ragam dari beberapa variabel pengamata .....	36

# **PENGARUH NAA DAN BAP TERHADAP REGENERASI KALUS KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ETHYL METHANE SULPHONATE (EMS)**

## **Abstrak**

Percobaan tentang pengaruh NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil induksi mutasi ethyl methane sulphonate (EMS) telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada bulan Juli 2011 sampai dengan bulan Desember 2011. Tujuannya untuk mendapatkan konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik untuk menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS.

Percobaan ini disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu faktor A : konsentrasi NAA 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, dan 4,0 mg/l dan faktor B : konsentrasi BAP 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l dan 5,0 mg/l. Variabel yang diamati adalah waktu muncul rootlet dan jumlah rootlet, diameter kalus, bobot kalus, tekstur kalus dan warna kalus. Data hasil pengamatan dianalisis ragam dengan uji F, bila F hitung besar dari F tabel 5% dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test DNMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian ini didapatkan bahwa tidak ada interaksi antara NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang menjadi planlet, waktu muncul rootlet, jumlah rootlet, diameter kalus dan bobot kalus. Pemberian NAA 2,0 mg/l berpengaruh terhadap diameter kalus kentang dan pemberian NAA 3,0 mg/l berpengaruh terhadap bobot kalus kentang. Warna kalus yang dihasilkan adalah hijau keputihan, hijau kekuningan, hijau kecoklatan, putih kecoklatan, coklat dan coklat kekuningan. Tekstur kalus yang terbentuk adalah kompak.

**Kata kunci :** NAA, BAP, Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) dan EMS

**The Effect of NAA and BAP on the Callus Regeneration of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Yield of Induction Mutation Ethyl Methane Sulphonate (EMS)**

**ABSTRACT**

A study on the effect of NAA and BAP on the regeneration callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) yield of induction mutation ethyl methane sulphonate (EMS) has been conducted at the laboratory of plant tissue culture Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Andalas University from July to December 2011. The objective of this experiment was to find the best interaction of NAA and BAP to Results showed that nothing interaction between NAA and BAP on the regeneration callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) to be planlet, rootlet initiation time, callus diameter, and callus weight. promote regenerations callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) yield of induction mutation EMS.

This experiment used a completely randomized design (CRD) with 2 factor, they were factor A : interactions of NAA 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l, and 5,0 mg/l and factor B : concentrations of BAP 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l, and 5,0 mg/l. Data were analyzed using F test and Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) at 5% level.

Result showed that nothing interaction between NAA and BAP to callus regeneration of potato to be planlet. NAA 2,0 mg/l affect to callus diameter and NAA 3,0 mg/l affect to callus weight of potato. Callus colour are green whitish, green yellowish, green brownish, white brownish, brown and brown yellowish. Callus texture is compact.

Key words : NAA, BAP, Callus of Potato (*Solanum tuberosum* L.) and EMS Concentration of

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura penghasil umbi dan sebagai sumber karbohidrat. Daerah yang cocok untuk budidaya tanaman kentang adalah dataran tinggi dengan ketinggian 1.000-3.000 mdpl, curah hujan 1.500 mm/tahun, suhu rata-rata harian 18-21°C, serta kelembaban 80-90% (Rukmana, 1996). Kentang mendapatkan prioritas untuk dikembangkan di Indonesia, karena kentang merupakan tanaman cepat mendapatkan keuntungan. Disisi lain kentang memiliki kandungan karbohidrat 12,1%, gula 0,13%, pati 11,98%, dan protein 4,04% (Satria tahun 2004 *cit.* Amelia, 2009).

Meningkatnya permintaan komoditas kentang mengakibatkan meningkatnya kebutuhan akan bibit kentang dalam jumlah yang cukup besar. Hal ini sangat sulit dicapai apabila teknik perbanyakan benih masih menggunakan metoda konvensional, yaitu dengan menggunakan umbi kentang sebagai bibit tanpa seleksi terhadap tanaman sehat atau bebas virus sebelum digunakan sebagai bibit berikutnya. Upaya untuk mengatasi kebutuhan kentang yang semakin meningkat dan untuk menghindari ketergantungan terhadap impor pada masa mendatang maka perbaikan sifat tanaman yang sesuai dengan kebutuhan tampaknya mutlak dilakukan. Umumnya sifat yang diinginkan adalah tanaman yang memiliki resistensi tinggi terhadap hama dan penyakit, bentuk umbi oval, warna daging putih, resisten tinggi terhadap kerusakan mekanis serta memiliki cita rasa dan tekstur yang sesuai dengan selera konsumen.

Pada umumnya tanaman kentang tidak tahan terhadap penyakit hawar daun. Kendala utama dalam peningkatan produksi kentang adalah ketersediaan bibit berkualitas secara kontiniu serta bebas dari hama penyakit. Untuk itu diperlukan suatu upaya untuk mendapatkan kultivar kentang yang tahan terhadap penyakit hawar daun. Pengendalian dengan penanaman kultivar tahan merupakan suatu cara yang mudah dan aman bagi lingkungan (Warnita, 2009)

Guna mengatasi masalah ini perlu dilakukan upaya-upaya untuk meningkatkan hasil dan kualitas produksi kentang yang sehat dan bebas dari

patogen. Upaya untuk mendapatkan bibit kentang yang berkualitas tersebut dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan teknik menumbuh kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik kultur jaringan dapat menyediakan bibit dalam jumlah banyak pada waktu yang singkat, tidak tergantung pada musim, dan bibit yang dihasilkan bebas hama dan penyakit. Di dalam kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan dalam menerapkan teknik kultur jaringan sangat sulit melakukan upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh (Pierik, 1997)

Suryowinoto (2000) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh golongan auksin sangat baik untuk menginduksi kalus. Auksin adalah salah satu hormon yang mempengaruhi pertumbuhan dan mendorong pembelahan sel. Penggunaan kombinasi antara auksin (NAA) dengan sitokinin (*Benzyl adenin* ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz, Moon, dan Chavez, 1995). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mendorong pembelahan sel. Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran dan Smith, 1990).

Zat Pengatur tumbuh berperan dalam meregenerasikan kalus kentang. Regenerasi merupakan salah satu komponen dalam memanipulasi genetik secara *in vitro*. Upaya untuk mendapatkan tanaman hasil rekayasa genetik diperlukan suatu sistem regenerasi yang berhasil meregenerasikan bagian tanaman menjadi tanaman baru. Sistem regenerasi umumnya terkait dengan komposisi media dasar serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Pada umumnya penelitian regenerasi yang berhasil pada tanaman kentang menggunakan dua tahap media, yaitu tahap induksi kalus yang menggunakan auksin dan zeatin atau zeatin ribosida serta media tahap kedua untuk meregenerasi tunas dengan menggunakan sitokinin selain zeatin (De Block, 1988; Yadaf dan Sticklen, 1995).

Kalus biasanya lebih mudah untuk meregenerasi menjadi akar adventif dibandingkan tunas adventif. Pembentukan akar biasanya berlangsung pada media yang mengandung konsentrasi auksin tinggi dan konsentrasi sitokinin rendah. Sebaliknya pembentukan tunas dapat terjadi pada jaringan kalus yang

ditumbuhkan pada media yang mengandung konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi (Suliansyah, 2009.)

Keragaman pada kultur *in vitro* dapat ditingkatkan dengan pemberian mutagen. Menurut Mikce (1996) mutagen menyebabkan perubahan pada DNA sehingga struktur gen mengalami perubahan. Induksi mutasi pada tanaman dilakukan dengan tujuan perbaikan sifat genetik, terutama peningkatan produksi, ketahanan terhadap penyakit serta toleran terhadap cekaman lingkungan. Mutagen yang diberikan dapat berupa mutagen fisik antara lain irradiasi sinar gamma maupun kimiawi yaitu *Ethyle Methane Sulphonate* (EMS), *Diethyl Sulfat* (DES), *Etilin Amin* (EM), *Ethyl Nitroso Urea* (ENH), dan *Diethyl Methane Sulphonate* (DEMS). Dari beberapa mutagen kimia yang telah dipergunakan tersebut EMS sering menghasilkan mutan yang bermanfaat. Penggunaan EMS ini sebagai bahan mutagen akan menyebabkan perubahan struktur alkil pada DNA, perubahan ini akan diteruskan pada replikasi selanjutnya. Perubahan struktur DNA akan diikuti dengan perubahan transkripsi pada RNA dan diteruskan pada translasi yang akan menghasilkan rantai polipeptida yang berbeda dibandingkan dengan sebelum diberi mutagen (Micke, 1996).

*Etil Methane Sulfonat* (EMS) adalah mutagen kimia yang banyak digunakan untuk memperluas keragaman genetik pada tanaman untuk tujuan pemuliaannya. Peningkatan keragaman genetik tanaman dengan induksi EMS telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies tanaman, seperti tembakau (Gichner, Stavevra, dan van Breusegem, 2001), arabidopsis (Chen, Choi, Voytas, dan Rodermeil, 2000), kubis bunga (Mangal dan Sharma, 2002), pisang (Imelda, 2000), kerk lily (*Lilium longiflorum* T.) (Priyono dan Susilo, 2002).

Induksi tanaman dengan EMS yang menyebabkan mutasi pada DNA tanaman akan memberikan pengaruh perubahan morfologi pada tanaman tersebut. Induksi dengan mengkombinasikan konsentrasi EMS dan lamanya waktu perendaman merupakan salah satu cara yang digunakan untuk mendapatkan variabilitas genetik tanaman (Micke dan Donini, 1993).

## **1.2 Perumusan Masalah**

Masalah yang diidentifikasi dalam latar belakang diatas dapat dirumuskan sebagai berikut: (1) apakah pemberian NAA dan BAP dapat menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS, (2) pada konsentrasi berapakah NAA mampu menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS, (3) pada konsentrasi berapakah BAP mampu menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS.

## **1.3 Maksud dan Tujuan**

Penelitian ini bermaksud untuk mempelajari dan memahami apakah pemberian NAA dan BAP dapat menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang pemberian NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat secara aplikatif dan secara akademik. Manfaat dari segi aplikatif diharapkan dengan melakukan penelitian tersebut maka akan diperoleh media alternatif terhadap regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS dengan pemberian NAA dan BAP. Manfaat dari segi akademik diharapkan mengetahui tentang cara meregenerasikan kalus kentang hasil induksi mutasi EMS dengan pemberian NAA dan BAP.

## **1.5 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pikir pada latar belakang yang diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut : (1) Interaksi antara NAA dan BAP dapat menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS, (2) Regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi hanya ditentukan oleh pemberian konsentrasi NAA, (3) Regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS hanya ditentukan oleh pemberian konsentrasi BAP.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tanaman Kentang

Kentang berasal dari wilayah pegunungan Andes di Peru dan Bolivia. Suku Inka telah memanfaatkan kentang sekurang-kurangnya sejak 2000 tahun sebelum kedatangan penjelajah Spanyol. Pendugaan umur dengan menggunakan C14 terhadap butiran pati yang ditemukan dalam penggalian arkeologi menunjukkan bahwa kentang telah dimanfaatkan sekurang-kurangnya sejak 8000 tahun yang lalu (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Kentang diintroduksi ke Indonesia pertama kali oleh bangsa Belanda tahun 1794 di daerah Cisarua. Dari sini kentang baru menyebar ke daerah seluruh Indonesia dan kultivar yang banyak ditanam berasal dari Eropa (Rukmana 1996, Soelarso 1997 dan Wattimena 1984).

Di Indonesia yang beriklim panas, tanaman kentang dapat tumbuh dan berproduksi baik di dataran menengah sampai dataran tinggi, yakni pada ketinggian 500-3000 m di atas permukaan laut dan daerah yang terbaik bagi tanaman kentang pada ketinggian 1500 m di atas permukaan laut. Tanaman kentang mempunyai daya adaptasi luas terhadap lingkungan tumbuh (Rukmana, 1996).

Tanaman kentang tidak dapat tumbuh di sembarang tempat. Tempat yang cocok untuk tanaman kentang adalah tanah yang gembur dan mengandung pasir agar mudah menyerap air, mengandung humus yang tinggi dengan pH 5 – 7 dan tidak tergenang air (Setiadi dan Nurulhuda, 1993; Rukmana, 1996).

Setiadi dan Nurulhuda (1993) mengemukakan bahwa tanaman kentang mempunyai batang berbentuk bulat sampai persegi dan tidak berkayu. Batang dan daun berwarna hijau kemerah-merahan atau keungu-unguan. Bunga berwarna kuning keputihan, tumbuh di ketiak daun teratas dan berjenis kelamin dua. Benang sarinya berwarna kekuning-kuningan dan melingkari tangkai putik.

Akar tanaman kentang berwarna keputih-putihan dengan kedalaman daya tembus bisa mencapai 45 cm. Biasanya akar ini banyak dijumpai pada kedalaman antara 20-25 cm. Buah berbentuk bulat dan lonjong memanjang dengan warna kulit putih dan kuning (Smith tahun 1978 *cit.* Warnita *et al.*, 2009).

Batang tanaman kentang digolongkan menjadi dua tipe yaitu: batang di atas permukaan tanah dan batang dibawah permukaan tanah. Batang dibawah permukaan tanah terdiri dari stolon dan umbi (Sunarjono, 1975; Setiadi, 1993). Kentang termasuk tanaman setahun (annual) yang berbentuk semak (herba), dengan susunan tubuh utama tersiri dari stolon, umbi, batang, daun, bunga, buah dan biji, serta akar. Stolon merupakan tunas lateral yang tumbuh dari ketiak daun di bawah permukaan tanah. Stolon tumbuh memanjang dan melengkung di bagian ujungnya, kemudian membesar atau membengkak membentuk umbi sebagai tempat menyimpan cadangan makanan. Umbi kentang memiliki bentuk yang bervariasi dilihat dari bentuk, warna kulit, warna daging dan mata tunasnya (Rukmana, 1996).

Pada umumnya petani di Indonesia memperbanyak dan memproduksi kentang masih dengan cara konvensional yaitu dengan menggunakan organ vegetatif atau umbi. Cara ini sering menemui hambatan yang menyebabkan produksi rendah. Hambatan tersebut biasanya berupa adanya tanaman terserang virus atau penyakit sistemik lainnya. Penyakit ini dapat menimbulkan kerugian yang besar, tidak hanya menurunkan hasil tetapi juga biaya produksi yang dikeluarkan semakin besar. Bibit kentang bermutu mempunyai keunggulan dari bibit kentang lainnya terutama dari segi ketahanan terhadap stres lingkungan, pertumbuhan, produksi, dan kualitas hasil (Wattimena *et al.*, 1992).

## **2.2. Kultur Jaringan**

Kultur jaringan merupakan salah satu usaha untuk mengisolasi sel, sekelompok sel atau organ tanaman serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik dalam media buatan yang kaya nutrisi dan mengandung zat tumbuh sehingga membentuk tanaman lengkap kembali dalam suatu wadah tertutup yang tembus cahaya. Ide ini bertitik tolak dari konsep totipensi yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann bahwa setiap sel dari organisme dianggap mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan berkembang seperti zigot (Murashige, 1974).

Metode kultur jaringan digunakan untuk mengatasi keterbatasan lahan dan menghasilkan bibit dan penyediaan propagul setek tunas dan umbi mikro kentang

yang bebas dari hama dan penyakit. Penggunaan teknik kultur jaringan dapat mengatasi masalah pengadaan bibit kentang bebas virus dan untuk mendapatkan produksi tanaman dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat, terutama untuk varietas – varietas unggul yang dihasilkan (Gusmali, *et al* 2002 ).

Kultur jaringan tanaman terdiri atas berbagai tipe berdasarkan penggunaannya yaitu : (1) kultur embrio, merupakan isolasi dan pertumbuhan aseptik embrio sigotik matur dan imatur yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman yang viable; (2) kultur meristem, merupakan isolasi dan pertumbuhan aseptik ujung tunas atau meristem secara invitro yang bertujuan untuk mendapatkan klon-klon tanaman, tanaman bebas virus, atau untuk konservasi plasmanutfah; (3) kultur kalus, merupakan induksi dan pertumbuhan aseptik kalus secara invitro yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman yang baru atau untuk mendapatkan produk sekunder tanaman; (4) kultur anter, merupakan isolasi steril anter dan perkembangan kultur kalus haploid dari polen secara invitro; (5) kultur protoplas, merupakan isolasi steril protoplas yang bertujuan untuk memodifikasi genetik sel (Suliansyah, 2009).

Penyediaan bibit kentang yang bermutu dengan metode kultur jaringan telah dikembangkan untuk menghasilkan bibit kentang bebas virus serta patogen lainnya. Aplikasi teknik kultur jaringan melalui pembiakan mikro dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan waktu singkat, bebas penyakit, tidak tergantung pada iklim dan musim serta kebutuhan bahan awal sedikit. Bibit yang dihasilkan bersifat seragam dan sama seperti induknya. Propagul bisa berasal dari setek mikro dan umbi mikro merupakan dua teknik kultur jaringan yang dapat dilakukan dalam perbanyakan bibit kentang (Wattimena, Cown dan Weis, 1983).

Keberhasilan kultur jaringan tumbuhan sangat ditentukan oleh komposisi medium dan eksplan yang digunakan. Medium yang biasa digunakan untuk perbanyakan tanaman secara invitro adalah medium Murashige dan Skoog (Franklin and Dixon, 1984). Medium ini telah banyak digunakan pada kultur jaringan berbagai jenis tanaman seperti tembakau, kentang, melon, bawang putih dan tebu. Eksplan yang digunakan sebaiknya adalah bagian meristematis atau bagian yang muda karena bagian tanaman yang muda memiliki daya regenerasi yang lebih tinggi dibandingkan bagian yang tua (Gunawan, 1988). Eksplan

tanaman kentang diambil bagian pucuk dan nodus (Kane, 1996). Zulfiana (2000) telah melakukan penelitian dengan menggunakan nodus kedua dan ketiga dari pucuk tanaman kentang yang terbukti dapat tumbuh dengan baik pada medium MS dengan penambahan 0,4 ppm NAA dan 4 ppm BAP.

Eksplan buku tunggal yang dikulturkan dalam media MS akan tumbuh menjadi planlet lengkap dalam waktu dua sampai tiga minggu (Bryan, 1978). Wattimena, *et al* (1983) menggunakan stek batang yang mengandung dua atau tiga buku sebagai eksplan.

Setek mini dan umbi mini dapat digunakan sebagai propagul untuk memproduksi kentang, baik untuk produksi umbi bibit atau kentang konsumsi. Program propagul kentang bermutu diawali dari eksplan *in vitro* yang bebas penyakit, kemudian memproduksi setek mini sebagai berikut: eksplan – tunas mikro – setek mikro – setek mini. Setek mini merupakan propagul untuk memproduksi umbi mini dan umbi bibit untuk petani (Suliansyah, 2009).

Pada kultur *in-vitro* dikenal banyak jenis media penanaman. Media Murashige dan Skoog umumnya digunakan untuk hampir semua kultur *in-vitro*. Walaupun unsur-unsur makro dalam media MS pada umumnya juga mendukung kultur tanaman lainnya (Gunawan, 1987).

Kultur kalus pada media solid umumnya lebih lambat dibandingkan media cair (dengan di *shaker*). Laju pertumbuhan yang berbeda ini dapat disebabkan oleh kontak antara kalus dengan media serta pengambilan oksigen yang lebih baik pada media cair.

Pembentukan organ-organ adventif dan atau embrio somatik dapat terjadi tergantung pada spesies tanaman dan asal kalus muncul. Kapasitas regenerasi jaringan kalus dapat berkurang atau sama sekali hilang jika pertumbuhan kultur berlangsung terlalu lama. Sejauh ini tidak diketahui penyebabnya.

Kalus biasanya lebih mudah beregenerasi menjadi akar adventif dibandingkan tunas adventif. Pembentukan akar biasanya berlangsung pada media yang mengandung konsentrasi auksin tinggi dan konsentrasi sitokinin rendah. Sebaliknya pembentukan tunas dapat terjadi pada jaringan kalus yang ditumbuhkan pada media yang mengandung konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi (Suliansyah, 2009).

Vitamin yang sering digunakan dalam media kultur in-vitro, pada konsentrasi tertentu dan menunjang perkembangan sel. Vitamin yang sering diberikan dalam media kultur jaringan adalah: Thiamine-HCl, vit B6, Asam nikotinat, Niasin, dan Pyridoxin-HCl (Hendraryono dan Wijayani, 1994).

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik selain dari nutrient dalam jumlah yang sedikit dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. 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. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur jaringan terbagi tiga kelompok besar, yaitu auksin, sitokinin, dan giberelin (Gunawan, 1992)

Didalam teknik kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan, Pierik (1997) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyakan tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh.

Abidin (1993) menyatakan bahwa penggunaan ZPT dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi proses-proses fisiologis dari tanaman terutama proses pertumbuhan, diferensiasi dan perkembangan tanaman. Penggunaan dari auksin akan mendorong primordia akar dan jika konsentrasi auksin relative tinggi akan menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar tetapi mampu meningkatkan jumlah akar. Sedangkan peranan dari sitokinin pada tanaman akan mendorong terjadinya pembelahan sel.

Auksin adalah senyawa yang fungsinya merangsang pemanjangan sel-sel pucu yang spectrum aktivitasnya menyerupai IAA (indol-3-acetic acid). Pierik (1997) menyatakan bahwa pada umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif.

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

Auksin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah indole - 3-acetic acid (IAA),  $\alpha$ -naphthalenacetic acid ( $\alpha$ -NAA), dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). IAA merupakan auksin yang disintesis secara alamiah didalam tubuh tanaman namun senyawa ini mudah mengalami degradasi akibat pengaruh cahaya dan oksidasi enzimatis. Sementara itu,  $\alpha$ -NAA merupakan auksin sintetik, tidak mengalami oksidasi enzimatis. Senyawa tersebut dapat diberikan pada medium kultur pada konsentrasi yang lebih rendah, berkisar antara 0,1-2,0 mg L<sup>-1</sup> (Dodds dan Roberts, 1985).

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Peranan auksin dan sitokinin sangat nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, differensiasi sel, dan pembentukan organ.

Pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut dapat meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk, dan morfogenesis pucuk (Smith, 1992). Bahkan menurut George dan Sherrington (1984), apabila ketersediaan sitokinin di dalam medium kultur sangat terbatas maka pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan akan terhambat. Akan tetapi, apabila jaringan tersebut disubkulturkan pada medium dengan kandungan sitokinin yang memadai maka pembelahan sel akan berlangsung secara sinkron.

Sitokinin paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah kinetin, benziladenin (BAP), dan zeatin. Zeatin adalah sitokinin yang disintesis secara alamiah didalam tubuh tanaman, sedangkan kinetin dan BA adalah sitokinin sintetik, tidak mengalami oksidasi enzimatis.

### 2.3. Mutasi

Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba, acak, dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme yang bersifat terwariskan (*heritable*). Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (*spontaneous mutation*) dan dapat juga terjadi melalui induksi (*induced mutation*). Secara mendasar tidak terdapat perbedaan antara mutasi yang terjadi secara alami dan mutasi hasil induksi. Keduanya dapat menimbulkan variasi genetik untuk

dijadikan dasar seleksi tanaman, baik seleksi secara alami (evolusi) maupun seleksi secara buatan (pemuliaan) (Micke dan Donini 1993; Van Harten 1998).

Induksi mutasi dapat terjadi pada perbanyakan vegetatif dengan menggunakan bahan kimia murni dan kondisi lingkungan tertentu. Secara umum telah dikenal dua kelompok mutagen yang bisa digunakan untuk menginduksi mutasi yaitu mutasi kimia dan fisik. Mutagen kimia yaitu seperti *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS), *Diethyl Sulfat* (DES), *Etilin Amin* (EM), *Ethyl Nitroso Urea* (ENH), dan *Methyl Nitroso Urea* (MNH). Mutagen fisik terdiri dari radiasi elektromagnetik (sinar x, sinar gamma, sinar ultra violet) dan radiasi partikel (sinar alfa, sinar beta, dan neutron) (Micke, 1996). Hasil pengujian beberapa mutagen kimia yang pernah diuji pada berbagai jenis tanaman, EMS lebih mampu menghasilkan mutan yang tahan terhadap penyakit dan sering memperbaiki sifat-sifat agronomi serta meningkatkan produksi (Singh dan Singh, 1996).

*Etil Methane Sulfonat* (EMS) adalah mutagen kimia yang banyak digunakan untuk memperluas keragaman genetik pada tanaman untuk tujuan pemuliaannya. Peningkatan keragaman genetik tanaman dengan induksi EMS telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies tanaman, seperti tembakau (Gichner, Stavevra, dan van Breusegem, 2001), arabidopsis (Chen, Choi, Voytas, dan Rodermeil, 2000), kubis bunga (Mangal dan Sharma, 2002), pisang (Imelda, 2000), kerk lily (*Lilium longiflorum* T.) (Priyono dan Susilo, 2002).

Pada penelitian sebelumnya telah digunakan berbagai konsentrasi dan waktu perendaman EMS pada berbagai jenis tanaman. Priyono dan Susilo (2002) telah melakukan penelitian terhadap sisik mikro kerk lily (*Lilium longiflorum* T.) dengan konsentrasi 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, dan 0.25 dan waktu perendaman masing-masing 2, 4 dan 6 hari. Dari penelitian diketahui bahwa waktu optimum untuk perendamannya adalah 4 hari, karena diduga telah terjadi penyerapan EMS secara maksimal, EMS mempunyai pengaruh negatif terhadap peubah-peubah pertumbuhan kultur *in vitro* sisik mikro kerk lily linier dengan meningkatnya aras konsentrasi EMS pada selang 0-0,25%. (Priyono dan Susilo, 2002).

Untuk induksi mutasi EMS secara *in vitro* pada tanaman pisang telah dilakukan percobaan oleh beberapa peneliti sebelumnya.

Yanti (2007) melaporkan bahwa induksi dengan mutagen EMS 0,2-0,4% selama 2-4 jam pada tunas pisang Raja Sereh menghasilkan jumlah tunas yang bervariasi serta tahan terhadap serangan penyakit darah bakteri (Blood Deases Bacterium (BDB)). Selanjutnya Yanti (2008) telah melakukan penelitian dengan menggunakan konsentrasi 0,2 dan 0,4% EMS dengan waktu perendaman 2 dan 4 jam terhadap daun bibit pisang Raja Sereh. Percobaan ini juga telah berhasil dilakukan pada tiga jenis enzim yaitu Polifenol oksidase, Enzim polifenol oksidase dan Enzim peroksidase. Hasil yang diperoleh ketiga jenis enzim pada masing-masing perlakuan memperlihatkan aktivitas masing-masing enzim pada mutan yang telah diinokulasi dengan BDB sangat bervariasi pada masing-masing perlakuan dan kontrol. Fenotip peroksidase pada daun bibit pisang Raja Sereh hasil perlakuan dengan EMS secara elektroforesis terdiri atas empat pola pita. Pola pita pertama dengan jarak migrasi relatif 15, 20 dan 60, pola pita kedua dengan jarak migrasi relatif 20 dan 30, pola pita ketiga dengan migrasi 20, 30 dan 50 serta pola pita empat dengan migrasi 20, 25 dan 30.

Dari hasil penelitian keragaman genetika varian Abaka dapat disimpulkan perlakuan EMS pada kalus embriogen abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 berhasil menginduksi keragaman genetika. Keberhasilan menginduksi varian diantara populasi yang diuji juga ditunjukkan dengan adanya sejumlah karakter kualitatif yang abnormal (Purwanti *et al.*, 2008).

Menurut Fitri (2011) beberapa konsentrasi EMS dan waktu perendaman yang berbeda telah memperlihatkan pengaruh dan menghasilkan mutan positif terhadap berbagai tanaman yang telah diteliti oleh peneliti sebelumnya. Perendaman kalus kentang pada 0,02% EMS selama 30 sampai 60 menit menghasilkan persentase tumbuh akar paling tinggi, sedangkan untuk persentase tumbuh tunas, bobot kalus dan diameter kalus, tidak memperlihatkan perbedaan. Beberapa konsentrasi EMS dengan waktu perendaman berbeda menghasilkan warna kalus yang beragam.



### III. BAHAN DAN METODA

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Percobaan ini merupakan percobaan laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian ini berlangsung selama 6 bulan dari bulan Juli sampai dengan Desember 2011. Jadwal kegiatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah kalus kentang hasil induksi EMS. Zat kimia penyusun media Murasige and Skoog (Lampiran 2), zat pengatur tumbuh yang digunakan NAA: 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0 mg/l dan BAP: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 mg/l, 2,4-D 4 mg/l, sukrosa 30 g/l, agar 7 gr/l, aquades, alkohol 70%, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N dan KoH 0,1 N, aluminium foil, plastik wrap, karet gelang, kertas steril.

Alat yang digunakan adalah autoklaf, botol kultur, timbangan analitik, *laminar air flow cabinet*, kompor gas, petridis, gunting, pinset, pisau scapel, gelas beaker, labu ukur, gelas piala, jangka sorong, erlenmeyer, pengaduk gelas, *hot plate* (pemanas) dengan *magnetik stirrer*, pH meter, lampu spiritus, *hand sprayer*, rak kultur yang dilengkapi dengan lampu sebagai sumber penyinaran, kamera digital, dan alat tulis.

#### 3.3 Rancangan

Percobaan ini dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) berbentuk faktorial. Perlakuannya yaitu dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA (perlakuan A) yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

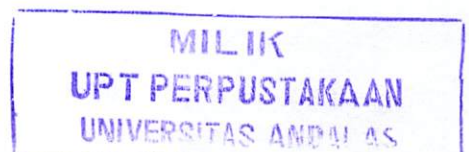
$a_1$  = pemberian 1,0 mg/l NAA

$a_2$  = pemberian 2,0 mg/l NAA

$a_3$  = pemberian 3,0 mg/l NAA

$a_4$  = pemberian 4,0 mg/l NAA

dan pemberian BAP (perlakuan B) yang terdiri dari 5 taraf yaitu :



b<sub>1</sub> = pemberian 1,0 mg/l BAP

b<sub>2</sub> = pemberian 2,0 mg/l BAP

b<sub>3</sub> = pemberian 3,0 mg/l BAP

b<sub>4</sub> = pemberian 4,0 mg/l BAP

b<sub>5</sub> = pemberian 5,0 mg/l BAP

Pada percobaan ini terdapat 20 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan pada masing-masing perlakuan, sehingga terdapat 60 satuan percobaan. Setiap ulangan terdiri dari 3 botol kultur. Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan sidik ragam pada taraf nyata 5 % dan jika F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf nyata 5% dan data kualitatif disajikan dalam bentuk tabel. Data pengamatan waktu muncul rootlet dan jumlah rootlet ditampilkan secara deskriptif.

### 3.4 Pelaksanaan

#### 3.4.1 Sterilisasi alat dan media

Botol yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dengan *detergen*, kemudian direndam dengan larutan Natrium Hypoclorit (*Bayclin*) minimal 24 jam, lalu dibilas dengan air dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf bertekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 60 menit. Botol-botol ini dapat digunakan sebagai tempat media, jika belum digunakan maka botol dapat disimpan dalam oven dengan suhu 70°C sampai waktu akan digunakan. Akuades yang digunakan dimasukkan kedalam botol dan disterilkan dengan autoklaf bertekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 60 menit.

Alat-alat lain seperti cawan petri, gunting dan pinset, juga disterilkan. Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas tebal kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf. Labu takar, pipet, dan gelas ukur disterilkan dengan mencuci bersih dengan *detergen* kemudian dikeringkan, lalu dibilas dengan akuades steril.

#### 3.4.2 Pembuatan media Induksi Kalus

Media yang digunakan adalah media MS (Lampiran 2). Zat kimia penyusun masing-masing media dikelompokkan berdasarkan jenis garamnya yaitu

anion yang menyusun unsur tersebut, dan dibuat menjadi beberapa stok. Hal ini untuk menghindari pengendapan larutan, karena yang telah mengalami pengendapan tidak dapat digunakan lagi. Larutan vitamin diletakkan pada botol yang terpisah. Larutan ini konsentrasinya dipekatkan sehingga saat pembuatan media, hanya memipet sejumlah volume tertentu sesuai takaran yang diperlukan.

Pembuatan satu liter media dipipet larutan stok dan vitamin sesuai dengan volume larutan baku masing-masing media perlakuan. Total media yang dibuat dalam induksi kalus ini sebanyak 1 L. Langkah pertama dalam pembuatan media yaitu memipet larutan stok serta vitamin sesuai takaran untuk pembuatan media 1 L, begitu juga dengan sukrosa 30 g/L dan kemudian volume dicukupkan hampir mendekati 1000 ml dengan menambahkan akuades, lalu zat pengatur tumbuh ditambahkan ke dalam media dengan konsentrasi 2,4 D 4 ppm dan BAP 5 ppm.

Derajat kemasaman (pH) media diatur agar mencapai 5,8 dengan menggunakan pH meter, pengukuran pH dilakukan dengan penambahan beberapa tetes NaOH 0,1 N jika pH kurang dari 5,8 dan jika lebih dari 5,8 maka ditambahkan HCL 0,1 N. Selanjutnya agar dimasukkan kedalam media sebanyak 7 g diaduk sampai mendidih. Setelah mendidih, media dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 50 botol untuk ukuran botol selai, kemudian ditutup rapat dengan aluminium foil, botol-botol tersebut disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 15 psi dan pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang telah di autoklaf di tutup dengan kertas steril. Media yang sudah di autoklaf tersebut diinkubasi selama 1 minggu untuk melihat keberhasilan sterilisasi dan ada atau tidaknya kontaminasi. Bila ada yang terkontaminasi maka dikeluarkan dari ruang inkubasi.

### **3.4.3 Induksi Pembentukan Kalus**

Planlet kentang hasil perbanyakan Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Balai Benih Induk Hortikultura Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Sumatera Barat Jaringan yang berumur 30 hari dikeluarkan dari botol dan bagian batangnya dipotong-potong didalam petri dengan ukuran  $\pm 2$  cm. Eksplan ditanam pada media induksi sebanyak 5 eksplan pada masing-masing botolnya. Botol ditutup dengan selotip bening selanjutnya botol-botol dipindahkan ke dalam ruang inkubasi dan disusun pada rak kultur.

#### 3.4.4 Pembuatan Media Regenerasi

Media regenerasi merupakan media perlakuan dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP. Total media yang dibuat sebanyak 2 L dimana masing-masing kombinasi perlakuan mempunyai volume 100 ml. Langkah pertama dalam pembuatan media yaitu memipet larutan stok serta vitamin sesuai takaran untuk pembuatan media 2 L tambahkan sukrosa 30 g/L kemudian dicukupkan volume menjadi 1000 ml dengan menambahkan akuades. Kemudian larutan tersebut dibagi menjadi 20 sesuai kombinasi perlakuan masing-masing sebanyak 50 ml ke dalam gelas piala, kemudian tambahkan NAA dan BAP sesuai dengan perlakuan.

Derajat kemasaman (pH) media diatur agar mencapai 5,8 dengan menggunakan pH meter, pengukuran pH dilakukan dengan penambahan beberapa tetes NaOH 0,1 N jika pH kurang dari 5,8 dan jika lebih dari 5,8 maka ditambahkan HCL 0,1 N. Selanjutnya larutan hara yang telah diuji derajat kemasamannya ditambahkan agar sebanyak 0,7 g pada gelas piala yang telah berisi larutan hara sebanyak 50 ml, lalu media dicukupkan menjadi 100 ml kemudian diaduk dan dimasak hingga mendidih. Media yang telah masak dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 9 botol untuk satu kombinasi perlakuan masing-masing  $\pm$  10 ml/botol dan ditutup rapat dengan aluminium foil, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 15 psi dan pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang sudah diautoklaf ditutup lagi dengan kertas steril dan diikat dengan karet gelang. Lalu media diinkubasi selama 1 minggu untuk melihat keberhasilan sterilisasi dan ada atau tidaknya kontaminasi. Bila ada yang terkontaminasi maka dikeluarkan dari ruang inkubasi.

#### 3.4.4 Penanaman Tahap Regenerasi

Penanaman kalus dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* yang sudah disterilkan dengan cara disemprot alkohol 70% dan diikuti dengan menyalakan lampu ultra violet paling kurang 30 menit. Botol-botol kultur yang telah berisi media, alat tanam, botol eksplan, botol larutan, botol alkohol, akuades steril dan lampu spiritus yang akan digunakan disemprot dengan alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet*.

Kegiatan penanaman dilakukan sebagai berikut, kalus yang telah berumur 3 bulan dipotong dalam cawan petri yang dilapisi aluminium foil steril dengan ukuran diameter  $\pm 0,4$  cm dengan menggunakan skapel. Kalus tersebut direndam didalam larutan 0,02% EMS selama 15 menit. Kalus ditanam dalam botol kultur yang telah berisi media dengan satu kalus tiap botol, proses penanaman dilakukan didekat lampu spritus. Kemudian botol dengan selotip bening dan dibalut dengan plastik wrap. Selanjutnya botol-botol dipindahkan ke dalam ruang inkubasi dan disusun pada rak kultur sesuai dengan denah penempatan (Lampiran 3).

#### **3.4.5 Pemeliharaan**

Pemeliharaan meliputi pemeliharaan botol kultur pada ruang inkubasi dengan menjaga suhu ruangan 20°C. Pemeliharaan di ruangan kultur dengan mengganti eksplan yang terkontaminasi dengan eksplan yang baru, serta melakukan penyemprotan pada rak kultur dengan alkohol 70%.

### **3.5 Pengamatan**

Pengamatan dilakukan setiap hari mulai dari setelah tanam sampai berumur 7 minggu setelah tanam (mst), dapat dilihat pada lampiran 1. Pengamatan dilakukan pada populasi perlakuan, dimana tiap perlakuan terdapat 3 ulangan dan tiap ulangan terdapat 3 botol kultur (jumlah populasi tiap perlakuan 9 botol) dan seluruh populasi diamati, pengamatan yang dilakukan adalah:

#### **3.5.1 Waktu Muncul Rootlet (hst) dan jumlah rootlet**

Dinyatakan waktu muncul rootlet apabila pada salah satu populasi sampel telah muncul atau tumbuh rootlet. Dinyatakan rootlet disini adalah apabila terjadi pertumbuhan akar pada eksplan, pengamatan hanya secara visual. Pengamatan dilakukan pada minggu terakhir setelah tanam, dengan

#### **3.5.2 Diameter kalus (cm)**

Diameter kalus diamati pada pengamatan terakhir yaitu dengan cara mengeluarkan kalus dari botol dan mengukurnya menggunakan penggaris.

#### **3.5.3 Bobot kalus (g)**

Pengamatan bobot kalus dilakukan pada pengamatan terakhir yaitu dengan cara mengeluarkan kalus dari botol kultur kemudian dibersihkan dari media yang

menempel dengan menggunakan tisu dan ditimbang menggunakan timbangan analitik.

#### **3.5.4 Tekstur kalus**

Tekstur kalus diamati secara visual, bagian yang diamati bentuk luar dari kalus. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk memperjelas pengamatan. Pengamatan dilakukan pada minggu terakhir setelah tanam.

#### **3.5.5 Warna kalus**

Pengamatan dilakukan setiap minggu setelah tanam dengan cara mengamati perubahan warna dan waktu (minggu) perubahan warna pada kalus. Data warna kalus yang ditampilkan adalah warna kalus pada terakhir pengamatan yaitu pada minggu terakhir setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan *color chart* dan data dijelaskan secara deskriptif.

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada percobaan ini kalus kentang yang diberi perlakuan NAA dan BAP pertumbuhannya cukup baik. Sampai pada pengamatan terakhir penelitian ini belum ada kalus kentang yang beregenerasi menjadi planlet. Pemberian NAA dan BAP pada kalus kentang hanya mampu beregenerasi menjadi rootlet atau akar.

##### 4.1 Waktu Muncul Rootlet dan Jumlah Rootlet (hst)

Pengamatan terhadap waktu muncul rootlet dan jumlah rootlet adalah untuk mengetahui keefektifan pengaruh kombinasi NAA dan BAP yang dilakukan dalam penelitian ini. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap waktu muncul rootlet dan jumlah akar disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu muncul Rootlet setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus tanaman kentang.

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
1,00	33	00	00	00	00
2,00	28	00	33	00	00
3,00	18	22	30	00	00
4,00	37	00	00	00	00

Data pada tabel tidak dianalisis namun dijelaskan secara deskriptif

Tabel 1 memperlihatkan bahwa waktu muncul rootlet tercepat pada media dengan kombinasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l yakni pada umur 18 hari setelah tanam. Waktu muncul rootlet terlama pada media dengan kombinasi NAA 4 mg/l dan BAP 1 mg/l yakni pada umur 37 hari setelah tanam. Sampai pada pengamatan terakhir yakni 7 minggu setelah tanam tidak ada muncul rootlet pada beberapa perlakuan NAA dan BAP.

Tabel 2. Jumlah Rootlet setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus tanaman kentang.

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
1,00	2	00	00	00	00
2,00	2	00	33	00	00
3,00	17	8	2	00	00
4,00	1	00	00	00	00

Data pada tabel tidak dianalisis namun dijelaskan secara deskriptif

Tabel 2 memperlihatkan bahwa jumlah rootlet berbanding lurus dengan waktu muncul rootlet yakni terdapat pada media dengan perlakuan NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l. Begitupun dengan jumlah rootlet yang sedikit juga terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan sitokinin 1 mg/l yakni dengan jumlah rootlet satu.

Terbentuknya rootlet dipengaruhi oleh komposisi media dan zat-zat tambahan pada media, seperti pemberian zat pengatur tumbuh pada percobaan ini. Hasil yang diperoleh dalam percobaan ini tidak terlihat pertumbuhan akar secara keseluruhan. Hal ini disebabkan karena belum adanya keseimbangan antara konsentrasi NAA dan BAP sehingga tidak berpengaruh terhadap munculnya akar.

Pada penelitian ini tidak ada shootlet yang terbentuk sampai pada pengamatan terakhir. Hal ini mungkin disebabkan belum adanya konsentrasi yang seimbang antara NAA dan BAP terhadap terbentuknya shootlet. Bentuk kalus yang dihasilkan dalam percobaan ini adalah kompak yang menyebabkan kalus susah untuk beregenerasi menjadi shootlet.

Menurut Suliansyah (2009) kalus biasanya lebih mudah untuk meregenerasi menjadi akar adventif dibandingkan tunas adventif. Pembentukan akar biasanya berlangsung pada media yang mengandung konsentrasi auksin tinggi dan konsentrasi sitokinin rendah. Sebaliknya pembentukan tunas dapat terjadi pada jaringan kalus yang ditumbuhkan pada media yang mengandung konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi.

Peranan auksin dalam kultur jaringan merangsang dan meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Auksin berpengaruh pula untuk menghambat pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar, namun kehadirannya dalam medium kultur dibutuhkan untuk meningkatkan embriogenesis somatik pada kultur suspensi sel (Pierik, 1997). Konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar adventif, sedangkan auksin konsentrasi tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (Smith, 1992).



#### 4.2 Diameter Kalus (cm)

Pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP memperlihatkan bahwa tidak adanya interaksi antar kedua faktor terhadap diameter kalus kentang. Pemberian NAA memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap diameter kalus kentang. Sebaliknya pemberian BAP memberikan pengaruh berbeda tidak nyata pada diameter kalus kentang. Data diambil setelah dianalisis secara sidik ragam. Untuk lebih jelasnya pada Tabel 3 disajikan rata-rata diameter kalus setelah diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Tabel 3. Diameter kalus kentang setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus kentang (umur 7 MST).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)					Rata-rata
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	
1,00	0,74	0,63	0,78	0,68	0,62	0,69 a
2,00	0,63	0,83	0,61	0,81	0,80	0,74 a
3,00	0,75	0,82	0,63	0,62	0,52	0,67 ab
4,00	0,65	0,67	0,55	0,50	0,51	0,58 b

KK = 20,30%

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa diameter kalus tertinggi terdapat pada kombinasi NAA dan BAP dengan konsentrasi 2 mg/l dan 2 mg/l yakni 0,83 cm. Diameter kalus yang terendah terdapat pada media dengan kombinasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l. Rata-rata tertinggi diameter kalus kentang terdapat pada pemberian konsentrasi NAA 2 mg/l.

Media yang terbaik dalam meningkatkan diameter kalus kentang pada penelitian ini adalah media yang mengandung konsentrasi NAA 2 mg/l dan BAP 2 mg/l. Berbanding lurusnya antara konsentrasi NAA dan BAP mampu meningkatkan luas diameter kalus kentang. Diameter kalus yang terendah terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l. Faktor yang menyebabkan rendahnya diameter kalus kentang pada penelitian ini adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media sangat tinggi yakni 4 mg/l.

Menurut Lakitan (1996), pemberian zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang sesuai dapat meningkatkan morfogenesis tanaman, tetapi apabila zat pengatur tumbuh diberikan dalam konsentrasi yang berlebihan maka akan menjadi penghambat bagi pertumbuhan morfogenesis tanaman. Gunawan (1998)

menyatakan interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel.

Media dengan penambahan auksin mampu meningkatkan diameter kalus. Pernyataan ini diperkuat oleh pendapat Pierik (1997) dimana auksin mampu meningkatkan pemanjangan sel dan pembelahan sel. Dan pada konsentrasi auksin yang tinggi mampu merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (Smith, 1992).

Ukuran kalus yang dipindahkan ke media regenerasi menentukan keberhasilan regenerasi. Ukuran kalus yang lebih kecil akan sulit beregenerasi atau mati. Pada penelitian ini, ukuran diameter kalus sebelum tanam  $\pm 0,4$  cm. Dari minggu pertama sampai dengan minggu terakhir pengamatan, pertumbuhan kalus meningkat 2 kali lipat dari luas kalus awal tanam sehingga diperoleh diameter kalus tertinggi yakni 0,83 cm.

#### 4.3 Bobot Kalus ( g )

Hasil analisis statistik bobot kalus disajikan pada Lampiran 5. Interaksi NAA dan BAP memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap bobot kalus kentang, namun pemberian NAA memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap bobot kalus kentang. Pemberian BAP memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap bobot kalus setelah diuji secara sidik ragam dengan uji F pada taraf 5 %. Untuk lebih jelasnya, pada Tabel 3 disajikan rata-rata bobot kalus kentang setelah diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Tabel 4. Bobot kalus setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP terhadap kalus kentang (umur 7 MST)

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)					Rata-rata
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	
1,00	0,47	0,38	0,43	0,39	0,44	0,41 bc
2,00	0,38	0,43	0,29	0,6	0,67	0,47 b
3,00	0,90	0,70	0,6	0,47	0,41	0,62 a
4,00	0,32	0,35	0,27	0,25	0,30	0,30 c

KK = 37,7%

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

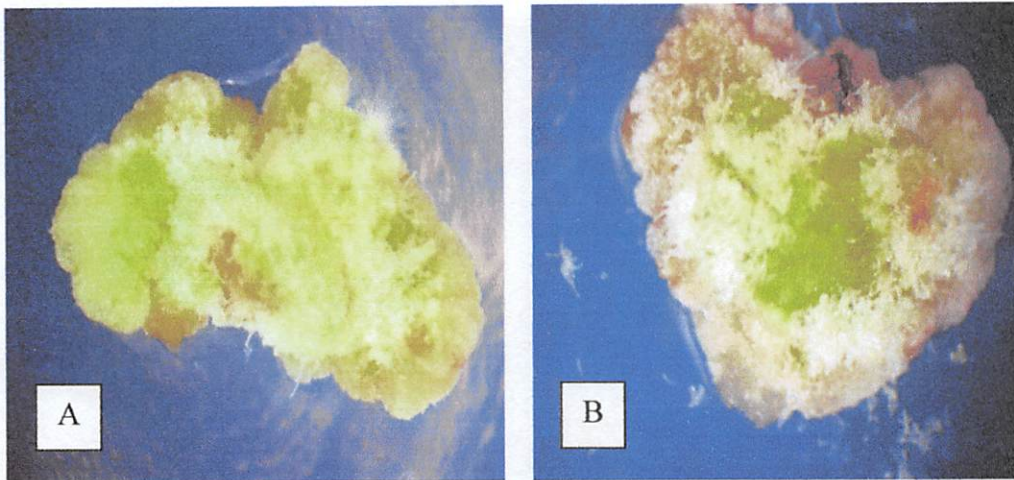
Tabel 4 terlihat bahwa bobot kalus yang terbesar pada kombinasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l yaitu 0,90 g. Hasil tersebut memberikan gambaran bahwa media dengan pemberian konsentrasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l mampu memberikan hasil yang terbaik dalam memperbesar bobot kalus kentang. Bobot kalus kentang yang paling terendah terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l.

Menurut Wattimena (1987) pertumbuhan kalus akan terjadi apabila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin. Hal ini terjadi karena secara fisiologis auksin berperan dalam mendorong pembesaran dan pemanjangan sel sehingga semakin besar dan panjang selnya dalam hal ini adalah kalus, maka akan meningkatkan bobot kalus. Penambahan sitokinin (BAP) yang tinggi kedalam media dapat menghambat pembentukan kalus sehingga cenderung menurunkan bobot kalus (Fermila, 2005).

Namun pada media dengan perlakuan NAA 4 mg/l, bobot kalus menurun jika dibandingkan dengan konsentrasi NAA 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l. Hal ini dikarenakan konsentrasi yang terlalu tinggi tidak baik bagi pertumbuhan kalus dimana dalam hal ini bobot kalus. Pernyataan ini selaras dengan pendapat Moore (1979) dan Wattimena (1988) menyatakan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi terlalu tinggi bukanlah bersifat mendorong pertumbuhan akan tetapi menghambat proses pembelahan sel. Hal ini dapat dilihat pada pemberian konsentrasi auksin (NAA) yang tinggi yakni 4 mg/l mengakibatkan bobot kalus sangat rendah yakni 0,25 g

#### **4.4 Tekstur Kalus**

Pengamatan tekstur kalus dilakukan pada minggu terakhir setelah tanam. Pengamatan ini menggunakan mikroskop untuk membantu memperjelas hasil gambar pengamatan. Hasil pengamatan dijelaskan secara deskriptif. Hasil pengamatan didokumentasi menggunakan kamera digital, sehingga didapatkan kesimpulan bahwa semua kalus yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP bertekstur kompak. Pada penelitian ini tidak ditemukan tekstur kalus yang remah. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tekstur kalus kentang secara umum hasil mikroskop (400 kali pembesaran) pada umur 7 minggu setelah tanam  
 Keterangan : A). Kalus kentang pada media NAA 2 mg/l dan BAP 4 mg/l, B). Kalus kentang dengan media NAA 5 mg/l dan BAP 1 mg/l.

Bentuk kalus kompak adalah kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang kuat dan keras. Biasanya struktur kalus menggambarkan daya regenerasinya membentuk tunas dan akar. Kalus yang berbentuk remah dan terdapat globular (nodul-nodul) berwarna bening biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna coklat-kehitaman. Dalam hal ini media yang digunakan untuk memacu regenerasi kalus akan sangat menentukan. Keseimbangan nutrisi dalam media tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus maupun diferensiasinya membentuk tunas (Purnamaningsih, 2006). Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen di dalam tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena *et al.*, 1992).

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.

#### 4.5 Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual dengan menggunakan *color chart*. Hasil yang diperoleh yakni terdapat variasi warna kalus setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP. Variasi warna dapat dilihat pada Tabel 5.

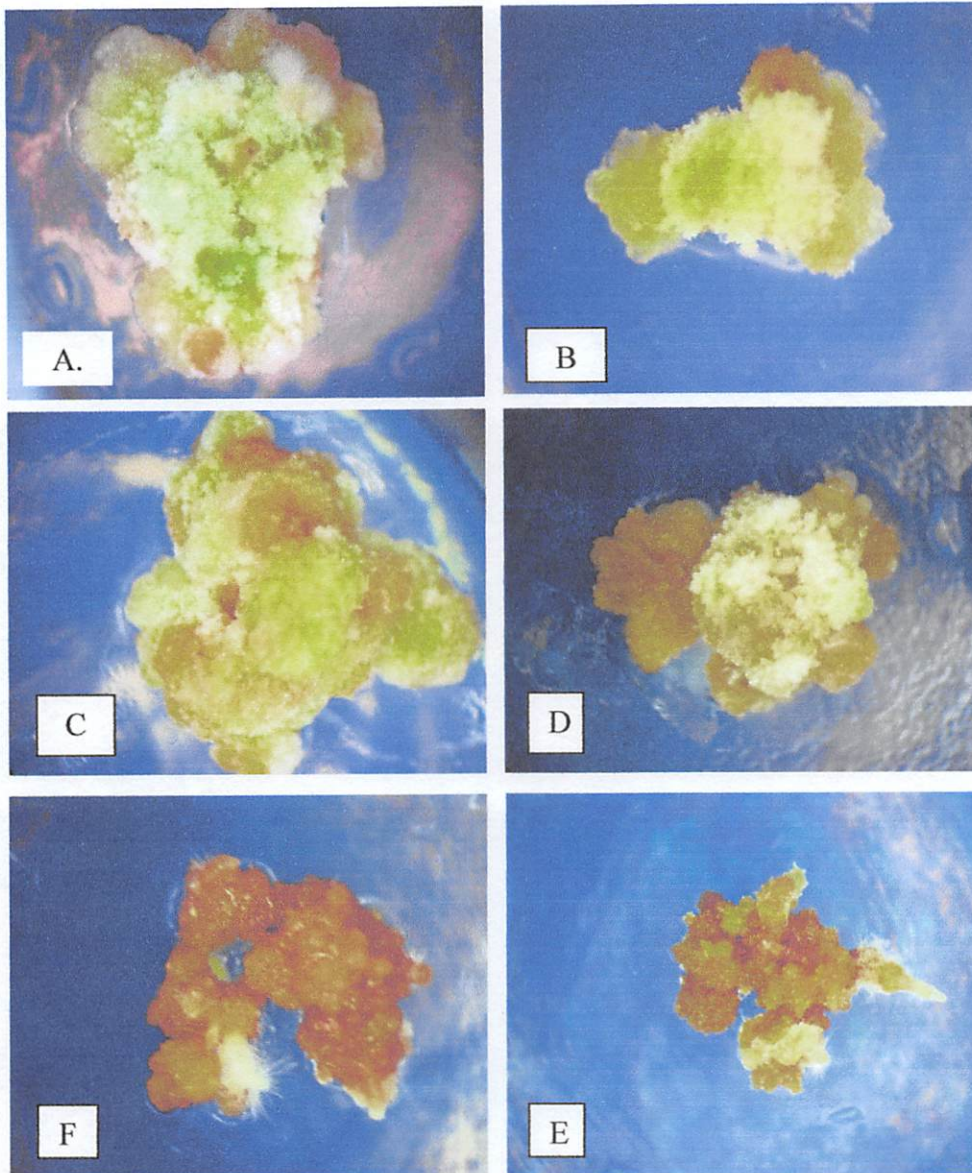
Tabel 5. Variasi warna kalus kentang pada pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP (umur 7 minggu setelah tanam)

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
1,00	Coklat kekuningan	Coklat	Hijau keputihan	Coklat	Hijau keputihan
2,00	Putih kehijauan	Putih kecoklatan	Coklat kekuningan	Hijau keputihan	Hijau kecoklatan
3,00	Hijau keputihan	Hijau kekuningan	Coklat	Putih kecoklatan	Coklat
4,00	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat

Tabel 5 dapat kita lihat terdapat 5 variasi warna kalus (Gambar 2). Kalus berwarna hijau keputihan terdapat pada media dengan kombinasi NAA dan BAP 1 mg/l dan 5 mg/l, 2 mg/l dan 4 mg/l, 2 mg/l dan 4 mg/l, dan juga pada konsentrasi 3 mg/l NAA dan 2 mg/l BAP. Kalus yang berwarna coklat terdapat pada auksin berkonsentrasi 4 mg/l yang dikombinasikan dengan berbagai konsentrasi BAP.

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (2002) bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat proses perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein (Wattimena, 1988). Tanda bahwa kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas antara lain terjadinya perubahan warna dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, perubahan warna tersebut merupakan tanda adanya morfogenesis (Lestari dan Mariska, 2003). Warna kalus kehijauan diduga karena konsentrasi BAP yang terdapat pada media setara atau lebih tinggi daripada konsentrasi NAA. BAP sebagai sitokinin memacu pembentukan klorofil, sebaliknya auksin bisa menjadi penghambat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh George dan Sherrington (1984) akan

terjadi penurunan pembentukan klorofil apabila terdapat 2,4-D pada kultur kacang kapri, tomat, dan kentang.



Gambar 2. Variasi warna kalus kentang setelah pemberian NAA dan BAP  
 Keterangan A. NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l warna kalus hijau keputihan  
 B. NAA 3 mg/l dan BAP 2 mg/l warna kalus hijau kekuningan  
 C. NAA 2 mg/l dan BAP 5 mg/l warna kalus hijau kecoklatan  
 D. NAA 2 mg/l dan BAP 2 mg/l warna kalus putih kecoklatan  
 E. NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l warna kalus coklat  
 F. NAA 1 mg/l dan BAP 1 mg/l warna kalus coklat kekuningan

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada pengaruh pemberian NAA dan BAP terhadap regenerasi kentang hasil induksi mutasi EMS dapat dirumuskan kesimpulan:

1. Tidak terdapat interaksi antara NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang menjadi planlet, waktu muncul rootlet, jumlah rootlet, diameter kalus dan bobot kalus.
2. Pemberian NAA 2,0 mg/l memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap diameter kalus kentang dan pemberian NAA 3,0 mg/l memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap bobot kalus kentang.
3. Warna kalus yang dihasilkan adalah hijau keputihan, hijau kekuningan, putih kecoklatan, coklat dan coklat kekuningan. Sedangkan tekstur kalus yang terbentuk adalah kompak.

### **5.2 Saran**

Disarankan untuk penelitian selanjutnya untuk dapat melakukan percobaan dengan mengkombinasikan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh sehingga didapatkan media yang terbaik untuk meregenerasikan kalus menjadi planlet.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1993. Dasar-dasar pengetahuan tentang zat pengatur tumbuh. Angkasa. Bandung. 85 hal.
- Amelia, M. 2009. Induksi Pembentukan Kalus Kentang Batang Hitam (*Solanum tuberosum* L.) Secara *in-vitro* pada Beberapa Konsentrasi 24-D dan BAP. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Bhaskaran, S. Dan R. H. Smith. 1990. *Regeneration in Cereal Tissue Culture : A Review*. Crop Science 30.
- Bryan, J. E. 1980. Rapid multiplication, Techniques for potatoes. INT. Potato Cent. Lima, Peru. 20 p.
- Chen, M., Y. Choi, D.F. Voytas, dan S. Rodermel. 2000. Mutations in The Arabidopsis VAR2 Locus Cause Leaf Variegation Due to The Loss of Chloroplast FtsH Protease. *Plant J.* 22:303-313.
- De Block, M. 1998. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 767-774.
- Dodds, J.H.dan L.W. Roberts. 1985. Experiments in plant Tissue Culture. Cambridge: Cambridge University Press.
- Fermila, E.Y. 2005. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP Dalam Menginduksi Kalus Biji Muda Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Franklin and Dixon. 1984. Initiation and maintenance of callus and cell suspension cultures. Dalam; R. A. Gonzales (eds). *Plant cell culture: A practical Approach*. 2<sup>nd</sup> Edition. Oxford University Press. New York 26 p.
- Fitri, R.M. 2011. Pengaruh Beberapa Konsentrasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Dengan Waktu Perendaman Berbeda Terhadap Pertumbuhan Kalus Tanaman Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- George,E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited. England.
- Gichner, T. 2003. Differential Genotoxicity of *Ethyl Methanesulphonate*, *N-Ethyl-N-nitrosourea* and *Maleic Hydrazide* in Tobacco Seedlings Based on Data of the Comet assay and two recombination assay. *Mutation Res.* .....
- Gichner. T., D.A. Stavevra, and F. Van breusegem. 2001. O-Phenylene Diamine-Induce DNA Damage and Mutagenicity in Tobacco Seedlings Is Light- .....



- Gunawan, L. W. 1987. Teknik kultur jaringan tumbuhan. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor. 252-304 hal.
- Gusmali, Verawati. et. al. 2002. Pembentukan umbi mikro kentang (*Solanum tuberosum*. L) kultivar Atlantik pada beberapa konsentrasi sukrosa. Universitas Andalas. Padang.
- Heddy, S, 1986. Hormon tumbuhan. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 97 hal
- Hendaryono dan wijayani. 1994. Teknik kultur jaringan. Kanisius. Yogyakarta. 139 hal.
- Imelda, M. 2000. Chemical Mutation by *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) For Bunchy Top Virus Resisten in Banana. Bogor. Indonesia.
- Kane, M. E. 1996. Micropropagation of potato by node culture and microtuber production. Dalam: R. N. Trigiano and D. J. Gray (eds). Plant tissue culture concepts and Laboratory exercise. CRC Press. New York. 26 p.
- Lakitan, B. 1996. Fisiologi Tumbuhan dan Perkembangan Tanaman. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta 218 hal.
- Lizt, R.E, P A.Moon,and V,M.Chavez,1995.Somatic embryogenesis from leaf callus derived from mature trees of the cycad *Ceratozamia Hildae* (Gymnospermae).Plant Cell.Tissue Organ Culture 40 : 25-31.
- Mangal, M. dan D.R. Sharma. 2002. In vitro Mutagenesis and Cell Selection For The Induction of Black Rot Resistance in Cauliflower. *J. Hort Sci Biotech.* 77: 268-272.
- Mariska, L. Dan E.G. Lestari. 2003. Pemanfaatan Kultur In Vitro untuk Meningkatkan Keragaman Genetik Tanaman Nilam. Journal Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Badan Litbang Pertanian. 2(2) : 64-69
- Micke, A. 1996. 70 Years Induced Mutation to Be Reconsidered. *Mutation Breeding*. Newsletter. 42: 22-24.
- Micke, A,B. Donini, dan M, Maluszynski. 1993. Les Mutation Induites en Amelioration des Plantes. *Mutation Breeding Newsl.* 42:26.
- Moore, T.C. 1979. Biochemistry and physiology of plant hormones. springerVerlag. New York. 175 pp.
- Murashige, T, and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. *Physiol Plant* (15) : 473-497.
- Murashige, TC. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
- Pierik, R.L.M. 1971. Plant Tissue Culture as Motivation for The Symposium dalam K. v. Bragt et al [eds.]. Effects of Sterilisation on Components in nutrient Media. Wageningen: Vennman and Zonen.

- Priyono dan A. W. Susilo, 2002. Respons Regenerasi In-Vitro Eksplant Sisik Mikro Kerk Lily (*Lilium longiflorum* T.) Terhadap *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS). *Jurnal Ilmu Dasar*. 3 (2): 74-79
- Purmaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa gen yang Mengendalikannya. *Buletin AgroBio*, Vol.5No.2. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. Hal. 51-58.
- Purwanti, R.D., Sudjindro, Kartini, dan Sudarsono, 2008. Keragaman Genetika Varian Abaka yang Diinduksi dengan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS). *Jurnal Litri* 14(1), Maret 2008. Hlm 16-24 ISSN 0853-8212
- Rahayu, G. 2008. Respon beberapa genotipe padi (*Oryza sativa* L.) terhadap 2,4-D dalam induksi kalus embriogenik secara *in vitro*. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Rubatsky, V. dan M. Yamaguchi, 1995. Sayuran Dunia: Prinsip, produksi, dan gizi. ITB, Bandung. 315 hal.
- Rukmana, 1996. Kentang budidaya dan pasca panen. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 108 hal.
- Satria, B. Zainal. 2004. Perbanyak vegetative durian Aripan (*Durio zibethinus* Murr.) melalui regenerasi kalus in-vitro. *Jurnal Stigma. Faperta Unand*. XII (1). Hal: 19-24
- Setiadi dan S.F. Nurulhuda. 1993. Kentang, Varietas dan Pembudidayaannya. Penerbit PT. Penebar Swadaya. Jakarta. 87 hal.
- Singh, R. K dan D. N. Singh. 1996. Induce Mutation for Disease Resistance in Sugareane. *Mutation Breeding*. 42: 20-22.
- Smith, E.F. 1992. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiment. New York: Academic Press Inc.
- Soelarso, B. R. 1997. Budidaya kentang bebas penyakit. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 79 hal.
- Suliansyah, I. 2009. Pengembangan bahan ajar mata kuliah kultur jaringan tanaman. Universitas Andalas. Padang
- Sunarjono, H. 1975. Budidaya Kentang (*Solanum tuberosum*, L). PT. Soeroengan. Jakarta. 66 hal
- Suryowinoto, M. 1990. Tenaga atom pemanfaatannya dalam biologi dan pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 265 hal.
- Warnita., Y. Yanti, dan D. Hervani. 2009. Induksi Varian Somaklonal Kentang Untuk Meningkatkan Keteriggangan Terhadap Penyakit Hawar Daun. Unand. Padang.

- Wattimena, G. A., L.W Gunawan., A. Syamsudin., Wiendi dan Ernawati. 1991. Bioteknologi tanaman. PAU IPB. Bogor.
- Wattimena, G. A., dan Mattjik.1992. Pemuliaan Tanaman secara In vitro dalam Bioteknologi Tanaman. PUA Bioteknologi. IPB. Bogor. 309 hal.
- Wattimena, G. A., Mc. Cown dan G. Weiss. 1983. Comparative Field Performance of Potatoes From Microculture. *Am. Potato J.* 60: 27-33.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU. Bioteknologi. IPB. Bogor.247 hal.
- Yadaf, N.R.,M.B. Sticklen. 1995. Direct and efficient plant regeneration from leaf explant of *Solanum tuberosum* L. Cv. Bintje. *Plant Cell. Rep.*14: 645-647
- Yanti, Y. 2007. Morphological Variation Planlet “Raja Sereh” Banana Treatments of *Ethyl Methane Sulphonate Muthagen* Throuhg *in vitro*. The Third Asian Conference on Plant Pathology. Yogyakarta. 20-24 August 2007.
- Zulfiana, D. 2000. Respon kultur nodus dan daun kentang (*Solanum tuberosum* L var Granola) terhadap pemberian NAA dan BAP. Skripsi Sarjana Biologi. FMIPA. Universitas Andalas. Padang 53 hal.

Lampiran 1. Jadwal Pelaksanaan Percobaan dari awal Bulan Juli 2011 sampai Desember 2011

KEGIATAN	MINGGU ke-											
	Juli	Agustus	September	Oktober	November	Desember						
Persiapan alat dan bahan	■											
Pembuatan media induksi kalus	■											
Penanaman Tahap induksi kalus		■										
Penumbuhan induksi kalus		■	■	■								
Pembuatan media regenerasi				■								
Penanaman tahap regenerasi kalus					■							
Pemeliharaan		■	■	■	■	■						
pengamatan												

## Lampiran 2. Komposisi media Murashige dan Skoog

Nama Stok	Bahan Kimia	Konsentrasi (mg/l)	Stok (mg)	Ket.
I. Makro	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440.000	2200.00	5 x Kelarutan 250 ml Pipet 50 ml/l
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170.000	850.00	
	KNO <sub>3</sub>	1.900.000	950.00	
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370.000	1850.00	
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.650.000	8250.00	
II. Mikro	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025	1.25	50 x Kelarutan 250 ml Pipet 5 ml/l
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025	1.25	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.200	310.00	
	KI	0.830	41.50	
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22.300	1115.00	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.250	12.50	
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.600	430.00	
III. Fe.NaEDTA	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.800	1390.00	50 x Kelarutan 250 ml Pipet 5 ml/l
	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	37.300	1865.00	
IV. Vitamin	Glycine	2.000	100.00	50 x Kelarutan 250 ml Pipet 5 ml/l
	Nicotinic Acid	0.500	25.00	
	Pyridoxine-HCl	0.500	25.00	
	Thiamine-HCl	0.100	5.00	
V. Myo	Myo-inositol	100.000	2000.00	20xKelarutan 200 ml Pipet 10 ml/l

Sumber : Murashige and Skoog (1962)

Lampiran 3. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium Berdasarkan RAL  
(Faktorial)

a1b2 <sup>1</sup> ***	a2b4 <sup>3</sup> ***	a1b2 <sup>2</sup> ***	a2b1 <sup>1</sup> ***	a3b1 <sup>1</sup> ***
a2b2 <sup>1</sup> ***	a4b3 <sup>2</sup> ***	a3b2 <sup>3</sup> ***	a2b5 <sup>2</sup> ***	a3b3 <sup>3</sup> ***
a2b5 <sup>3</sup> ***	a3b5 <sup>1</sup> ***	a1b1 <sup>3</sup> ***	a4b3 <sup>1</sup> ***	a3b1 <sup>3</sup> ***
a3b5 <sup>3</sup> ***	a1b2 <sup>3</sup> ***	a2b1 <sup>3</sup> ***	a2b3 <sup>1</sup> ***	a2b2 <sup>2</sup> ***
a1b3 <sup>2</sup> ***	a1b5 <sup>2</sup> ***	a4b1 <sup>2</sup> ***	a2b2 <sup>2</sup> ***	a3b3 <sup>2</sup> ***
a2b4 <sup>2</sup> ***	a1b1 <sup>2</sup> ***	a3b3 <sup>3</sup> ***	a3b4 <sup>3</sup> ***	a1b3 <sup>1</sup> ***
a2b3 <sup>3</sup> ***	a1b4 <sup>1</sup> ***	a4b2 <sup>2</sup> ***	a4b1 <sup>1</sup> ***	a3b3 <sup>1</sup> ***
a2b2 <sup>3</sup> ***	a1b1 <sup>1</sup> ***	a3b2 <sup>1</sup> ***	a3b1 <sup>3</sup> ***	a3b2 <sup>2</sup> ***
a3b3 <sup>2</sup> ***	a4b4 <sup>2</sup> ***	a4b5 <sup>2</sup> ***	a2b1 <sup>2</sup> ***	a1b5 <sup>3</sup> ***
a3b2 <sup>3</sup> ***	a3b4 <sup>3</sup> ***	a1b5 <sup>1</sup> ***	a4b2 <sup>1</sup> ***	a3b5 <sup>3</sup> ***
a3b4 <sup>2</sup> ***	a1b4 <sup>3</sup> ***	a1b4 <sup>2</sup> ***	a4b5 <sup>1</sup> ***	a2b5 <sup>1</sup> ***
a3b4 <sup>1</sup> ***	a2b4 <sup>1</sup> ***	a1b3 <sup>3</sup> ***	a4b4 <sup>1</sup> ***	a3b1 <sup>2</sup> ***

Keterangan: axby = kombinasi perlakuan

\*= botol kultur

1,2,3= ulangan

**Lampiran 4. Deskripsi tanaman kentang batang hitam**

Hasil Persilangan	: Blauwe Reuzen x Fransen
Family	: Solanaceae
Genus	: <i>Solanum</i>
Spesies	: <i>tuberosum</i>
Cultivar	: Batang Hitam
Tinggi Tanaman	: Menengah hingga tinggi
Struktur Tipe Daun	: Semi tegak dan menyebar
Bentuk batang	: Segi empat
Warna batang	: Pangkal ungu kehitaman
Bentuk umbi	: Oval
Ukuran umbi	: Sedang – Besar
Warna kulit	: Kuning
Warna daging	: Kuning
Kedalaman mata	: Cukup dangkal
Dormansi	: Sedang – panjang
Umur Panen	: 101-110 hari
Hasil Panen	: Sedang
Kegunaan	: Untuk konsumsi segar, industri pengolahan
Ketahanan terhadap hawar daun	: Rentan
Ketahanan terhadap penyakit umbi	: Rentan

## Lampiran 5. Tabel analisis ragam dari beberapa variabel pengamatan

## a. Bobot kalus (g)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. hit	F. tabel 5%
Faktor A	3	0,78	0,26	8,67 *	2,84
Faktor B	4	0,09	0,02	0,67 <sup>tn</sup>	2,61
Interaksi AB	12	0,7	0,058	1,94 <sup>tn</sup>	2,00
Sisa	20	1,22	0,03		
Total	40	2,79			
KK = 37,7 %					

\*) = berbeda nyata

<sup>tn</sup> = berbeda tidak nyata

## b. Diameter kalus (cm)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. hit	F. tabel 5%
Faktor A	3	0,21	0,07	3,78 *	2,84
Faktor B	4	0,12	0,03	1,62 <sup>tn</sup>	2,61
Interaksi AB	12	0,33	0,3	1,49 <sup>tn</sup>	2,00
Sisa	20	0,74	0,018		
Total	40	1,39			
KK = 20,30 %					

\*) = berbeda nyata

<sup>tn</sup> = berbeda tidak nyata