© HAK CIPTA MILIK UNIVERSITAS ANDALAS

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.

RESPON KALUS KENTANG (SOLANUM TUBEROSUM L.) HASIL RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP PEMBERIAN BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP SECARA IN VITRO

TESIS

YULIZA MAYASARI
0821201001

PROGRAM
PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2011

Respon Kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In Vitro*

Oleh : Yuliza Mayasari

(Di bawah bimbingan Ardi dan Irawati Chaniago)

RINGKASAN

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif yang memiliki banyak keunggulan. Salah satu keunggulan dari teknik ini adalah akan dihasilkan bibit tanaman yang tahan baik terhadap kondisi lingkungan tertentu maupun ketahanan terhadap hama dan penyakit. Salah satu jenis tanaman yang dibudidayakan secara kultur jaringan adalah kentang (*Solanum tuberosum* L.).

Pemenuhan akan kebutuhan kentang sering mengalami kendala akibat terserang penyakit hawar daun. Di Indonesia penyakit ini dapat menurunkan hasil sampai 80% pada musim hujan. Salah satu cara pengendalian penyakit ini dapat dilakukan dengan menggunakan varietas yang tahan. Upaya untuk mendapatkan varietas baru yang tahan salah satunya dapat dilakukan dengan cara mutasi pada tanaman. Penggunaan mutagen fisik pada tanaman sangat dianjurkan dibandingkan dengan mutagen kimia, karena akan mengakibatkan frekuensi mutasi yang tinggi. Mutasi fisik ini dapat dilakukan dengan penyinaran yang menggunakan beberapa sinar seperti sinar gamma dan sinar ultra violet (UV).

Efek radiasi sinar gamma dapat menyebabkan perubahan genetik di dalam sel somatik (mutasi somatik), dapat diturunkan dan dapat menyebabkan terjadinya perubahan fenotipe. Namun disisi lain penyinaran yang dilakukan pada kalus kentang memungkinkan memberi pengaruh dalam kecepatan regenerasi kalus. Regenerasi kalus menjadi *plantlet* adalah salah satu tahap yang penting dalam teknik kultur jaringan. Salah satu hal yang membantu regenerasi kalus menjadi *plantlet* adalah dengan penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT).

Pada penelitian ini didapatkan hasil pada kalus kentang yang telah diradiasi sinar gamma terjadi interaksi antara NAA dengan BAP pada beberapa perlakuan. Pemberian beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada kalus hasil radiasi hanya mampu mempengaruhi pertumbuhan kalus seperti pertambahan diameter kalus sedangkan untuk diferensiasi sel membentuk akar maupun tunas belum dapat dipicu oleh perlakuan yang diberikan.

Konsentrasi NAA dan BAP terbaik yang mempengaruhi pertambahan diameter kalus adalah pada konsentrasi 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP. Sedangkan pada kalus kentang tanpa radiasi dengan penambahan 1.00 mg/l NAA dengan 1.00 mg/l BAP dapat memicu kalus untuk berdiferensiasi membentuk *rootlet, shootlet*, dan *plantlet*.

Key word : *Kalus, NAA, BAP, kentang dan Regenerasi*

RESPON KALUS KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) HASIL RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP PEMBERIAN BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP SECARA *IN VITRO*

Oleh

YULIZA MAYASARI

0821201001

T e s i s

Sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Magister Pertanian
pada Program Pascasarjana Universitas Andalas

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
P A D A N G
2011

Judul Penelitian : **RESPON KALUS KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) HASIL RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP PEMBERIAN BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **YULIZA MAYASARI**

No. Buku Pokok : **0821201001**

Program Studi : **AGRONOMI**

Tesis ini telah diuji dan dipertahankan di depan sidang panitia ujian akhir Magister Pertanian pada Program Pascasarjana Universitas Andalas pada tanggal 17 Januari 2011.

Menyetujui

1. Komisi Pembimbing

Prof. Ir. H. Ardi, MSc
Ketua

Dr. Ir. Irawati Chaniago, MRurSc
Anggota

2. Ketua Program Studi Agronomi

Prof. Dr. Ir. H Zulfadli Syarif, MP.
NIP. 19530313 198403 1 001

3. Direktur Program Pasca Sarjana
Universitas Andalas

Prof. Dr. Ir. H. Novirman Jamarun, MSc
NIP. 19551106 198003 1 001

Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang

Wahai orang-orang yang beriman mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan sholat..Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar.
(Al-Baqarah 153)

Rasa syukur yang tak terhingga atas rahmat Mu ya Allah yang telah memberikan ku kemudahan atas hidupku…..
mengingatkanku disaat ku khilaf……..
memberikan apa yang kubutuhkan disaat yang tepat dan indah……
Sesungguhnya banyak hal dan pelajaran berharga yang Engkau berikan padaku……

Tugas Akhir ini ku persembahan untuk Kedua orang tuaku Papa Drs. Zaizul Anwar, B dan Mama Syafrija Mailinda, BAc. yang slalu memberikan doa dan cintanya kepadaku…..
Kepada Kakakku Meriza Oktapia, SE, Aa' Yogi Kusmandhani, SE Akt. dan adikku Agam Rauzulma Warizki, sepupuku Syafdiani Serta kedua ponakanku Adzkia Rayzanaya Putri dan Razka Rayzazahran Putra yang paling kusayangi….
Yang selalu memberikan saat-saat terindah, doa dan semangat dalam hidupku…..
Setiap hari yang telah terlewati dan akan kita lalui adalah janjiku untuk selalu memberikan kebahagian dan menjadi kebanggan bagi keluargaku…….

Kepada kedua dosen pembimbingku yang juga telah menjadi orang tua bagiku Bapak Prof. Ir. H. Ardi, MSc dan Ibuk Dr. Ir. Irawati Chaniago, MRurSc yang selalu membimbing, memberi nasehat, kemudahan dan semangat kepadaku…terimakasih Bapak Ibuk, takkan pernah kulupakan semua pelajaran dan nasehat yang pernah engkau berikan….

Kepada dosen-dosen ku Bapak Prof. Irfan Suliansyah, Ibuk Prof. Warnita, Bapak Dr. Benni Satria , bapak Prof. Zulfadli Syarif , Bapak Soemarsono, MP dan ibuk Aisyah serta seluruh dosen lainnya yang tak dapat kusebut satu persatu yang slalu menyemangatiku…

Untuk adikku Zulfan Effendi NST, SP. dan Erliana Br Sitepu, SP. Yang selalu menemani dan membantu dalam penelitian ini…….
sahabat-sahabat terbaikku Novita Hera, SP, Ilham hidayat, SP, Safwal, SP, Nini marta, SP, Tari SP dan Selly wilova, SP terimakasih atas waktu dan semangat yang telah kalian berikan…….serta seluruh teman-teman yang tak dapat kusebut satu persatu, semua adek2ku di green house… terimakasih untuk semuanya…Hanya Allah yang bisa membalas semua kebaikan yang telah kalian berikan..

If there's a will there's a way……..
Allah bless us….

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini menyatakan bahwa isi tesis yang saya tulis dengan judul **"Respon Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In Vitro*"** adalah kerja/karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil kerja/karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini ternyata tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 17 Januari 2011

Yang membuat pernyataan

Yuliza Mayasari

No. BP : 0821202001

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Padang, Sumatera Barat pada tanggal 17 Juli 1986 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari ayah Drs. Zaizul Anwar, B. dan Ibu Syafrija Mailinda, BAc. Penulis menamatkan SD pada tahun 1998 di SD Muhamaddiyah 2 Pontianak, SMP pada tahun 2001 di SMPN 3 Pontianak dan SMAN 2 Padang pada tahun 2004. Penulis memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas Padang tahun 2008. Pada tahun 2008 juga penulis memperoleh kesempatan meneruskan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Andalas di Padang.

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Respon Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In Vitro*

ABSTRAK

Percobaan tentang Respon Kalus Kentang(*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In vitro* telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Percobaan ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai Agustus 2010. Tujuan penelitian ini adalah (i). Untuk melihat ada tidaknya interaksi konsentrasi NAA dengan BAP pada regenerasi kalus kentang hasil radiasi (ii). Untuk mendapatkan konsentrasi NAA dengan BAP terbaik bagi regenerasi kalus kentang.

Percobaan ini disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam bentuk faktorial dengan dua faktor dan tiga ulangan. Sebagai faktor pertama adalah beberapa konsentrasi NAA yaitu 0.25 mg/l, 0.50 mg/l, 0.75 mg/l dan 1.00 mg/l. Faktor kedua adalah beberapa konsentrasi BAP yaitu 0.50 mg/l, 1.00 mg/l, 1.50 mg/l dan 2.00 mg/l. Data hasil percobaan dianalisis menggunakan sidik ragam dan bagi yang berbeda nyata dilanjutkan uji BNJ pada taraf nyata 5 %.

Dari hasil percobaan ini menunjukkan terdapat interaksi konsentrasi NAA dengan BAP tetapi belum mampu memicu kalus untuk beregenerasi baik untuk membentuk tunas maupun akar. Tetapi konsentrasi NAA dengan BAP yang diberikan telah mampu memacu pertambahan ukuran diameter kalus. Ukuran diameter kalus terpanjang didapatkan pada perlakuan 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP.

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Potato (*Solanum tuberosum* L.) Callus Response Gamma Radiation Result to several of NAA and BAP Concentrations In accordance with *In Vitro*

ABSTRAC

Experiments on Potato Callus Response Radiation Results to several of the NAA and BAP concentrations in accordance with *in vitro* have been conducted in the Tissue Culture Laboratory of Agricultural Faculty of Andalas University in Padang. The experiment was conducted from March to August 2010. The purpose of this study were (i). To view the presence or absence of interaction concentrations of NAA and BAP on callus regeneration potato radiation results (ii). To obtain the best concentrations of NAA and BAP for potato callus regeneration.

The experiment is based on completely randomized design (CRD) in factorial form with two factors and three replications. As the first factor is the number of NAA concentration of 0.25 mg/l, 0.50 mg/l, 0.75 mg/l and 1.00 mg/l. The second factor is the number of BAP concentration of 0.50 mg/l, 1.00 mg/l, 1.50 mg/l and 2.00 mg/l. Experimental data were analyzed using ANOVA and significantly different for the trial resumed BNJ at 5% significance level.

From the results of this experiment showed there is an interaction of NAA and BAP concentrations given but have not been able to regenerate both triggered callus to form shoots or roots. But the combination of NAA and BAP provided has been able to trigger accretion callus diameter. The size of the longest diameter of callus obtained on treatment 1.00 mg / l NAA with 2.00 mg BAP.

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini, serta selawat dan salam untuk Nabi besar Muhammad SAW sebagai pembawa risalah untuk kesejahteraan umat manusia.

Tesis ini berjudul **"Respon Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In Vitro*"** dari Program Studi Agronomi dalam mata kuliah Kultur Jaringan Tanaman, Pasca Sarjana Universitas Andalas.

Pernyataan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya penulis tujukan pada Bapak Prof. Ir. H. Ardi, MSc dan Ibu Dr. Ir. Irawati Chaniago, MRurSc. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis, kepada Prof. Dr. Ir. Hj. Warnita, MS yang telah bersedia memberikan sumber eksplan untuk penelitian ini dan semua pihak yang telah banyak membantu penulis, kepada kedua orang tua yang selalu memberi doa serta dukungannya baik secara moril dan materil dalam penyusunan tesis ini.

Akhir kata semoga percobaan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pertanian pada khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya. Kritikan dan saran yang membangun untuk kesempurnaan tesis ini sangat penulis harapkan.

Padang, Januari 2011

YM

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
ABSTRAK	vii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan masalah	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kentang (*Solanum tuberosum* L.)	7
2.2 Kultur Jaringan	10
2.3 Mutasi	15
III. BAHAN DAN METODA	
3.1 Tempat dan waktu	18
3.2 Bahan dan alat	18
3.3 Rancangan	18
3.4 Pelaksanaan	20
3.5 Pengamatan	22
3.6 Pemeliharaan	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Gambaran umum penelitian	24
4.2 Diameter kalus	26
4.3 Warna kalus	32
4.4 Persentase kalus tidak mampu beregenerasi	34

4.5 Persentase terbentuknya tunas / *shootlet*..... 37
4.6 Persentase terbentuknya akar / *rootlet*..... 39
4.7 Persentase terbentuknya *plantlet*..... 42

V. PENUTUP

5.1 kesimpulan..... 45
5.2 Saran..... 45

Daftar Pusataka

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Respon diameter awal kalus kentang hasil radiasi……	26
2.	Respon diameter akhir kalus kentang hasil radiasi……..	27
3.	Perbandingan respon warna kalus tiap-tiap perlakuan….	33
4.	Data diameter awal kalus tanpa radiasi.....	58
5.	Data diameter akhir kalus tanpa radiasi.....	58

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Subkultur kalus pada media 3.00 mg/l NAA dengan 5.00 mg/l BAP.....	25
2.	Perbandingan ukuran diameter kalus kentang hasil radiasi.....	28
3.	Perbandingan pertumbuhan tunas kalus hasil radiasi dan tanpa radiasi.....	37
4.	Beberapa foto kalus tanpa radiasi yang mampu Membentuk akar.....	40

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Jadual kegiatan penelitian respon kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP secara *in vitro* mulai dari bulan maret sampai agustus 2010	52
2.	Deskripsi tanaman kentang varietas batang hitam.....	53
3.	Komposisi media *Murashige and Skoog* (MS).....	54
4.	Denah peletakan perlakuan beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada regenerasi kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil radiasi.....	55
5.	Perhitungan pemipetan NAA dan BAP.....	56
6.	Denah peletakan sampel perlakuan beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada regenerasi kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil radiasi	57
7.	Diameter awal dan akhir kalus tanpa radiasi.....	58
8.	Tabel sidik ragam respon kalus kentang hasil radiasi sinar gamma terhadap pemberian beberapa konsentrasi NAA dan BAP.....	59

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif yang memiliki banyak keunggulan. Salah satu keunggulan dari teknik ini adalah akan dihasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dan relatif seragam. Selain itu teknik kultur jaringan sering digunakan untuk dapat menghasilkan tanaman yang tahan baik terhadap kondisi lingkungan tertentu maupun ketahanan terhadap hama dan penyakit.

Salah satu jenis tanaman yang dibudidayakan secara kultur jaringan adalah kentang (*Solanum tuberosum* L.). Kentang merupakan salah satu komoditas sayuran penting di Indonesia. Produksi kentang telah berkembang dengan pesat selama dekade terakhir dan kini Indonesia telah menjadi negara penghasil kentang terbesar di Asia Tenggara. Hal ini tidak terlepas dari peran Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa) dalam menghasilkan benih unggul kentang yang bermutu.

Tanaman kentang memiliki kandungan karbohidrat, protein, asam amino essensial, dan protein yang lengkap. Menurut Niederhauser (1993) perbandingan protein dan karbohidrat tanaman kentang lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanaman *cerealia*. Oleh karena itu permintaan akan pemenuhan kebutuhan kentang dari tahun ke tahun meningkat.

FAO menetapkan 2008 sebagai tahun kentang Internasional (*International Potato Year*), dimana kentang diharapkan sebagai pilihan diversivikasi sumber karbohidrat yang dapat membantu memperkuat ketahanan pangan. Oleh karena itu untuk menunjangnya perlu peningkatan produksi varietas kentang unggulan, baik sebagai produk segar maupun olahan. Permasalahan yang selama ini terjadi adalah rendahnya produktifitas kentang nasional, baru mencapai 10 ton/ha dari potensi produksi 40 ton/ha (Baharuddin, 2009).

Pemenuhan akan kebutuhan kentang sering mengalami kendala akibat terserang penyakit hawar daun. Di Indonesia penyakit ini dapat menurunkan hasil sampai 80% pada musim hujan. Gejala penyakit dapat timbul pada semua tingkat perkembangan tanaman. Bercak hitam kecoklatan atau keunguan mulai timbul pada helai daun, tangkai, atau batang dan bila keadaan mendukung akan meluas dengan cepat, sehingga dapat menyebabkan kematian.

Salah satu cara pengendalian penyakit ini dapat dilakukan dengan menggunakan varietas yang tahan. Upaya untuk mendapatkan varietas baru yang tahan salah satunya dapat dilakukan dengan cara mutasi pada tanaman. Mutasi adalah perubahan genetik baik gen tunggal, sejumlah gen atau susunan kromosom, dapat terjadi pada setiap bagian tanaman terutama bagian yang aktif melakukan pembelahan sel (Micke dan Donini, 1993).

Mutasi ini dapat dilakukan secara fisik dan kimia. Penggunaan mutagen fisik pada tanaman sangat dianjurkan dibandingkan dengan mutagen kimia, karena akan mengakibatkan frekuensi mutasi yang tinggi. Mutasi fisik ini dapat

dilakukan dengan penyinaran yang menggunakan beberapa sinar seperti sinar gamma dan sinar ultra violet (UV).

Radiasi sinar gamma sering digunakan dalam usaha pemuliaan tanaman karena dapat meningkatkan variabilitas, sehingga dapat menghasilkan mutan baru (Wattimena 1992; Al-Safadi *et al.*, 2000). Selain itu sinar gamma (γ) yang bersumber dari isotop Cobalt-60 (Co-60) dan Caesium-137 (Cs-137) sering digunakan karena (i) mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek (10 - 0.01 nm) dibandingkan sinar UV (ii) mempunyai spektrum yang luas (iii) penetrasi ke jaringan tanaman relatif mudah (iv) frekuensi mutasi yang terjadi cukup tinggi, dan (v) mudah diaplikasikan (Van Harten, 1998).

Efek radiasi sinar gamma dapat menyebabkan perubahan genetik di dalam sel somatik (mutasi somatik), dapat diturunkan dan dapat menyebabkan terjadinya perubahan fenotipe. Perubahan tersebut dapat terjadi secara lokal pada tingkat sel atau kelompok sel sehingga individu dapat menjadi *kimera* (memiliki dua genotipe yang berlainan) (Ismachin, 1988).

Seperti contoh pada penelitian Zarmiyenni *et al.* (2007) tentang resistensi pisang barangan hasil radiasi sinar gamma terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan bahwa tunas yang diradiasi sinar gamma, baik 10 Gy maupun 20 Gy memiliki ketahanan yang lebih tinggi terhadap perlakuan asam fusarat dibandingkan tunas kontrol (persentase layu yang lebih rendah dan persentase *recovery* yang lebih tinggi dibandingkan plantlet kontrol). Artinya disini adalah terdapat mutasi pada tunas yang telah disinari

sehingga memiliki ketahanan terhadap *Fusarium* bila dibandingkan dengan yang tanpa diradiasi.

Pada penelitian ini digunakan kalus kentang yang telah diradiasi dengan sinar gamma dengan kekuatan 30 Gy, hal ini dikarenakan jumlah kalus terbanyak yang dapat bertahan setelah beberapa kali subkultur dari penelitian sebelumnya adalah kalus yang disinari gamma 30 Gy. Selain itu dengan semakin tinggi tingkat radiasi yang diberikan pada tanaman, semakin mudah tanaman tersebut mengalami mutasi sehingga tingkat keragaman somaklonal semakin tinggi. Pemberian radiasi sinar gamma dengan dosis 10 – 100 Gy pada kalus dapat menyebabkan peningkatan keragaman somaklonal (Van Harten, 1998).

Namun disisi lain penyinaran yang dilakukan pada kalus kentang memungkinkan memberi pengaruh dalam kecepatan regenerasi kalus. Menurut pendapat Cassaret (1968) perlakuan radiasi akan menyebabkan kerusakan sel atau terhambatnya metabolisme sel karena adanya gangguan sintesis RNA sehingga sintesis enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan terhambat.

Regenerasi kalus menjadi *plantlet* adalah salah satu tahap yang penting dalam teknik kultur jaringan. *Plantlet* adalah hasil perbanyakan tanaman yang secara *in vitro* yang terdiri dari *rootlet* (akar) dan *shootlet* (tunas). Salah satu hal yang membantu regenerasi kalus menjadi *plantlet* adalah dengan penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT). Auksin dan sitokinin adalah dua ZPT yang umumnya digunakan untuk meregenerasikan kalus menjadi *plantlet*. Komposisi auksin dan sitokinin dalam media kultur *in vitro* memainkan peranan penting dalam induksi dan regenerasi kalus menjadi tunas / *shootlet* (Zheng *et al.*, 1999). Kombinasi

yang tepat dari auksin dan sitokinin sangat menunjang keberhasilan regenerasi kalus.

Interaksi antara auksin dan sitokinin merupakan hal yang krusial dalam mengontrol proses pertumbuhan dan perkembangan dalam kultur *in vitro* (Gaba, 2005). Walaupun auksin berperan utama dalam pembelahan sel, namun pada beberapa tanaman sitokinin juga sangat dibutuhkan untuk poliferasi kalus (Wattimena *et al.*, 1992). Nisbah antara auksin dan sitokinin yang akan menentukan apakah kalus akan beregenerasi. Menurut Husein *et al.* (2005) media yang paling sesuai untuk regenerasi kalus kentang adalah media MS dengan 2.00 mg/l BAP dengan 0.50 mg/l IAA.

Beberapa konsentrasi ZPT yang digunakan dalam regenerasi kalus hasil radiasi tentunya akan mendapatkan respon berbeda-beda pada tiap kalus hasil radiasi. Oleh karena hal tersebut diatas penulis tertarik melakukan penelitian yang berjudul "Respon Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP secara *In Vitro*".

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan paparan di atas maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan yaitu (i). Apakah terjadi interaksi antara NAA dengan BAP yang diberikan pada kalus kentang hasil radiasi. (ii). Berapakah konsentrasi NAA dengan BAP yang terbaik untuk meregenerasikan kalus kentang hasil radiasi.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan (i). Untuk melihat ada tidaknya interaksi konsentrasi NAA dengan BAP pada regenerasi kalus kentang hasil radiasi (ii). Untuk mendapatkan konsentrasi NAA dan BAP terbaik bagi regenerasi kalus kentang.

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah (i). Adanya interaksi antara konsentrasi NAA dengan BAP yang digunakan pada perkembangan kalus kentang (ii). Konsentrasi NAA dengan BAP akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perkembangan kalus.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan informasi tentang konsentrasi NAA dengan BAP yang tepat, untuk diberikan kepada kalus kentang yang telah diradiasi sinar gamma dengan kekuatan 30 Gy, sehingga kalus tersebut dapat beregenerasi.

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kentang (*Solanum tuberosum*)

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan tanaman semusim yang berbentuk semak, termasuk Divisi *Spermatophyta*, Subdivisi *Angiospermae*, Kelas *Dicotyledonae*, Ordo *Tubiflorae*, Famili *Solanaceae*, Genus *Solanum*, dan Spesies *Solanum tuberosum* L. (Beukema, 1977). Di Indonesia pertanaman kentang banyak diusahakan di daerah dataran tinggi (1000 – 3000 m dpl) dengan sentra produksi kentang adalah Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Sulawesi Selatan, Sumatra Utara, Sumatra Barat, dan Jambi.

Saat masuknya tanaman kentang di Indonesia tidak diketahui dengan pasti, tetapi pada tahun 1794 tanaman kentang ditemukan telah ditanam di sekitar Cisarua (Kabupaten Bandung). Pada tahun 1811 tanaman kentang telah tersebar luas di Indonesia, terutama di daerah-daerah pegunungan di Aceh, Tanah Karo, Sumatera Barat, Bengkulu, Sumatera Selatan, Minahasa, Bali, dan Flores. Di Jawa daerah-daerah pertanaman kentang berpusat di Pangalengan, Lembang, dan Pacet (Jawa Barat), Wonosobo dan Tawangmangu (Jawa Tengah), serta Batu dan Tengger (Jawa Timur) (Permadi, 1989).

Daerah yang mempunyai suhu udara maksimal 30°C dan suhu udara minimum 15°C adalah sangat baik untuk pertumbuhan tanaman kentang daripada daerah yang mempunyai suhu relatif konstan yaitu rata-rata 24°C. Di daerah beriklim sub tropis dan di dataran tinggi tropika pembentukan umbi terjadi dengan baik pada suhu siang 25° C dan suhu malam 17° C atau lebih rendah. Suhu tanah yang baik untuk pertumbuhan umbi adalah 14.9 sampai 17.7° C (Ashandhi dan

Gunadi, 2006). Menurut Mahmood *et al.* (2002) suhu tanah berhubungan dengan proses penyerapan unsur hara oleh akar, fotosintesis dan respirasi.

Kentang merupakan salah satu pangan utama dunia setelah padi, gandum, dan jagung (Wattimena, 2000). Disamping itu, kentang termasuk salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai nilai perdagangan domestik dan potensi ekspor yang cukup baik.

Namun demikian, kemampuan produksi kentang Indonesia hanya dapat memenuhi 10% konsumsi kentang nasional, yaitu 8.90 juta ton per tahun (Wattimena, 2000). Secara umum produktivitas kentang Indonesia masih rendah yaitu 16.20 t ha-1 (BPS, 2006), sedangkan produktivitas kentang negara sub tropis mencapai 37.80 t ha-1 (Nonnecke, 1989).

Kendala peningkatan produksi kentang di Indonesia diantaranya yaitu (1) rendahnya kualitas dan kuantitas bibit kentang, yang merupakan perhatian utama dalam usaha peningkatan produksi kentang di Indonesia, (2) teknik budidaya yang masih konvensional, (3) faktor topografi, dimana daerah dengan ketinggian tempat dan temperatur yang sesuai untuk pertanaman kentang di Indonesia sangat terbatas, dan (4) daerah tropis Indonesia merupakan tempat yang optimum untuk perkembangbiakan hama dan penyakit tanaman kentang (Kuntjoro, 2000). Penanaman bibit kentang bermutu, tepat waktu dan tepat umur fisiologis adalah faktor utama penentu keberhasilan produksi kentang (Wattimena, 2000).

Penyakit *Late Blight* atau yang biasa dikenal hawar daun pada kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan penyakit yang sering menjadi kendala dalam budidaya kentang. Penyakit hawar daun disebabkan oleh jamur *Phytophthora infestans*. Penyakit ini menjadi salah satu penyakit penting pada tanaman kentang di Indonesia. Penyakit hawar daun sangat merusak dan sangat sulit dikendalikan, karena *Phytophthora infestans* merupakan jamur patogen yang memiliki patogenitas yang beragam.

Pada umumnya patogen ini berkembang biak secara aseksual dengan zoospora, tetapi dapat juga berkembang biak secara seksual dengan oospora. Jamur ini bersifat heterotalik, artinya perkembangbiakannya secara seksual atau pembentukan oospora-nya hanya terjadi bila adanya perkawinan silang antara dua isolat *Phytophthora infestans* yang mempunyai tipe perkawinan berbeda.

Saat ini di Indonesia belum terdapat varietas kentang yang tahan terhadap penyakit hawar daun, sehingga menyulitkan petani untuk menghindari penyakit ini. Pengendalian penyakit dapat dilakukan dengan melaksanakan beberapa usaha secara terpadu, antara lain hanya menanam bibit yang sehat, tidak menanam tanaman kentang pada lahan yang sebelumnya pernah ditanami tanaman sejenis contoh tomat dan terung, penyemprotan dengan fungisida, menanam jenis-jenis tanaman yang tahan, menjaga kebersihan lahan dan menggunakan varietas yang tahan (www.litbang.deptan.go.id/ 2010).

Untuk mendapatkan varietas yang tahan dapat dilakukan dengan seleksi *in vitro*. Seleksi *in vitro* lebih efesien dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan, karena melalui seleksi *in vitro* jutaan sel dapat diseleksi dengan hanya

menggunakan beberapa botol kultur atau *Petri dish*, berbeda dengan seleksi di lapangan yang harus menggunakan beratus - ratus tanaman yang diuji pada areal yang lebih luas. Selain itu seleksi *in vitro* tidak terlalu dipengaruhi oleh lingkungan serta memungkinkan melakukan seleksi pada tingkat sel (Biswas *et al.*, 2002).

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan sebagai salah satu teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan atau organ tanaman yang dipelihara dalam suatu medium dan dikerjakan seluruhnya dalam keadaan aseptik (Katuuk, 1989). Teknik kultur *in vitro* telah dikenal lama dan merupakan alat yang efisien untuk multiplikasi klonal secara cepat (Rout dan Das, 2002).

Teknik kultur *in vitro* didasarkan pada empat prinsip yaitu 1). totipotensi 2). kompetisi 3). determinasi dan 4). pengaturan zat pengatur tumbuh tertentu (Hartmann *et al.*, 1990). Selanjutnya George dan Shernington (1984) mengemukakan ada empat faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur *in vitro*, yaitu : Genotipe, media kultur, lingkungan tumbuh, dan eksplan yang digunakan.

Potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Pierik, 1987). Sebagai respon terhadap hormon, baik endogen maupun eksogen akan muncul kalus. Kalus dapat juga terbentuk pada bagian yang tidak mengalami luka akibat

irisan dan sering muncul dari bagian ibu tulang daun atau tulang daun, bila helaian daun digunakan sebagai eksplan (Street, 1976; George dan Sherrington, 1984).

Eksplan yang terlalu kecil daya tahan untuk hidup kurang bagus dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit (George dan Sherrington, 1984). Ukuran eksplan yang paling baik adalah antara 0,5 – 1 cm, tetapi ukuran ini dapat bervariasi tergantung bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan eksplan serta jenis tanaman.

Teknik perbanyakan kultur jaringan terdiri atas tiga tahap. Tahap pertama merupakan tahap sterilisasi jaringan tanaman (eksplan) supaya diperoleh kultur yang bebas dan kontaminasi mikroba; tahap kedua adalah tahap memindahkan jaringan (eksplan) tersebut ke medium yang menunjang perakaran; dan tahap ketiga memindahkan tunas yang terbentuk ke media perakaran (Drew, 1980).

Media yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrien makro dan nutrien mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber tenaga, air, asam amino, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Kadang-kadang diperlukan penambahan zat lain seperti yeast, ekstra malta tau cairan tanaman sebagai sumber zat perangsang pertumbuhan (Wetherell, 1982).

Ketepatan pemberian zat hara sangat penting sebab perkembangan eksplan hanya tergantung semata-mata pada susunan zat hara yang terlarut dalam medium itu (Katuuk, 1989). Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, tampaknya media *Murashige dan Skoog* (MS) mengandung

jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Gunawan, 1990).

Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin (Gunawan, 1990). Keseimbangan zat pengatur tumbuh khususnya auksin dan sitokinin dalam media sangat menentukan keberhasilan suatu kultur (Gunawan, 1992). Auksin berperan dalam pembentukan akar, kalus, klorofil, dan morfogenesis. Sitokinin merangsang pembelahan sel, merangsang inisiasi tunas dan poliferasi tunas. Jika konsentrasi Auksin dalam jaringan tanaman tinggi maka kemungkinan akan terbentuk kalus, dan akar dan bila konsentrasi Sitokinin tinggi maka kemungkinan akan terbentuk tunas (Wattimena, 1988).

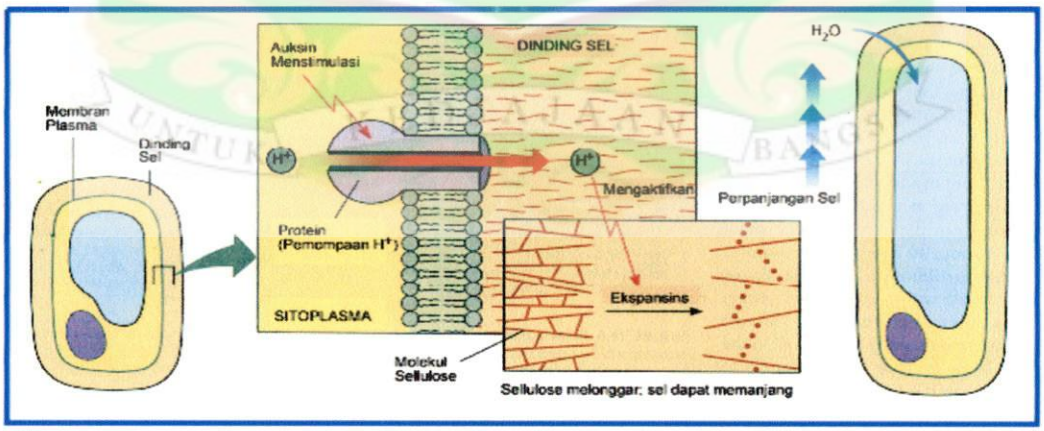
Dalam percobaan *in vitro* auksin dan sitokinin sering digunakan karena tidak mudah terdegradasi (Wiendi *et al.,* 1991). Salah satu hal yang menyebabkan degradasi pada ZPT dapat disebabkan oleh pemanasan yang dilakukan ketika pembuatan dan sterilisasi media. Contoh zat pengatur tumbuh golongan sitokinin adalah *Benzil Amino Purine* (BAP). Apabila diberikan bersama-sama auksin akan mendorong pembelahan sel dan menentukan differensiasi sel tanaman (Wattimena, 1986). Diferensiasi sel pada tanaman akan menentukan tanaman untuk dapat beregenerasi baik untuk membentuk akar (*rootlet*) maupun untuk membentuk tunas (*shootlet*).

Auksin adalah ZPT yang merangsang pembentukan akar (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Auksin memberikan pengaruh terhadap aspek perkembangan tumbuhan 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 atau akar mengalami perpanjangan sel (Heddy, 1996).

Perpanjangan sel oleh auksin didasarkan pada hipotesis pertumbuhan asam (*acid growth hypothesis*), pemompaan proton membran plasma memegang peranaan utama dalam respon pertumbuhan sel terhadap auksin. Di daerah perpanjangan tunas, auksin menstimulasi pemompaan proton membran plasma dan dalam beberapa menit auksin akan meningkatkan potensial membran (tekanan melewati membran) dan menurunkan pH dalam dinding sel.

Pengasaman dinding sel ini akan mengaktifkan enzim yang disebut *ekspansin* yang memecah ikatan hidrogen antara mikrofibril sellulose dan melonggarkan struktur dinding sel. *Ekspansin* dapat melemahkan integritas kertas saring yang dibuat dari selulose murni. Penambahan potensial membran akan meningkatkan pengambilan ion kedalam sel, yang menyebabkan pengambilan air secara osmosis. Pengambilan air bersama dengan penambahan plastisitas dinding sel, memungkinkan sel memanjang. Hal in dapat dlihat pada gambar dibawah ini.



Gambar mekanisme perpanjangan sel oleh auksin berdasarkan *Acid growth hypothesis*. (Campbell and Recce, 2002)

Auksin sangat berperan dalam proses pembentukan tunas. Auksin secara alami dihasilkan oleh tumbuhan dalam bentuk *Indol Asetic Acid* (IAA) yang banyak dihasilkan di daerah meristem apikal (Campbell, 2000). Peran auksin yang pertama dalam propagasi *in vitro* adalah merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman, dan menyebabkan terbentuknya pucuk baru. Selanjutnya auksin akan merangsang pembetukan akar (Wetherell, 1982).

Naphthalene Acetic Acid (NAA) adalah zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat meningkatkan sintesis protein. NAA adalah auksin sintetik yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempunyai sifat lebih stabil dari pada IAA.

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) IAA dapat mengalami degradasi yang disebabkan adanya cahaya atau enzim oksidatif. Oleh karena sifatnya yang labil IAA jarang digunakan dan hanya merupakan hormon alami yang ada pada jaringan tanaman yang digunakan oleh eksplan. Sedangkan NAA tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi.

Sitokinin berperan dalam merangsang proses sitokinesis (pembelahan sel) pada jaringan, seperti yang terjadi pada empulur tembakau, floem dan batang kedelai (Lakitan, 1996). Di samping itu sitokinin juga berperan dalam merangsang pertumbuhan tunas daun (Wetherell, 1982). BAP dan Kinetin merupakan sitokinin sintetik sedangkan zeatin merupakan sitokinin alami. Zeatin tidak stabil bila terkena cahaya dan harus disimpan dalam kondisi gelap, sedangkan BAP lebih stabil dalam cahaya.

George dan Sherrington (1984) melaporkan auksin (IBA, NAA, dan 2,4 D) digunakan dalam media kultur *in vitro* dengan kisaran 0.001 – 10 ppm, sedangkan sitokinin (BAP) dalam kisaran 0,04 – 50 mikrometer (0.01 - 11.27 ppm) untuk menginduksi tunas. Eksplan dari tunas pucuk mempunyai kandungan hormon endogen auksin lebih tinggi dan sistem pertahanan diri lebih tinggi sehingga lebih baik dari jaringan tua (Drew, 1980 ; Wiendi *et al.*, 1995).

2.3 Mutasi

Mutasi adalah perubahan genetik baik gen tunggal, sejumlah gen ataupun susunan kromosom, dapat terjadi pada setiap bagian tanaman terutama bagian yang aktif melakukan pembelahan sel (Micke dan Donini, 1993). Secara luas mutasi dihasilkan oleh segala macam tipe perubahan genetik yang mengakibatkan perubahan fenotipe yang diturunkan, termasuk keragaman kromosom maupun mutasi gen. Mutasi juga dapat disebut sebagai perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom dan DNA atau gen sehingga menyebabkan terjadinya keragaman genetik (Soeranto, 2003).

Keragaman genetik yang terjadi didalam kultur jaringan dapat disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (*fusi endomitosis*), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen gen dan sitoplasma (Evans dan Sharp, 1986). Yang mana perubahan ini akan terlihat secara fenotipe pada tanaman. Keragaman genetik dapat dicapai antara lain melalui fase tak berdiferensiasi yang relatuf panjang (Wattimena, 1992).

Keragaman genetik / variasi somaklonal yang didapatkan akan dapat menghasilkan varietas tanaman baru. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Muller *et al.* (1990) variasi somaklonal pada tanaman yang dihasilkan dari kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan kultivar baru.

Mutasi dapat terjadi secara tiba-tiba dan acak, merupakan dasar sebagai sumber keragaman bagi tanaman dan bersifat terwariskan (*heritance*). Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (*spontaneous mutation*) dan dapat terjadi melalui induksi (*induced mutation*) (Koornneef, 1991). Induksi mutasi dapat dilakukan secara fisik maupun kimia. Radiasi dapat menyebabkan terjadinya mutasi (Poespodarsono, 1988). Penggunaan mutagen fisik seperti radiasi sinar gamma pada kultur *in vitro* banyak dilaporkan penggunaannya dalam upaya mendapatkan keragaman somaklonal dengan berbagai karakter unggul yang diinginkan (Ahloowalia, 1990).

Keragaman somaklonal umumnya bersumber dari keragaman genetik eksplan dan dalam media kultur jaringan (Wattimena, 1992). Keragaman somaklonal merupakan mutasi *in vitro* yang secara efektif dapat ditingkatkan frekuensi terjadinya mutan somaklonal melalui pemberian mutagen fisik (Ahloowalia dan Maluszynski, 2001). Mutasi yang dihasilkan melalui mutagen fisik telah intensif digunakan untuk memperbaiki sifat tanaman (Das *et al.*, 2000). Kombinasi antara teknik *in vitro* dan induksi mutagen fisik direkomendasikan untuk memperbaiki kultivar tanaman yang diperbanyak secara vegetatif (Maluzynski *et al.*, 1995; Das *et al.*, 2000).

Penggunaan radiasi sinar gamma pada kultur *in vitro* umumnya dilakukan pada dosis rendah (Al-Safadi *et al.*, 2000; La Vina *et al.*, 2001) dan dengan dosis rendah dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman secara *in vitro* (Al-Safadi *et al.*, 2000). Selain itu juga dapat menginduksi perubahan fisiologis dan biokimia tanaman (Berezina dan Kaushanskii, 1989). Radiasi sinar gamma sebaiknya dilakukan pada sel-sel yang masih aktif membelah seperti kalus karena sel-sel tersebut bersifat sensitif terhadap radiasi sinar gamma.

Pemberian radiasi sinar gamma dengan dosis 10 – 100 Gy pada kalus dapat menyebabkan peningkatan keragaman somaklonal (Van Harten, 1998). Kombinasi antara teknik *in vitro* dan induksi mutagen fisik direkomendasikan untuk memperbaiki kultivar tanaman yang diperbanyak secara vegetatif (Maluzynski *et al.*, 1995; Das *et al.*, 2000). Mutasi yang dihasilkan melalui mutagen fisik telah intensif digunakan untuk memperbaiki sifat tanaman (Das *et al.*, 2000).

Variasi somaklonal mempunyai aspek positif dan negatif (Henke *et al.*, 1985). Selain kelebihannya pemberian radiasi sinar gamma juga memiliki beberapa kekurangan diantaranya menurut pendapat Cassaret (1961) perlakuan radiasi akan menyebabkan kerusakan sel atau terhambatnya metabolisme sel karena adanya gangguan sintesis RNA sehingga sintesis enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan terhambat. Dengan adanya gangguan struktur DNA akan menyebabkan enzim yang dihasilkan kehilangan fungsinya. Perlakuan radiasi dapat menyebabkan enzim yang merangsang pertunasan menjadi tidak aktif, sehingga pertumbuhan tanaman terhambat, hal ini berhubungan pula dengan tinggi tanaman.

III. BAHAN DAN METODA

3.1 Waktu dan tempat

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Pelaksanaan dimulai dari bulan Maret sampai Agustus 2010, jadual kegiatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah eksplan yang berasal dari kultur kalus kentang batang hitam tanpa radiasi dan kalus hasil radiasi sinar gamma dengan kekuatan 30 Gy (deskripsi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 2), alkohol 70 %, agar 8 g, gula 30 g, stok A, B, C, D, E dan F serta vitamin (media MS, komposisi media dapat dilihat pada Lampiran 3), NAA, BAP, NAOH, HCl dan aquadest steril.

Alat yang digunakan dalam subkultur adalah botol kultur, plastik kaca ukuran 5 kilo dan plester, *plastic wrap*, *Petri dish*, gelas piala, *stirer*, kertas lakmus, *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), spritus, kertas saring, *scapel*, gunting, pinset, spatula, timbangan analitik, pipet mikro, penggaris dan buku catatan.

3.3 Rancangan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu 4 konsentrasi NAA dan 4 konsentrasi BAP (4x4), dengan 3 ulangan sehingga didapatkan 48 satuan percobaan. Setiap

satuan percobaan memiliki 5 botol kultur sehingga terdapat 240 botol kultur. Denah peletakan perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Faktor pertama adalah konsentrasi NAA yaitu :

0.25 mg/l NAA (A1)

0.50 mg/l NAA (A2)

0.75 mg/l NAA (A3)

1.00 mg/l NAA (A4)

Faktor kedua adalah konsentrasi BAP

0.5 mg/l BAP (B1)

1.0 mg/l BAP (B2)

1.5 mg/l BAP (B3)

2.0 mg/l BAP (B4)

Data hasil pengamatan diuji secara statistik, bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata jujur (BNJ). Model matematika yang digunakan untuk melihat pengaruh kedua faktor perlakuan terhadap regenerasi kalus kentang adalah sebagai berikut :

$$Yijk = \mu + Bi + Nj + (BN)ij + \epsilon ijk$$

Dimana :

i = konsentrasi NAA

j = konsentrasi BAP

k = banyak ulangan

Yijk = nilai pengamatan pada satuan percobaan yang memperoleh perlakuan konsentrasi NAA yang ke i, dengan konsentrasi BAP ke j, pada ulangan ke k

μ = nilai tengah umum

Bi = pengaruh konsentrasi NAA ke i

Nj = pengaruh konsentrasi BAP ke j

(BN)ij = pengaruh konsentrasi ke i pada konsentrasi ke j

ϵ ijk = pengaruh galat pada satuan yang memperoleh perlakuan konsentrasi NAA ke i dengan konsentrasi BAP ke j pada ulangan ke k

UNIVERSITAS ANDALAS

3.4 Pelaksanaan

Pelaksanaan meliputi dua tahap yaitu subkultur kalus kentang dan regenerasi kalus kentang.

Subkultur kalus kentang

1. Sterilisasi Alat

   Alat-alat yang digunakan seperti botol kultur, *scapel*, pinset, gunting terlebih dahulu disterilisasi di *autocalve* sebelum digunakan. Sterilisasi dilakukan hingga dicapai tekanan 15 psi dan suhu 121° C, setelah didapatkan tekanan dan suhu yang seharusnya maka dipertahankan selama ± 30 menit.

   Botol kultur dimasukkan ke dalam plastik 5 kg terlebih dahulu sebelum dimasukan ke dalam *autoclave*, untuk alat-alat yang lain pun demikian. Hal ini dilakukan agar memudahkan dalam penyimpanan. Lalu alat yang telah disterilkan tadi dapat disimpan sebelum digunakan.

2. Persiapan media

   Media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan 3.00 mg/l NAA dengan 5.00 mg/l BAP. Jumlah media yang dibuat sebanyak 6 liter

media MS untuk setiap botol diisikan media sebanyak 25 ml sehingga jumlah media untuk setiap satuan percobaan 125 ml. Media yang telah dibuat disterilkan terlebih dahulu sebelum disimpan pada ruang inkubasi. Inkubasi media dilakukan selama seminggu. Hal ini dimaksudkan agar dapat melihat ada atau tidaknya media yang terkontaminasi.

3. Penanaman

Subkultur kalus kentang dilakukan didalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Sebelum LAFC digunakan, dilakukan penyemprotan dengan menggunakan alkohol setelah itu lampu UV yang terdapat pada LAFC dihidupkan terlebih dahulu selama ± 30 menit dan dipastikan LAFC dalam keadaan tertutup dan setelah 30 menit lampu UV dimatikan dan LAFC siap digunakan untuk tempat penanaman. Hal ini dilakukan untuk tujuan sterilisasi LAFC.

Semua alat-alat yang akan dimasukkan terlebih dahulu disemprot menggunakan alkohol. Setelah itu dilakukan penanaman, kalus kentang dipotong-potong di *Petri dish* menjadi beberapa bagian yang berukuran baik panjang, lebar dan tingginya ± 0.5 cm lalu ditanam didalam media dengan konsentrasi 3.00 mg/l NAA dengan 5.00 mg/l BAP. Setelah penanaman, hasil subkultur disimpan didalam ruang inkubasi hingga ukuran kalus bertambah dan siap untuk dipindahkan kedalam media regenerasi (media perlakuan). Waktu yang dibutuhkan untuk subkultur kentang ini adalah satu bulan. Tujuan dari subkultur ini adalah untuk memperbanyak jumlah kalus.

Renegerasi kalus kentang

Untuk tahapan regenerasi kalus kentang, persiapan yang dilakukan sama dengan pada saat subkultur. Yang berbeda hanya pada pembuatan media yaitu pada media untuk regenerasi digunakan beberapa konsentrasi NAA dan BAP sesuai dengan perlakuan (perhitungan pemipetan dapat dilihat pada Lampiran 5).

3.5 Pengamatan

Pengamatan regenerasi kalus kentang meliputi (denah peletakan sampel dapat dilihat pada Lampiran 6) :

a. Diameter kalus (cm)

Pengamatan pertama ini dilakukan diawal ketika penanaman dan untuk pengamatan kedua yaitu setelah kalus berumur satu bulan hal ini dikarenakan perkembangan kalus baru terlihat setelah kalus berumur satu bulan setelah tanam. Pengukuran menggunakan penggaris dengan mengukur kalus dari alas bawah botol baik secara horizontal dan vertikal. Rata-rata diameter kalus didapatkan dengan menjumlahkan diameter horizontal dan vertikal lalu dibagi dua.

b. Persentase eksplan tidak beregenerasi (%)

Pengamatan terhadap persentase eksplan tidak beregenerasi dilakukan pada akhir penelitian. Pengamatan ini dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan tidak beregenerasi} = \frac{\textit{jumlah eksplan tidak beregenerasi}}{\textit{jumlah seluruh eksplan}} \times 100\ \%$$

c. Persentase eksplan membentuk akar / *rootlet* (%)

Pengamatan terhadap persentase terbentuknya akar dilakukan pada akhir pengamatan. Persentase terbentuknya akar dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase terbentuknya akar} = \frac{\textit{Jumlah eksplan yang membentuk akar}}{\textit{jumlah seluruh eksplan}} \text{ x } 100\%$$

UNIVERSITAS ANDALAS

d. Persentase eksplan membentuk tunas / *shootlet* (%)

Sama dengan persentase terbentuknya akar, pengamatan terhadap persentase terbentuknya tunas juga dilakukan diakhir pengamatan. Pengamatan ini dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase terbentuknya tunas} = \frac{\textit{Jumlah eksplan yang membentuk tunas}}{\textit{jumlah seluruh eksplan}} \text{x} 100\%$$

e. Persentase terbentuknya *plantlet* (%)

Pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase terbentuknya plantlet} = \frac{\textit{Jumlah planlet yang terbentuk}}{\textit{jumlah seluruh eksplan}} \text{ x } 100\%$$

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

3.6 Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan melakukan penyemprotan pada botol kultur dengan menggunakan alkohol 70 % setiap hari dimulai dari hari setelah penanaman hingga akhir percobaaan dan juga membersihkan rak tempat penyimpanan botol kultur dengan menggunakan alkohol. Suhu yang digunakan adalah ± 20 ^{o} C dengan penyinaran 24 jam.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Umum Percobaan

Percobaan yang dilakukan selama enam bulan ini telah dilakukan sesuai prosedur yang seharusnya seperti sterilisasi alat dan bahan, sterilisasi ruang penanaman dan penyimpanan. Tetapi dalam perkembangannya, terdapat beberapa kendala yang menghambat penelitian. Salah satu yang mengganggu adalah tingginya tingkat kontaminasi.

Kontaminasi yang tinggi disebabkan oleh pemadaman listrik yang sering terjadi ketika penelitian dan kondisi lingkungan laboratorium yang tidak optimal. Pemadaman listrik yang terjadi menyebabkan suhu naik turun dan penyinaran juga tidak optimal pada kalus. Keadaan seperti itu dapat memicu munculnya kontaminan pada kalus seperti jamur dan bakteri. Ketidakoptimalan ini disebabkan oleh laboratorium kultur jaringan tanaman mengalami kerusakan akibat gempa yang terjadi pada 30 September 2009. Kerusakan terjadi pada ruang penanaman dan ruang penyimpanan. Kerusakan ini menyebabkan laboratorium dipindahkan dan digabungkan dengan laboratorium fisiologi tumbuhan.

Pada awal penelitian direncanakan terdapat 48 satuan percobaan dengan 5 botol tiap satuan percobaan sehingga berjumlah 240 botol. Namun diakhir penelitian hanya dapat diamati 48 botol kultur yaitu dengan 3 botol tiap perlakuan.

Perkembangan kalus hasil radiasi 30 Gy terlihat lambat bila dibandingkan dengan kalus tanpa radiasi. Subkultur dilakukan selama 1 bulan dimulai dari tanggal 29 April sampai 1 Juni 2010. Subkultur dilakukan pada media 3.00 mg/l

NAA dengan 5.00 mg/l BAP. Dalam tiap botol kultur yang kecil berisi dua buah kalus hasil radiasi yang berasal dari penelitian sebelumnya. Jumlah subkultur kalus sebanyak 33 botol.

Gambar 1. Subkultur kalus pada media 3.00 mg /l NAA dengan 5.00 mg/l BAP

Gambar di atas memperlihatkan subkultur kalus berumur 17 hari. Warna kalus beragam yang menunjukan terjadinya keragaman somaklonal kalus hasil radiasi.

Warna kalus beragam seperti hijau muda dengan permukaan berserabut putih dan pinggiran coklat muda, berwarna krem dengan serabut putih diatas permukaannya dan ada juga yang berwarna hijau muda dan krem. Hal ini menunjukkan mutasi fisik yang dilakukan dengan radiasi sinar gamma menimbulkan keragaman somaklonal pada kalus hasil radiasi 30 Gy. Warna kalus merupakan salah satu fenotipe kalus yang dapat diamati. Keragaman fenotipe ini menunjukkan telah terjadi keragaman genotipe dalam sel. Menurut Van Harten (1998) pemberian radiasi sinar gamma dengan dosis 10 – 100 Gy pada kalus dapat menyebabkan peningkatan keragaman somaklonal.

Setelah subkultur dilakukan, kalus dipindahkan ke media regenerasi. Kalus berada di media regenerasi selama 3 bulan namun tidak satu pun kalus yang mampu beregenerasi. Kalus hanya mampu untuk tumbuh yang dibuktikan dengan pertambahan diameter kalus. Pada kalus tanpa radiasi kalus sudah menunjukkan gejala akan memunculkan tunas satu minggu setelah perlakuan dan ketika berumur 30 hari beberapa kalus telah mampu membentuk akar dan tunas.

4.2 Diameter Kalus (cm)

Pengamatan untuk diameter kalus dilakukan setelah kalus berumur satu bulan setelah penanaman. Hal ini dikarenakan perkembangan kalus baru terlihat secara visual setelah kalus berumur satu bulan.

Tabel 1. Data diameter awal kalus kentang hasil radiasi (cm).

NAA (mg/l)	BAP (mg/l)			
	0.50	1.00	1.50	2.00
0.25	0.43	0.43	0.43	0.43
0.50	0.43	0.43	0.40	0.43
0.75	0.43	0.43	0.41	0.43
1.00	0.43	0.43	0.43	0.43

Keterangan : Data diameter awal kentang tanpa radiasi dapaat dilihat pada Lampiran 7.1

Ukuran diameter kalus yang digunakan pada awal penelitian relatif seragam tiap eksplannya. Ukuran eksplan sengaja dipilih dengan ukuran yang tidak terlalu besar karena eksplan yang berukuran kecil akan lebih mudah untuk distrerilisasi. Eksplan yang terlalu kecil daya tahan untuk hidup kurang bagus dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit (George dan Sherrington, 1984).

Penyeragaman ukuran diameter eksplan diawal ini dimaksudkan agar memudahkan dalam pengamatan. Perubahan / pertambahan ukuran diameter eksplan akan dapat dengan mudah dibandingkan dengan diameter awal bila ukuran diameter awal relatif seragam.

Setelah pemberian NAA dan BAP ukuran diameter kalus menunjukan peningkatan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Respon diameter kalus kentang hasil radiasi dan tanpa radiasi (cm)

NAA (mg/l)	BAP (mg/l)			
	0.50	1.00	1.50	2.00
0.25	1.06 Aa	1.38 Aa	0.95 Bb	1.05 ABa
0.50	0.56 Bb	1.05 Aab	0.40 Bc	1.38 Aab
0.75	1.17 Aa	0.77 Bb	1.40 Aa	0.73 Bab
1.00	1.33 Aa	0.99 Bb	1.15 Aab	1.48 Aa

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama dan angka-angka pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ 5%.

Peningkatan ukuran diameter kalus ini disebabkan oleh pemberian NAA dan BAP dalam media. Ukuran diameter kalus dapat meningkat sampai hampir empat kali ukuran semula (pada pemberian 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP). Selain itu terdapat interaksi antara NAA dengan BAP pada beberapa kalus kentang hasil radiasi. Interaksi NAA dengan BAP bernilai positif bagi pertambahaan diameter kalus. Diameter terendah kalus yang mengalami interaksi hanya pada penambahan 0.75 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP, walaupun demikian terdapat pertambahan ukuran diameter kalus dari ukuran yang semula akibat adanya interaksi.

Dari keseluruhan diameter kalus kentang hasil radiasi, diameter terendah terdapat pada kalus yang diberi 0.50 mg/l NAA dengan 1.50 mg/l BAP yaitu sebesar 0.4 cm sedangkan tertinggi yaitu pada pemberian 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP yaitu sebesar 1.48 cm. Setelah dilakukan uji lanjut dengan BNJ 5 % kedua perlakuan tersebut dapat dikatakan berbeda nyata (Tabel sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 8). Artinya kalus kentang hasil radiasi menunjukkan respon yang lebih baik ketika mendapatkan 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP hal ini dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.

Gambar 2. Perbandingan ukuran diameter kalus kentang hasil radiasi

Gambar diatas memperlihatkan diameter kalus dengan pemberian perlakuan yang berbeda. Gambar sebelah kiri menunjukkan perlakuan 0.5 mg/l NAA dengan 1.50 mg/l BAP (diameter 0.40 cm) dan sebelah kanan menunjukan perlakuan 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP (diameter 1.48 cm). Terdapat perbedaan yang nyata dari ukuran kedua kalus dengan konsentrasi yang berbeda.

Dari gambar 2 terlihat kalus dengan perlakuan 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP memiliki ukuran yang jauh lebih besar bila dibandingkan dengan kalus dengan perlakuan 0.50 mg/l NAA dengan 1.50 mg/l BAP. Kombinasi NAA dan BAP diharapkan akan memberikan respon yang baik dalam perkembangan kalus. Karena seperti yang diketahui auksin yang terdapat pada NAA sangatlah berguna dalam pertumbuhan dan perkembangan kalus.

Pertambahan panjang diameter kalus terkait dengan perbesaran dan pembelahan dari sel tersebut. Kalus adalah suatu kumpulan sel *amorphous* yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Dengan pemberian auksin dengan dosis yang tepat maka proses pembelahan dan perbesaran sel akan terjadi, sehingga ukuran kalus akan membesar dan jumlah sel yang ada dalam kalus akan bertambah yang mengakibatkan pertambahan panjang diameter sel kalus juga akan terjadi.

Menurut Moore (1979) ada beberapa respon fisiologis dan morfologis akibat pemberian auksin yaitu 1). Pembelahan dan perbesaran sel 2). Pembelahan sel pada daerah kambium 3). Mendorong *apical dominance,* dan 4). Menghambat proses penuaan dan mencegah gugurnya daun. Selain itu auksin juga dibutuhkan dalam permulaan tumbuh kalus dan pemeliharaan kalus (George dan Sherington, 1984 ; Reinert dan Bajaj 1989; Torres 1989).

Sitokinin juga memegang peranan yang tidak kalah penting bila dibandingkan dengan auksin. Sitokinin berperan dalam merangsang proses sitokinesis (pembelahan sel) pada jaringan, seperti yang terjadi pada empulur tembakau, floem pada batang kedelai (Lakitan, 1996). Peran sitokinin dalam

sitokinesis juga mempengaruhi perpanjangan diameter kalus. Sitokinensis yang berarti peristiwa pembelahan sel memungkinkan terjadinya perpanjangan pada diameter kalus.

Jumlah konsentrasi NAA yang diberikan pada kalus di gambar kanan menunjukkan konsentrasi NAA dua kali lipat dibandingkan dengan kalus pada gambar kiri. Hal ini menunjukkan peranan sitokinin dalam melakukan pembelahan sel (sitokinesis) sangat ditunjang dengan keberadaan auksin. Konsentrasi yang tepat dan keseimbangan antara auksin dan sitokinin akan memberikan hasil yang terbaik dalam pertumbuhan kalus. Ukuran diameter kalus dengan konsentrasi 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP adalah konsentrasi terbaik dalam perkembangan kalus kentang hasil radiasi.

Ukuran diameter kalus terpanjang memiliki struktur kalus kompak, tekstur kasar dan warna kalus kehijauan, keputihan dan kecoklatan. Menurut Pierik (1987) kalus ada berwarna putih atau berwarna hijau, remah atau kompak, halus atau kasar. Kalus berwarna putih dan kehijauan merupakan kalus dapat disubkultur lagi, sementara yang berwarna kecoklatan selanjutnya akan mengering dan mati.

Sedangkan bila kita membandingkan dengan kalus kentang tanpa radiasi (Lampiran 7) perkembangan kalus relatif seragam. Ukuran diameter kalus hampir mencapai 1 cm bahkan lebih dari tiap-tiap perlakuan, perbandingan dari tiap-tiap perlakuannya berbeda tidak nyata antara sesama perlakuan.

Selain diakibatkan pengaruh NAA dan BAP yang digunakan, respon yang beragam dari kalus hasil radiasi ini memperlihatkan bahwa terjadinya keragaman somaklonal didalam kalus akibat radiasi sinar gamma yang diberikan. Kalus yang telah disinari telah mengalami mutasi. Mutasi adalah perubahan genetik baik gen tunggal, sejumlah gen ataupun susunan kromosom, dapat terjadi pada setiap bagian tanaman terutama bagian yang aktif melakukan pembelahan sel (Micke dan Donini, 1993).

Secara luas mutasi dihasilkan oleh segala macam tipe perubahan genetik yang mengakibatkan perubahan fenotipe yang diturunkan, termasuk keragaman kromosom maupun mutasi gen. Mutasi juga dapat disebut sebagai perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom dan DNA atau gen sehingga menyebabkan terjadinya keragaman genetik (Soeranto, 2003).

Keragaman genetik yang terjadi didalam kultur jaringan dapat disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (*fusi endomitosis*), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen gen dan sitoplasma (Evans dan Sharp, 1986). Yang mana perubahan ini akan terlihat secara fenotipe pada tanaman. Keragaman genetik dapat dicapai antara lain melalui fase tak berdiferensiasi yang relatuf panjang (Wattimena, 1992).

Menurut Van Harten (1998) pemberian radiasi sinar gamma dengan dosis 10 – 100 Gy pada kalus menyebabkan peningkatan keragaman somaklonal. Bila keragaman somaklonal terjadi maka setiap bagian kalus akan memberikan respon yang berbeda-beda akibat pemberian kombinasi NAA dan BAP. Bila dibandingkan dengan kalus tanpa radiasi, ukuran diameter kalus hampir merata /

relatif seragam karena tingkat keragaman somaklonal dalam kalus tanpa radiasi rendah dibandingkan dengan hasil radiasi sehingga respon tiap kalus hampir sama.

Penggunaan mutagen fisik seperti radiasi sinar gamma pada kultur *in vitro* banyak dilaporkan penggunaannya dalam upaya mendapatkan keragaman somaklonal dengan berbagai karakter unggul yang diinginkan (Ahloowalia, 1990). Dengan keragaman ini akan didapatkan varietas tanaman baru yang memilki keunggulan sifat dibandingkan tanaman induk.

Keragaman somaklonal umumnya bersumber dari keragaman genetik eksplan dan dalam media kultur jaringan (Wattimena, 1992). Keragaman somaklonal merupakan mutasi *in vitro* yang secara efektif dapat ditingkatkan frekuensi terjadinya mutan somaklonal melalui pemberian mutagen fisik (Ahloowalia dan Maluszynski, 2001).

4.3 Warna Kalus

Warna kalus merupakan salah satu pengamatan yang penting dilakukan. Perbedaan warna kalus juga menentukan kemampuan regenerasi kalus. Kalus memberikan respon warna yang berbeda-beda dari tiap-tiap perlakuan. Ketidakseragaman warna kalus ini diakibatkan oleh tingginya tingkat keragaman somaklonal pada kalus yang telah disinari gamma 30 Gy. Perbedaan warna kalus dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Perbandingan respon warna kalus tiap-tiap perlakuan.

NAA (mg/l)	BAP (mg/l)			
	0.50	1.00	1.50	2.00
0.25	Pinggiran coklat, permukaan hijau dan putih	Hijau dengan permukaan putih	Coklat hijau	Pinggiran coklat, permukaan hijau dan putih
0.50	Coklat tua	Pinggiran coklat dan sedikit putih	Coklat tua kehitaman	Pinggiran Coklat, permukaan hijau dan putih
0.75	Coklat kehitaman sedikit hijau dan putih pada bagian ujung	Coklat kehitaman	Pinggiran coklat dengan permukaan hijau muda dan putih	Sedikit coklat dipinggir dengan permukaan hijau dan putih
1.00	Pinggiran hiaju muda dengan sedikit coklat muda dan putih	Coklat muda kehijauan	Hijau putih kehijauan	Pinggiran coklat permukaan hijau dan putih

Keterangan : data diambil dari salah satu ulangan dari tiap perlakuan

Skirvin *et al.* (1993) mendefinisikan keragaman somaklonal sebagai keragaman genetik tanaman yang dihasilkan melalui kultur jaringan. Keragaman ini dapat muncul akibat penggandaan dalam kromosom (*fusi, endomitosis*), perubahan jumlah kromosom (*tagging* dan *nondisjunction*), perubahan struktur kromosom, perubahan gen, dan perubahan sitoplasma (Kumar dan Mathur, 2004). Perubahan yang terjadi ini disebabkan oleh mutasi akibat sinar gamma yang diberikan pada kalus, perubahan ini menyebabkan terjadinya perubahan fenotipe dari tiap-tiap kalus.

Bila merujuk pada Tabel 2 halaman 26 mengenai diameter kalus dapat terlihat bahwa warna kalus menunjukkan kemampuan kalus untuk dapat berkembang. Ukuran diameter yang panjang akan didapatkan dari kalus yang berwarna coklat hijau keputihan, sedangkan yang berwarna coklat tua hampir

menunjukan tidak ada penambahan diameter kalus. Menurut Pierik (1987) kalus ada berwarna putih atau berwarna hijau, remah atau kompak, halus atau kasar. Kalus berwarna putih dan kehijauan merupakan kalus dapat disubkultur lagi, sementara yang berwarna kecoklatan selanjutnya akan kering dan mati.

Struktur kalus yang dihasilkan pada kalus hasil radiasi adalah kompak. Struktur kompak ini akan mempengaruhi regenerasi kalus. Kalus akan mudah untuk diregenerasikan bila bertekstur remah. Kalus yang kompak akan lebih padat bila dibandingkan dengan yang remah sehingga ketika sel muda akan berdiferensiasi membentuk *shootlet* atau *rootlet* akan mengalami kesulitan untuk dapat menembus dinding sel yang padat. Bila dibandingkan dengan kalus tanpa radiasi yang berstruktur remah kalus akan lebih mudah beregenerasi untuk membentuk *shootlet* atau *rootlet*.

4.4 Persentase Kalus yang Tidak Mampu Beregenerasi (%)

Pada pengamatan ini kalus kentang hasil radiasi persentase kalus yang tidak mampu beregenerasi adalah 100 %, sehingga persentase terbentuknya tunas (*shootlet*) dan akar (*rootlet*) pada kalus kentang hasil radiasi 0 %. Media regenerasi yang digunakan dengan penambahaan NAA dan BAP pada kalus hasil radiasi belum mampu meregenerasikan kalus untuk dapat membentuk tunas (*shootlet*) maupun akar (*rootlet*) sehingga keseluruhan perlakuan hanya mampu membentuk kalus saja.

Selain disebabkan oleh belum cocoknya jumlah konsentrasi NAA dan BAP yang digunakan dalam memicu munculnya tunas maupun akar, radiasi sinar gamma juga mempengaruhi. Karena bila dibandingkan dengan kalus tanpa

radiasi, persentase kalus yang tidak beregenerasi mencapai 72% dan 28% kalus mampu beregenerasi baik membentuk tunas maupun akar. Artinya disini adalah dengan perlakuan kombinasi NAA dan BAP yang diberikan sebenarnya sudah dapat memicu kalus kentang untuk beregenerasi.

Perbedaan respon antara kalus kentang yang telah mengalami radiasi dengan yang tidak diradiasi dimungkinkan karena terjadinya kerusakan fungsi fisiologis pada kalus kentang hasil radiasi sehingga regenerasinya terhambat. Menurut penelitian Qosim *et al.* (2007) tentang pengaruh radiasi sinar gamma terhadap kalus nodular tanaman manggis didapatkan hasil semakin tinggi dosis radiasi (0 s/d 40 Gy) yang digunakan maka kemampuan kalus nodular untuk beregenerasi semakin kecil bahkan mengalami kematian.

Radiasi yang telah dilakukan pada kalus kentang memberikan kemungkinan fungsi-fungsi fisiologis dari dalam kalus terganggu, kalus yang seharusnya mengalami diferensiasi setelah pemberian NAA dan BAP belum terjadi disini. Menurut Mohr dan Schofer (1995) radiasi sinar gamma akan menghasilkan ion dan radikal dalam bentuk hidroksil (OH^-).

Radikal hidroksil dan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh pancaran iradiasi sinar gamma, akan bersenyawa dengan bahan tanaman yang diradiasi dan menyebabkan kerusakan fisiologis berupa terhambatnya proses pembelahan dan diferensiasi sel dan kerusakan sel. Hal ini diperkuat juga pada penelitian Duskova *et al.* (1993) yang melaporkan hasil radiasi sinar gamma yang dilakukan pada kalus tanaman *Coronilla varia* menghambat deferensiasi kalus tersebut.

Pada penelitian ini untuk kalus kentang tanpa radiasi yang merupakan pembanding, kurang lebih satu minggu setelah penanaman pada media regenerasi kalus telah memberikan respon yang positif, baik itu melakukan pembentukan akar ataupun tunas. Tekstur kalus juga mempengaruhi kecepatan regenerasi kalus. Kalus tanpa radiasi bertekstur remah sehingga akan memudahkan dalam regenerasi sedangkan pada kalus hasil radiasi teksturnya kompak.

Tetapi yang juga diharapkan terjadi pada penelitian ini adalah setelah penyinaran gamma dilakukan terjadi frekuensi mutasi yang tinggi pada kalus. Frekuensi mutasi yang tinggi memberi peluang keragaman somaklonal yang tinggi sehingga akan dapat dihasilkan mutan baru. Peningkatan frekuensi mutasi sebanding dengan meningkatnya dosis mutagen yang digunakan meskipun ketahanan dan kemampuan kalus untuk beregenerasi menurun dengan meningkatnya dosis (Bhagwat dan Duncan, 1998).

Dari penjelasan di atas jelaslah bahwa kalus hasil radiasi sinar gamma belum mampu membentuk tunas dan akar selain disebabkan oleh belum mampunya NAA dan BAP untuk dapat memicu regenerasi juga disebabkan oleh terganggunya fungsi fisologis yang berupa diferensiasi sel. Penyinaran dengan kekuatan 30 Gy mengakibatkan kerusakan sel penyusun kalus yang akibatnya menghambat perkembangan / regenerasi dari kalus. Kalus belum mampu untuk beregenerasi membentuk tunas maupun akar walaupun telah dilakukan penambahan NAA dengan BAP dengan berbagai konsentrasi.

4.5 Persentase Membentuk Tunas / *Shootlet* (%)

Kalus kentang hasil radiasi menunjukkan tidak ada kalus yang mampu membentuk tunas. Kalus yang diharapkan beregenerasi setelah pemberian beberapa konsentrasi NAA dengan BAP belum mampu untuk beregenerasi. Walaupun diameter kalus terus bertambah tetapi konsentrasi NAA dan BAP yang diberikan belum mampu memicu munculnya tunas.

Tetapi bila dibandingkan dengan kalus tanpa radiasi terdapat kalus dengan perlakuan 1.00 mg/l NAA dengan 1.00 mg/l BAP mampu memunculkan tunas. Persentase kalus tanpa radiasi dapat membentuk tunas sebesar 4 %. Kalus hasil radiasi tidak dapat berdiferensiasi membentuk tunas seperti pada kalus tanpa radiasi. Diferensiasi sel yang seharusnya terjadi belum dapat terjadi pada kalus hasil radiasi sehingga pemberian NAA dan BAP hanya menambah ukuran diameter kalus. Perbandingan pertumbuhan ini dapat dilihat pada Gambar 3 di bawah ini.

Gambar 3. Perbandingan pertumbuhan tunas kalus hasil radiasi dan tanpa radiasi

Kalus hasil radiasi (kanan) belum mampu untuk berdiferensiasi walaupun dengan pemberian kombinasi konsentrasi NAA dan BAP, sedangkan kalus tanpa radiasi (kiri) mampu membentuk tunas.
Tanda panah menunjukan kemunculan tunas pada kalus kentang tanpa radiasi (gambar kiri).

Seperti pada pengamatan sebelumnya radiasi yang dialami oleh kalus memungkinkan terjadinya kerusakan sel-sel pada kalus, sehingga fungsi fisologis dan morfologis dari kalus terganggu. Akibatnya walaupun dengan pemberian beberapa kombinasi konsentrasi NAA dan BAP belum mampu memicu kalus untuk dapat berdiferensiasi.

Hal ini diperkuat oleh penelitian Qosim *et al.* (2007) kalus nodular yang sudah diradiasi sinar gamma pada dosis 0 - 40 Gy memberikan respon yang berbeda terhadap kemampuan regenerasi tanaman, peningkatan dosis radiasi menurunkan kemampuan kalus nodular membentuk tunas. Dosis radiasi sinar gamma yang lebih besar menyebabkan jumlah tunas yang terbentuk rendah sebab proses diferensiasi tunas terhambat akibat perlakuan dosis radiasi dan frekuensi terbentuknya tunas menurun sejalan dengan peningkatan dosis radiasi (Zhen, 1998).

Konsentrasi auksin yang rendah dapat menginduksi pembentukan tunas (Evan *et al.*, 1981). Pemberian sitokinin dengan dosis terlalu tinggi akan menyebabkan banyak tunas yang terbentuk, tetapi pertumbuhan masing-masing tunas terhambat (George dan Sherrington, 1984; Pierik, 1987; Wattimena, 1988).

Widiastoety *et al.* (1991) melaporkan bahwa pemberian BAP dalam media kultur dapat merangsang terjadinya pembentukan dan multiplikasi tunas dari eksplan (potongan jaringan). Hal ini terlihat dari nilai rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan pada media dengan penambahan BAP lebih banyak dibandingkan dengan media tanpa penambahan BAP.

Menurut Utami (1998) sitokinin dalam hal ini BAP berperan memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat mendorong terjadinya pembelahan sel. Selain itu, BAP juga dapat memacu jaringan untuk menyerap air dari sekitarnya sehingga proses sintesis protein dan pembelahan sel dapat berjalan dengan baik.

Pemberian konsentrasi yang dilakukan telah memadukan antara konsentrasi auksin yang rendah dengan BAP yang tinggi tetapi belum mampu juga memicu regenerasi kalus membentuk tunas. Auksin yang terkandung dalam NAA memicu perakaran lebih cepat dibandingkan sitokinin pada BAP dan bila akar pada kalus telah terbentuk akan mempersulit kalus untuk membentuk tunas.

4.6 Persentase Membentuk Akar / *Rootlet* (%)

Sama dengan dua pengamatan sebelumnya persentase kalus hasil radiasi yang mampu memberikan respon untuk membentuk akar sebanyak 0 %. Tidak ada kalus yang menunjukkan respon terbentuknya akar. Tetapi pada kalus tanpa radiasi terdapat beberapa kalus yang mampu membentuk akar setelah perlakuan, sehingga bila dipersentasekan sebanyak 28 % kalus kentang tanpa radiasi mampu membentuk akar.

Konsentrasi NAA dan BAP yang diberikan lebih banyak mampu memicu kalus tanpa radiasi untuk membentuk akar bila dibandingkan dengan memicu tunas pada kalus tanpa radiasi. Peranan auksin membentuk akar lebih terlihat bila dibandigkan sitokinin. Akar muncul di hampir seluruh permukaan bawah kalus. Di bawah ini terdapat beberapa kalus tanpa radiasi yang membentuk akar.

Gambar 4. Beberapa foto kalus tanpa radiasi yang mampu membentuk akar

Hampir rata-rata kalus yang tidak disinari dengan sinar gamma lebih banyak mampu membentuk akar bila dibandingkan dengan membentuk tunas.
Tanda panah menunjukkan akar / rootlet yang terbentuk.

Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin (Gunawan, 1990). Auksin dan sitokinin berperan dalam diferensiasi sel yang berarti suatu proses pendewasaan sel menurut fungsi dan tugasnya masing-masing. Rahardja (1989) menyebutkan bahwa dalam kultur jaringan auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang dapat menyebabkan terjadinya pemanjangan sel pada jaringan tunas muda dan merangsang pembentukan akar.

Pemberian beberapa konsentrasi NAA dan BAP diharapkan akan memicu kalus yang merupakan kumpulan sel yang *amorphous* untuk dapat membentuk tunas maupun akar. Menurut George dan Sherrington (1984) inisiasi tunas dan akar diatur oleh interaksi auksin dan sitokinin yang diberikan ke dalam media. Demikian juga interaksi masing-masing auksin atau sitokinin eksogen dengan auksin dan sitokinin endogen yang dikandung oleh eksplan. Namun penambahan

NAA dan BAP pada kalus kentang hasil radiasi belum dapat untuk memicu kalus hasil radiasi untuk dapat berdiferensiasi.

Kalus tanpa radiasi mampu untuk membentuk akar jauh lebih banyak bila dibandingkan dengan membentuk tunas. Berarti konsentrasi yang digunakan antara NAA dan BAP belum seimbang walaupun dosis konsentrasi NAA lebih rendah bila dibandingkan dengan BAP. Perimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan dapat meningkatkan kemampuan hidup, pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan (Satria *et al.*, 1999).

Sedangkan pada kalus hasil radiasi pemberian konsentrasi auksin tidak mempengaruhi daya regenerasi kalus. Hal ini dikarenakan energi yang diserap oleh tanaman dari radiasi sinar gamma akan menghambat sintesis auksin dan menganggu proses pembelahan sel. Bila sintesis auksin telah terganggu maka auksin yang diberikan pada media yang bertujuan untuk memicu pembentukan akar tidak dapat diserap oleh kalus, sehingga auksin yang diberikan tidak dapat menjalankan fungsinya sebagai zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pembentukan akar. Akibatnya tidak ada satu kalus pun yang mampu membentuk akar.

Selain itu diferensiasi sel juga terganggu akibat penyinaran gamma. Pembelahan sel yang memicu terjadinya diferensiasi terhambat akibat radiasi sinar gamma. Menurut Davies dan Evans (1963) sinar gamma dapat membunuh sel meristem dan menghambat pertumbuhan. Jaringan meristem tanaman terdapat pada akar dan tunas tanaman. Jaringan meristem merupakan jaringan yang aktif

melakukan pembelahan. Pembelahan sel merupakan salah satu pemicu terjadinya diferensiasi. Bila jaringan meristem ini telah mati akibat penyinaran gamma maka diferensiasi sel tidak akan terjadi.

Dalam penelitian Eroglu *et al.* (2007) tentang penurunan indek mitosis tanaman Barley / Jawawut (*Hordeum vulgare* L.) akibat sinar gamma terbukti bahwa indeks mitosis H. *vul*gare L. hasil radiasi menurun bila dibandingkan kontrol yang tanpa diradiasi. Mitosis merupakan pembelahan yang terjadi pada sel tubuh. Mitosis memicu sel untuk dapat berdiferensiasi. Bila indeks mitosis turun berarti bahwa kecepatan aktifitas pembelahan sel pada sel tersebut menurun sehingga menyebabkan terhambatnya diferensiasi yang seharusnya terjadi pada sel tersebut, sehingga penambahan konsentrasi NAA dengan BAP tidak mempengaruhi daya regenerasi kalus.

4.7 Persentase Membentuk *Plantlet* (%)

Pada pengamatan ini persentase kalus yang mampu merespon terbentuknya plantlet mendapatkan hasil 0 %. *Plantlet* adalah hasil perbanyakan kultur jaringan yang terdiri dari *rootlet* dan *shootlet.* Pada pengamatan tidak ada kalus hasil radiasi yang mampu untuk merespon terbentuknya akar (*rootlet*) dan tunas (*shootlet*) akibat pemberian kombinasi konsentrasi NAA dan BAP.

Merujuk dari penjelasan beberapa pengamatan diatas kondisi ini terjadi akibat terganggunya fungsi fisologis yang berupa diferensiasi sel. Diferensiasi sel yang merupakan suatu proses pendewasaan sel menurut fungsinya masing–masing yang seharusnya terjadi belum dapat terjadi. Pembentukan *rootlet* dan *shootlet* belum terjadi walaupun dengan penambahan beberapa NAA dan BAP.

Sripichit *et al.* 1988 melaporkan radiasi yang diberikan pada eksplan kotiledon cabe (*Capsicum annum* L.) menurunkan / menghambat kemampuan eksplan tersebut untuk membentuk tunas. Dengan penambahan radiasi sinar gamma (0 – 50 Gy) pembentukan tunas semakin terhambat. Mohr dan Schofer (1995) juga menyatakan radiasi akan menghasilkan ion dan radikal dalam bentuk hidroksil dan hidrogen peroksida (OH^-) yang dihasilkan oleh pancaran radiasi dan menyebabkan kerusakan fisiologis berupa terhambatnya proses pembelahan dan diferensiasi sel serta kerusakan gen.

Hidrogen peroksida (OH^-) yang dihasilkan dari radiasi sinar gamma menghambat fungsi auksin yang diberikan pada kalus. Auksin dalam sel tanaman akan menghasilkan ion H^+ yang nantinya berfungsi mengaktifkan fungsi beberapa enzim yang berperan dalam perpanjangan dan pembelahan sel. Ion H^+ ini akan mengasamkan sel tanaman sehingga enzim aktif tetapi dengan keberadaan ion OH^- maka kondisi dalam sel menjadi netral sehingga enzim tidak jadi aktif dan proses fisiologis seperti perpanjangan dan pembelahan sel terhambat.

Radiasi sinar gamma juga mempengaruhi kecepatan pembelahaan mitosis. Penurunan indek mitosis Jawawut / Barley (*Hordeum vulgare* L.) akibat sinar gamma membuktikan pengaruh radiasi sinar gamma dalam kecepatan mitosis dalam sel. Penurunan indeks mitosis berarti kecepatan mitosis pada sel tersebut juga menurun yang mengakibatkan kecepatan diferensiasi sel juga menurun.

Hal ini juga dibuktikan dengan kalus tanpa radiasi dengan pemberian konsentrasi NAA dengan BAP yang mampu untuk beregenerasi baik membentuk akar, tunas maupun membentuk *plantlet*. Kalus hasil radiasi memiliki persentase

empat dalam merespon terbentuknya *plantlet* yaitu pada penambahan konsentrasi 1.00 mg/l NAA dengan 1.00 mg/l BAP. Kalus tanpa radiasi fungsi-fungsi fisiologisnya selnya masih baik sehingga sel masih mampu untuk berdiferensiasi dengan penambahan beberapa konsentrasi NAA dan BAP. Auksin dan sitokinin yang diberikan memperlihatkan perananya dalam diferensiasi sel. Auksin berperan dalam pembentukan akar (*rootlet*) dan sitokinin berperan dalam pembentukan tunas (*shootlet*) sehingga terbentuklah *plantlet* pada kalus tanpa radiasi.

Penyinaran yang dilakukan dengan kekuatan 30 Gy pada kalus kentang dimaksudkan karena kalus adalah kumpulan sel-sel yang aktif membelah sehingga akan sangat peka terhadap radiasi. Frekuensi mutasi yang terjadi pada kalus ini tinggi dan akan didapatkan mutan baru dari kalus. Radiasi sinar gamma sering digunakan dalam usaha pemuliaan tanaman karena dapat meningkatkan keragaman, sehingga dapat menghasilkan mutan baru (Wattimena *et al.*, 1992). Tetapi ternyata kekuatan 30 Gy yang digunakan justru dapat menggangu diferensiasi sel kalus sehingga belum dapat beregenerasi.

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Terdapat interaksi antara NAA dengan BAP pada beberapa perlakuan kalus hasil radiasi sinar gamma.
2. Beberapa konsentrasi NAA dan BAP yang diberikan pada kalus hasil radiasi hanya mampu mempengaruhi pertumbuhan kalus seperti pertambahan diameter kalus sedangkan untuk diferensiasi sel membentuk akar maupun tunas belum dapat dipicu oleh perlakuan yang diberikan.
3. Pemberian Konsentrasi NAA dan BAP terbaik yang mempengaruhi pertambahan diameter kalus adalah pada konsentrasi 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP.
4. Pada kalus kentang tanpa radiasi dengan penambahan 1.00 mg/l NAA dengan 2.00 mg/l BAP dapat memicu kalus untuk berdiferensiasi membentuk *rootlet, shootlet* dan *plantlet.*

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah agar dalam penelitian selanjutnya dapat dicobakan kombinasi konsentrasi yang lebih tinggi atau lebih rendah dari perlakuan yang telah diberikan sekarang. Sehingga memungkinkan untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi NAA dan BAP terbaik dalam regenerasi kalus kentang hasil radiasi.

DAFTAR PUSTAKA

Ahloowalia BS. 1990. In vitro radiation induced mutagenesis in potato. Dalam : Sangan RS dan Sangan – Norreel, (editor). The impact of Biotechnology in Agriulture. Kluwer Acad Pub. The Netherlands. Hlm. 39-46.

Ahloowalia BS, M Maluszynski dan Nichterlein. 2001. Global Impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* **135** : 187-204.

Al-Safadi. B, Z. Ayyoubi dan D. Jawdat. 2000. The effect of gamma irradiation on potato microtuber production in vitro. *Plant Cell Tissue. Org. Cult.*, **61**: 183-187.

Anonim. 1999. Basis data Statistik Pertanian. Departemen Pertanian Republik Indonesia. http://202.159.94.6/bdspweb/ f3.QueryProp.asp diakses 15 desember 2010.

Asandhi, A.A. dan N, Gunadi. 2006. Syarat Tumbuh Tanaman Kentang. *Dalam* Buku Tahunan Hortikultura, Seri: Tanaman Sayuran. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan dan Hortikultura. Jakarta.

Baharuddin, 2009. Kentang si Sensitif yang Menguntungkan.Identitas Universitas Hasanuddin. Edisi VIII Tahun IV Maret 2009.

Berezina dan Kaushanskii. 1989. Presowing irradiation of plant seeds. Oxonian Pres PTV Ltd. New Delhi.

Beukema, H.P. 1977. Potato production. International Agriculture Centre, Wageningen.

Bhagwat, B dan EJ Duncan. 1998. Mutation breeding of highgate (*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporium* sp. *cubense* using gamma irradiation. *Euphytica* **101**:143-150.

Biro Pusat Statistik. 2006. Survey Pertanian : Produksi Tanaman Sayuran di Indonesia. BPS. Jakarta.

Biswas, B., Chowdhurry, A. Bhattacharya, B. Mandal. 2002. *In vitro* screening for increases drought tolerance in rice. *In vitro Cell. Dev Biol-Plant.* **38**: 525-530

Campbell, N.A. 2000. Biology Concepts and Connections. Third Editions. San Fancisco: Benjamin/ Cumming an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Casseret, A.P. 1968. Effect of Radiation on Cell. In : Casseret A.P, (Eds) Radiation Biology. Prestise. Hall Inc. New Jersey. USA pp 91-117.

Das, A. S.S Gosal,. J.S Sidhu, dan H.S Dhaliwal. 2000. Induction of mutations of heat tolerace in potato by using invitro culture and radiation. *Euphytica* **114** : 205-209.

Davies, D.R., 1963. Radiation Induced Chromosome Aberrations and Loss of Productive Integrity in Tradescantia. *Radiation Research* **20** :726-740.

Drew, R. A. 1980. Tissue in horticultural crops. *Queenland Agnic. J.* **106.** (1):6 12

Duskova, J., M. Sovova, J. Dusek, Z. Opatrny dan L. Opletal. 1993. The Effect of Ionizining Irradiation on The Tissue Culture of *Coronilla varia. Planatarum* **35 (2)** : 223-228.

Eroglu Y, E.E Halil dan A, Ilbas. I. 2007. Gamma Ray Reduces Mitotic Index in Embryonic Roots of *Hordeum vulgare* L. Advances in *Biological Research* 1 **(1-2)**: 26-28, 2007

Evan, D. A., W.R. Sharp and C.E Fluck. 1981. Growth Behavior of Cell Cultures : Embrygenesis and Organogenesis. In : T. A. Thorpe (Ed). Plant Tissue Culture Methods and applications In Agriculture. Academic Press, New York. 45-113.

Gaba, V.P. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. *In* Plant Development and Biotechnology. Trigiano, R.N., D.J. Gray (*Eds.*). CRC Press New York. 358 hal.

George, E.F. & Sherrington .1984. Plant propagation by tissue culture. England, Exegetics Ltd.

Gunawan, L.W. 1990. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. IPB. Bogor. P. 304.

Gunawan, L.W.1992. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Hartman, H. T., D. E. Kester, and F. T. Davies, Jr. 1990. Plant Propagation Principles and Practice. Fifth Edition. Prentice – Hall International, Inc. London

Heddy, S. 1996. Hormon Tumbuhan. CV Rajawali. Jakarta

Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Media). Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Husein, I. Muhammad, A. Chaudry, Z. Asbhar, R. Navqi, S.M.S dan A. Rashid. 2005. Morphogenic Potential of Three Potato (*solanum tuberosum*) Cultivars from Diverse Explants, a Prerequisite in Genetic Manipulation. *Pakistan Journal Botany*, **37 (4)** : 889 – 898.

Http :// www. Litbang. deptan.go.id. diakses pada 27 november 2010

Ismachin M. 1988. Pemuliaan Tanaman dengan Mutasi Buatan. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. BATAN. Jakarta.

Katuuk. J.R.P. 1989. Tekmk Kultur Jaringan Dalam Mikropropagasi Tanaman. Jakarta: Departemen P dan K.

Koornneef M. 1991. Variation and mutan selection in plant cell and tissue culture. Di dalam : Crop Improvement. Open Universteit Nederland and Thames Polytechnic United Kingdom. Hlm 99-115.

Kumar, P.S. and V.L. Mathur. 2004. Chromosomal instability in callus culture of *Pisum sativum. Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **78**: 267–271.

Kuntjoro, A. S. 2000. Produksi Umbi Mini Kentang G0 Bebas Virus melalui Perbanyakan Planlet secara Kultur Jaringan di PT. Intidaya Agrolestari (Inagro) Bogor – Jawa Barat. Skripsi. Jurusan Budi Daya Pertanian Fakultas Pertanian IPB. 62p.

Lakitan, B. 1996. Fisiologi Tumbuhan dan Perkembangan Tanaman. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Mahmood, M., K. Farroq, A. Hussain, R. Sher. 2002. Effect of mulching on growth and yield of potato crop. *Asian J. of Plant Sci.* **1(2)**:122-133.

Maluzynski, M. B.S Ahloowalia and Sigurbjhomsson. 1995. Aplication of In Vivo and In Vitro Muataion Techniques for Crop Improvement. *Euphytica* **85** : 305-315.

Micke dan Donini. 1993. Induced Mutation. Didalam : MD Hayward, NO Bosemark, I Romagosa (editor). Plant Breeding Principles and Prospect. Chapman and Hall.

Mohr H dan P. Schopfer . 1995. *Plant Physiology*. Translated by Gudron and D.W. Lawyer. Springer.

Moore, T.C. 1979. Biochemistry and Physiology of plant hormones. Springger-verlag, New York. 174 p.

Niederhauser, J.S. 1993. International Cooperation And The Role Of The Potato In Feeding The World. *Am. Potato. J.* **70**:385-387.

NIVAA Holland 2007. Cataloge of potatoes varieties. Nederlands. http://www.nivaa.nl diakses pada 15 desember 2010.

Nonnecke, L.I. 1989. Vegetable production. Van Norstrand. Reinhold. Canada p. 175-200.

Permadi, A. V. 1989. Asal usul dan penyebaran Kentang. Dalam A. A Asandhi *et al* (Ed). Kentang. Badan Penelitian dan Pengembangan pertanian. Balai Penelitian Hortikultura. Lembang : 3-8.

Pierek, R. L. M. 1987. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publisher. Dordrecht.Pp : 183-230.

Poespodarsono S. 1988. Dasar-dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman. Pusat Antar Universitas dan Lembaga Sumberdaya Informasi. Bogor. IPB.

Qosim, W., R. Purwanto, G.A. Wattimena, dan Witjaksono. 2007. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kapasitas regenerasi kalus nodular tanaman manggis. *Hayati J. Bio.* **14** : 140-144.

Rahardja P. C.1989. Kultur Jaringan Teknik Perbanyakan Tanaman Secara Modern. Penebar Swadaya, Jakarta.

Reinert, J dan Y. P. S. Bajaj. 1989. Plant Cell Tissue Culture and Organ Culture. Berlin Heidenberg. New York.

Rout. G.R. dan G. Das. 2002. An assessment of genetic integrity of micropropagated plants of *Plumbago zeylanica* by RAPD markers. *Biology. Plant*, **45**(1),27-32.

Satria B., I. Dwipa; dan Jamsari. 1999. Regenerasi kalus manggis *(Garcinia mangostana* L.) melalui kultur *in vitro.* Jurnal Stigma. Fak. Pertanian Unand, Padang. VII (1). ISSN 0853 - 3776 Akreditasi Dikti No. 53/Dikti/Kep/1999. Hal. 56 — 60.

Skirvin, R.M., M. Norton, and K.D. Mc Pheeter. 1993. Somaclonal variation: Has it proved useful for plant improvement. *Acta Hort.* **336**: 333–340.

Soeranto H. 2003. Peran Iptek Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industri Pertanian. Jakarta : Puslitbang Teknologi Isotop dan radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN)

Sripichitt P, E. Nawata and S. Shigenega. 1988. The effect of exposure dose and dose rate of gamma radiation on in vitro shoot formly capacity of cotyledon eksplant in red papper. *Japan. J. Breed* **38** : 27 – 34.

Street, H. E. 1976. *Tissue Culture and Plant Science*, second edition. London : Academic Press Inc.

Torres, K.C. 1989. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crop. Chapman dan Hall, New York.

Utami E. S. W. 1998. Pengaruh Penambahan Ragi Roti Sebagai Alternatif Pengganti Zat Pengatur Tumbuh BA Untuk Diferensiasi Pada Kultur Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. sunti val). Fakultas MIPA Universitas Airlangga.

Van Harten. 1998. Mutation Breeding. Theory and Practical Application New York. Cambrige University Press. Hlm 111-162.

Wattimena, G. A. 1986. Kultur jaringan tanaman Kentang. Makalah Training Course on Potato Seed Technology. Direktorat Bina Produksi Hortikultura. FAO. 27 Oktober-8 Nopember 1986.

Wattimena, G. A., 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.

Wattimena, G. A. 2000. Pengembangan Propagul Kentang Bermutu dan Kultivar Kentang Unggul dalam Mendukung Peningkatan Produksi Kentang di Indonesia. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Indonesia. Edisi Khusus, No. 3. Hlm. 427 – 431.

Wattimena, G.A. dan N.A. Mattjik. 1992. Pemuliaan tanaman secara in vitro. Dalam A.S. Abidin (ed.) Bioteknologi Tanaman. Bogor, PAU Institut Pertanian Bogor.

Wetherell, D. F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro. diterjemahkan oleh Koensoemardiyah. Wayne New Jersey: Avery Publishing Group Inc.

Widiastoety D, Syafril dan B Haryanto. 1991. Kultur *In Vitro* Anggrek *Dendrobium* Dalam Medium Cair. *Jurnal Hortikultura* ; 1 (3): 6-10.

Wiendi, N.A. G.A.Wattimena, L.W.Gunawan. 1991. *Perbanyakan tanaman.* Hal 17-174. Dalam Tim Laboraturium Kultur Jaringan (Eds). Bioteknologi Tanaman. Pau Bioteknologi. IPB. Bogor.

Zarmiyeni, Kasli, Kasim, M. Suliansyah, I. N. Natsir dan Ishak. 2007. Seleksi In Vitro untuk Resistensi Mutan Pisang Barangan terhadap Fusarium Oxysporum f.sp. Cubense Menggunakan Asam Fusarat sebagai Agens. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian* : 1-5.

Zhen, H. R. 1998. In Vitro Technique for Selection of Radiation Induced Mutant of Garlic. In. Invitro Technique for Selection of Radiation Induced Mutation Adapted to Adverse Enviromental Condition. IAEA. Shanghai, China.

Zheng G and M.F Slavik. 1999. Isolation, Partial Purification and Characterization of a Bacteria Produced by a Newly Isolated Bacillus subtilus Strain. *Letter in Applaied Microbiology.* **28** : 363 – 367.

Lampiran 1: Jadual kegiatan penelitian respon kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP secara *in vitro* mulai bulan Maret sampai Agustus 2010

Kegiatan	Minggu ke-																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Subkultur Kalus Kentang																								
Sterilisasi alat																								
Persiapan media																								
Sterilisasi eksplan																								
Penanaman																								
Pemasangan label																								
Pengamatan																								
Pemeliharaan																								
Regenerasi kalus kentang																								
Penanaman																								
Pengamatan																								
Pemeliharaan																								

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Lampiran 2. Deskripsi Tanaman Kentang Varietas Batang Hitam

Hasil Persilangan	: Blauwe Reuzen x Fransen
Family	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Species	: Solanum tuberosum
Cultivar	: Batang Hitam
Tinggi tanaman	: Menengah hingga tinggi
Struktur tipe daun	: Semi tegak dan menyebar
Bentuk batang	: Segi empat
Warna batang	: Pangkal ungu dan 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 dan industri pengolahan
Ketahanan terhadap hawar daun	: Rentan
Ketahanan terhadap penyakit umbi	: Rentan

Sumber : NIVAA Holland 2007. Cataloge of potatoes varieties. Nederlands. http://www.nivaa.nl

Lampiran 3. Komposisi media *Murashige and Skoog* (MS)

No	Jenis unsure Hara	Kode stock	senyawa	Keb dlm 1 liter (mg/L)
1	Makro nutrisi	A	NH_4NO_4	1650
		B	KNO_3	1900
		C	$CaCl_2.2H_2O$	440
		D	MgSO4.7H2O	370
		D	KH_2PO_4	170
2	Besi	E	$FeSO_4.7H_2O$	27.8
		E	Na_2 EDTA	37.3
3	Mikro nutrient	F	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
		F	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
		F	H_3BO_3	6.2
		F	KI	0.83
		F	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
		F	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
		F	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
4	Vitamin + As. Amino	G1	Niacin	0.5
		G2	Pyridoxine HCl	0.5
		G3	Thiamine HCl	0.1
		G4	Glycine	2.0
5	Vitamin		Myo inositol	100
6	Gula		Sucrose	30000
7	Agar		Agar bubuk	7000

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Lampiran 4. Denah peletakan perlakuan beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil radiasi

A2B4	A2B1	A1B4
A4B1	A4B3	A1B4
A3B2	A3B2	A2B4
A3B4	A2B3	A2B2
A1B1	A3B4	A1B3
A4B2	A1B1	A4B1
A2B2	A3B4	A3B3
A3B3	A2B3	A1B3
A4B2	A3B1	A3B1
A1B4	A4B3	A1B2
A1B3	A4B4	A2B1
A1B1	A4B1	A4B3
A2B3	A1B2	A3B2
A4B4	A2B2	A3B1
A2B4	A2B1	A1B2
A4B4	A3B3	A4B2

Keterangan : 0.25 mg/l NAA (A1) 0.50 mg/l BAP (B1)
1.00 mg/l NAA (A2) 1.00 mg/l BAP (B2)
1.50 mg/l NAA (A3) 1.50 mg/l BAP (B3)
2.00 mg/l NAA (A4) 2.00 mg/l BAP (B4)

Perlakuan diulang tiga kali

Lampiran 5. Perhitungan pemipetan NAA dan BAP

Pemipetan NAA

Stok NAA 100 ppm = 100 mg/l sebanyak 20 ml.

Untuk 0.25 mg/l NAA

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

0.25 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 0.625$ ml

Untuk 0.50 mg/l NAA

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

0.50 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 1.25$ ml

Untuk 0.75 mg/l NAA

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

0.75 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 1.875$ ml

Untuk 1.00 mg/l NAA

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

1.00 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 2.50$ ml

Pemipetan BAP

Stok BAP 100 ppm = 100 mg/l sebanyak 20 ml

Untuk 0.50 mg/l BAP

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

0.50 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 1.25$ ml

Untuk 1.00mg/l BAP

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

1.00 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 2.50$ ml

Untuk 1.50mg/l BAP

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

1.50 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 3.75$ ml

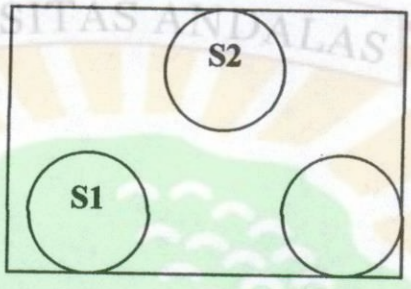
Untuk 2.00 mg/l BAP

$n_1 . V_1 = n_2 . V_2$

2.00 mg/l . 250 ml = 100 mg/l . V_2

$V_2 = 5.00$ ml

Lampiran 6. Denah peletakan sampel perlakuan beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil radiasi



Keterangan :

S1 = Sampel 1
S2 = Sampel 2

Peletakan sampel sama untuk setiap satuan percobaan.

Lampiran 7. Diameter awal dan akhir kalus tanpa radiasi

7.1 Data diameter awal kalus tanpa radiasi

NAA mg/l	BAP mg/l			
	0.50	1.00	1.50	2.00
0.25	0.40	0.40	0.41	0.43
0.50	0.41	0.43	0.41	0.43
0.75	0.43	0.43	0.43	0.43
1.00	0.43	0.43	0.40	0.43

7.2 Data diameter akhir kalus tanpa radiasi

NAA mg/l	BAP mg/l			
	0.50	1.00	1.50	2.00
0.25	0.95	0.93	0.94	1.18
0.50	1.09	1.14	0.97	1.19
0.75	1.08	1.02	1.30	1.12
1.00	1.26	1.39	0.70	1.35

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Lampiran 8. Tabel sidik ragam respon kalus kentang hasil radiasi sinar gamma terhadap pemberian kombinasi konsentrasi NAA dan BAP

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel
Ulangan	2				
A	3	0.98	0.33	23.07*)	2.92
B	3	0.89	0.29	20.93 *)	2.92
AB	9	2.69	0.29	21.03*)	2.21
Sisa	30	0.43	0.01		
Total	47	4.99			

*) = menunjukkan berbeda nyata terhadap uji F 5 %

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA