



LAPORAN PENELITIAN

**KULTUR KALUS KEDELAI (*Glycine max* L.) DENGAN
PENAMBAHAN HYPONEX PADA MEDIUM
SEDERHANA**

Oleh :

Dra. Des. M.MS
Dra. Moralita Chatri, M.P

Tgl. Pengantar	
Tgl. Terima	10-2-2011
Revisi	Hd
Uraian	P1
Penyakit	63/Hd/2011-P1(L)
Tempat	583.322 Des k.1

Penelitian ini dibiayai oleh :
Dana DIPA Tahun Anggaran 2007
Surat Perjanjian Kontrak Nomor : 802/H35/KU/DIPA/2007
Tanggal 26 Maret 2007

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA & ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2007**

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN

1. a. Judul Penelitian : Kultur Kalus Kedelai (*Glycine max* L.)
dengan Penambahan Hyponex pada Medium
Sederhana
- b. Bidang Ilmu : Kultur Jaringan
2. a. Ketua Peneliti
- Nama Lengkap dan Gelar : Dra Des, M., M.S
 - Jenis Kelamin : Perempuan
 - Golongan Pangkat/NIP : IIIc/131864910
 - Jabatan Fungsional : Lektor
 - Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
 - Pusat Penelitian : Universitas Negeri Padang
- b. Alamat Ketua Peneliti
- Kantor/telepon/Fax : FMIPA UP Jl. Prof DR.HAMKA
Air Tawar PADANG
 - Rumah/Telepon : Jl. Hercules No. 15 Tunggul Hitam, Padang/
461841
 - E-mail : -
3. Jumlah Anggota Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Fisiologi Tumbuhan
Jurusan Biologi FMIPA UNP
5. Kerjasama dengan Institusi lain
- a. Nama Institusi : -
- b. Alamat : -
- c. Telepon/Fax/E-mail : -
6. Jangka waktu penelitian : 3 bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 5.000.000,-

Mengetahui :

Dekan Fakultas MIPA



(Dra. Des, M. MS)

NIP. 131864910

Ketua Peneliti

(Dra. Des, M. MS)
NIP. 131864910

Menyetujui

Ketua Lembaga Penelitian

(Prof. Dr. H. Anas Yasin, M.A)
NIP. 130365634

ABSTRAK

Perkembangan tanaman kedelai (*Glycine max* L.) di Indonesia selama 10 tahun terakhir ini menunjukkan penurunan yang cukup besar. Hal ini disebabkan karena benih yang tersedia berkualitas rendah, sehingga mempunyai daya tahan yang rendah terhadap hama dan penyakit yang disebabkan oleh patogen. Penggunaan varietas yang tahan terhadap patogen merupakan cara yang aman dalam pengendalian penyakit tanaman. Untuk mendapatkan varietas yang tahan dapat dilakukan dengan kultur in vitro atau kultur jaringan. Perbanyak dengan kultur jaringan biasanya membutuhkan biaya yang relatif tinggi, tetapi bahan penyusun media dapat diganti dengan bahan-bahan yang lebih murah yaitu dengan penambahan pupuk majemuk seperti Hyponex pada medium sederhana.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat respon pertumbuhann kalus kedelai terhadap penambahan Hyponex pada medium sederhana.

Penelitian ini dilakukan dari bulan Juli – Oktober 2007 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan perlakuan konsentrasi Hyponex yang diadahului dengan penginduksian kalus.

Dari pelaksanaan penelitian yang telah dilakukan, kalus yang terbentuk dari benih kedelai yang digunakan tidak dapat berkembang dengan baik karena sudah terinvestasi oleh patogen, sehingga perlakuan dengan menggunakan Hyponex tidak dapat dilakukan. Hal ini menunjukkan bahwa umumnya benih yang beredar di Indonesia mempunyai mutu yang rendah.

PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan Pimpinan Universitas, telah memfasilitasi peneliti untuk melaksanakan penelitian tentang *Kultur Kalus Kedelai(Glycine max L) dengan Penambahan Hyponex pada Medium Sederhana*, berdasarkan Surat Perjanjian Kontrak Nomor : 802/H35/KU/DIPA/2007 Tanggal 26 Maret 2007.

Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang akan dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan ditingkat Universitas. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan khususnya peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait yang menjadi objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, dan tim pereviu Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang. Secara khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Padang yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga kerjasama yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih.

Padang, November 2007
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang,



Prof. Dr.H. Anas Yasin, M.A.
NIP. 130365634

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
BAB IV. METODE PENELITIAN	8
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	13
DAFTAR KEPUSTAKAAN	14
LAMPIRAN	16

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
1. Komposisi Medium B5	16
2. Komposisi Pupuk Hyponex	17
3. Komposisi Medium Sederhana	17

BAB I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Tanaman kedelai merupakan sumber nabati, dengan kandungan protein lebih dari 40 % dan lemak 10 – 15 % . Sampai saat ini kedelai masih memegang peranan penting dalam pemenuhan gizi masyarakat di Indonesia. Hasil olahan kedelai seperti tahu, tempe dan kecap merupakan makanan yang cukup disukai masyarakat luas dan harganya juga relatif murah dan terjangkau.

Perkembangan tanaman kedelai di Indonesia selama 10 tahun terakhir ini menunjukkan penurunan yang cukup besar, baik dalam segi luas areal tanam maupun produksi. Pada tahun 1992, luas areal tanam kedelai mencapai 1,6 juta ha, sedangkan pada tahun 2003 luas areal tanam hanya 600.000 ha. Total produksi selama periode yang sama menurun dari 1,9 juta ton menjadi 700 ribu ton (Adisarwanto, 2005). Di Sumatera barat, pada tahun 2000, luas areal tanam kedelai mencapai 10.296 ha dengan total produksi 12.686 ton, tetapi pada tahun 2004 mengalami penurunan yang tajam dengan luas areal tanam hanya 1.178 ha dan total produksinya hanya 1.575 ton (Anonim, 2005). Usaha penanaman komoditi kedelai ini sangat perlu ditingkatkan dan lebih diintensifkan agar produksi bisa ditingkatkan dan ketergantungan impor bisa dikurangi.

Kendala utama dalam peningkatan produksi kedelai itu antara lain akibat benih yang tersedia berkualitas rendah sehingga mempunyai daya tahan yang rendah terhadap hama penyakit tanaman yang disebabkan oleh patogen. Pengendalian terhadap patogen dengan senyawa kimia seringkali menimbulkan permasalahan, seperti pencemaran terhadap lingkungan. Salah satu cara pengendalian penyakit tanaman yang paling aman, mudah dan efektif adalah dengan menggunakan varietas yang tahan terhadap penyakit (Djafaruddin, 1991). Untuk mendapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit, dapat dilakukan dengan perbanyakan tanaman secara *in vitro*.

Perbanyakan tanaman dengan teknik *in vitro* atau kultur jaringan merupakan teknik budidaya sel, jaringan dan organ tanaman dalam suatu lingkungan yang

terkendali dan dalam keadaan aseptik atau bebas mikroorganisme (Santoso dan Nursandi, 2003). Penggunaan teknik ini merupakan cara yang tepat untuk mendapatkan varietas yang tahan, karena dengan cara ini akan dimungkinkan untuk memperoleh keragaman somaklonal dari tanaman (Dolozel dan Novak, 1986). Keragaman somaklonal adalah suatu sumber potensi ketahanan tanaman terhadap penyakit (Scowcroft *et al.*, 1983). Menurut para ahli, keragaman somaklonal adalah keragaman genetik yang didapat dari tanaman yang berasal dari kultur sel somatik (sel daun, sel akar, kalus dan lain-lain) (Wattimena dan Mattjik, 1991). Selain itu, manfaat kultur in vitro adalah menyediakan bibit tanaman yang sehat dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat dalam areal yang kecil, tidak tergantung musim dan memungkinkan manipulasi genetik (Yusnita, 2004).

Pada perbanyakan tanaman secara in vitro, hal yang penting untuk diperhatikan adalah media tumbuh. Media tumbuh untuk masing-masing tanaman berbeda-beda komposisinya, tetapi pada dasarnya terdiri dari media dasar anorganik (unsur hara makro dan mikro), zat pengatur tumbuh, senyawa organik, gula dan bahan tambahan beserta bahan pematat (Purnomo, 1996).

Penelitian-penelitian kultur in vitro telah mengarah ke efisiensi biaya, dimana telah dicoba untuk mengganti bahan penyusun media dengan bahan-bahan lain yang lebih murah, yaitu mengganti bahan kimia penyusun medium Murashige dan Skoog (MS), sukrosa dan bacto agar dengan pupuk majemuk seperti Hyponex, gula dan agar-agar swallow (Sutanto, 1996). Gula dan agar merupakan komponen-komponen penyusun dari medium sederhana yang digunakan untuk tumbuh suatu eksplan yang sudah disterilisasi. Media sederhana ini harganya cukup murah dan terjangkau di kalangan masyarakat (Purnomo, 1996). Komponen-komponen penyusun media sederhana ini adalah gula putih, agar dan aquades (Supriadi, 2003).

Menurut Gunawan (1995), pemberian pupuk melalui media sangat efektif dan efisien untuk tanaman pisang dengan cara kultur jaringan. Saat ini banyak sekali pupuk yang beredar di pasaran, salah satunya pupuk majemuk Hyponex hijau. Berdasarkan hasil penelitian Salwita (1997), penggunaan pupuk Hyponex pada konsentrasi 200 ppm atau 0,2 gr/l memberikan hasil terbaik terhadap pembentukan dan perbanyakan tunas angrek. Sementara itu, Supriadi (2003) melakukan kultur

jaringan tanaman kentang dengan menambahkan pupuk Hyponex 1-3 g/l pada medium sederhana dan dapat menghasilkan pembentukan serta perbanyak tunas.

Respon pertumbuhan kultur in vitro secara umum meliputi pembentukan kalus, differensiasi dan embrio somatik. Differensiasi dapat terjadi melalui dua cara, yaitu differensiasi langsung, yang membentuk organ tanpa melalui pembentukan kalus dan differensiasi tak langsung, dimana terbentuknya organ didahului dengan pembentukan kalus dan organ akan muncul dari kalus tersebut (George dan Sherington, 1995).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum satupun terjadi pembentukan tunas dari kalus kedelai. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Chatri (2002) , hanya dapat menginduksi akar dari kalus kedelai dengan penambahan 1,5 ppm IAA pada media B5. Berdasarkan hal tersebut, telah dilakukan penelitian kultur kalus kedelai dengan penambahan Hyponex pada media sederhana.

b. Rumusan Masalah

Penggunaan varietas yang tahan terhadap patogen merupakan cara yang aman dalam pengendalian penyakit tanaman. Untuk mendapatkan varietas yang tahan dapat dilakukan dengan teknik kultur in vitro. Faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan dari kultur jaringan antara lain adalah medium. Pembentukan tunas dari kalus kedelai belum berhasil dilakukan. Mengingat pentingnya tunas untuk perbanyak suatu tanaman, maka dilakukan penelitian untuk melihat pertumbuhan eksplan kalus kedelai terhadap penambahan Hyponex pada media sederhana..

c. Hipotesis

Penambahan Hyponex pada media sederhana dapat menginduksi tunas dan meningkatkan pertumbuhan kalus kedelai.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) merupakan sumber protein nabati yang penting di Indonesia. Dalam 100 gram biji kedelai terdapat 35 gram protein, 35 gram karbohidrat, 16 gram lemak, mineral dan vitamin. Pada varietas unggul, kandungan proteinnya mencapai 40-43 % (Lamina, 1989).

Penelitian kultur jaringan terus dilakukan untuk mendapatkan varietas unggul yang berproduksi tinggi dan resisten terhadap patogen (Thorpe, 1981). Pada prinsipnya, teknik kultur jaringan berdasarkan pada fenomena totipotensi. Peloquin (1981, cit Gunawan, 1989), menyatakan persilangan memungkinkan terjadinya ketidakstabilan somatik. Hal ini diduga sebagai akibat benang-benang kromosom yang tidak normal karena pengaruh genotip tertentu. Dampak yang diperoleh dari kejadian tersebut adalah variasi kromosom di dalam jenis tanaman yang sama. Ketidakstabilan somatik ini diduga dapat berlanjut sekalipun perbanyakan dilakukan dengan cara vegetatif.

Dari segi pemuliaan tanaman, teknik kultur jaringan dapat diseleksi genotip yang bermanfaat, dengan tujuan untuk mempertahankan kestabilan genetik (variasi somaklonal) dan merangsang keragaman somaklonal (Wiendi, et al. 1992). Tanaman yang berasal dari keragaman somaklonal disebut somaklon (Shepard et al., 1980, cit Gunawan, 1989).

Untuk mendapatkan tanaman somaklon, dilakukan dengan 3 cara, yaitu : 1) regenerasi langsung, 2) kultur sel tunggal, dan 3) kultur protoplasma. Regenerasi langsung dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu :

1. eksplan → tunas adventif → tanaman atau embrio
2. eksplan → kalus → tunas adventif → tanaman

(Roest dan Bokelman, 1980, cit. Gunawan, 1989). Hal yang sama dijelaskan oleh George dan Sheringgton (1984), bahwa diferensiasi dapat dilakukan dengan dua cara, pertama diferensiasi langsung, yaitu membentuk organ tanpa melalui pembentuk kalus, kedua differensiasi tidak langsung, yaitu terbentuknya organ didahului dengan pembentukkan kalus dan organ akan muncul dari kalus tersebut.

Kalus adalah suatu massa dari proliferasi sel yang tidak terdiferensiasi dari eksplan yang dikulturkan, akan tetapi kalus dapat terdiferensiasi dengan mengatur konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam medium (Thorpe, 1982). Penggunaan kultur kalus, akan dapat menjamin kesinambungan kerja kultur. Artinya dengan pendekatan kultur kalus yang baik terhadap suatu produk dari kultur sebelumnya akan terus punya arti pada kegiatan kultur selanjutnya. Setidaknya ketersediaan kalus akan selalu ada tanpa harus menginisiasi ulang yang kadang-kadang tidak mudah. Pada keadaan tertentu kalus-kalus tersebut dapat dikondisikan untuk dijadikan planlet, sehingga dapat dijadikan tanaman dewasa (Santoso dan Nursandi, 2003).). Dalam diferensiasi, kalus dapat membentuk akar atau tunas atau keduanya (Wiendi, dkk. 1982).

Pembentukan tunas secara langsung pada beberapa tanaman dapat terjadi dalam air tanpa tambahan unsur lain, namun pada tanaman lain, tambahan garam-garam mineral dan sukrosa sangat diperlukan. Secara umum, pembentukan tunas secara *in vitro* baik melalui morfogenesis langsung maupun tidak langsung sangat tergantung pada jenis dan konsentrasi yang tepat dari senyawa organik, an organik dan zat pengatur tumbuh (Wiendi, dkk, 1991).

Pada kebanyakan tanaman yang bukan *in vitro*, pupuk sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman, karena pupuk biasanya mengandung unsur-unsur hara, baik unsur makro maupun mikro (Suwanda, 1980). Unsur makro adalah unsur yang mutlak diperlukan dalam jumlah yang relatif besar oleh tanaman, yang termasuk unsur makro adalah C, H, O, N, S, P, K, Ca dan Mg. Unsur mikro adalah unsur yang mutlak dibutuhkan dalam jumlah yang relatif kecil bagi tanaman, termasuk disini adalah unsur Fe, Mn, Cu, B, Cl, Mo dan Zn. Bila kekurangan salah satu unsur mikro ini, tanaman tidak dapat tumbuh dengan baik (Sutejo, 1994).

Begitupun halnya dengan kebanyakan tanaman secara *in vitro*, unsur- unsur mikro juga sangat dibutuhkan. Beberapa penelitian kebanyakan tanaman secara *in vitro* juga telah menggunakan pupuk sebagai pengganti bahan media yang sebelumnya telah digunakan. Selain harganya relatif murah, juga telah menunjukkan keberhasilan yang cukup tinggi untuk pertumbuhan tanaman yang dikulturkan.

Salah satu pupuk yang pernah digunakan adalah Hyponex. Hyponex adalah pupuk anorganik berbentuk tepung atau kristal berwarna hijau yang mengandung unsur makro dan unsur mikro yang dibutuhkan oleh tanaman (Fendy, 1992). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Supriadi (2003), Hyponex dapat meningkatkan pertumbuhan kultur anggrek *Dendrobium* dan kentang varietas Granola. Begitu juga halnya dengan penelitian telah dilakukan oleh Murni (2005), Hyponex hijau dapat meningkatkan pertumbuhan tunas pisang ambon pada media sederhana. Di Balai Pengembangan Benih Kentang Pengalengan, Propinsi Jawa Barat yang bekerjasama dengan JICA (Japan International Cooperation Agency), telah menggunakan Hyponex untuk kultur jaringan kentang (Supriadi, 2003).

BAB. III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

a. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melihat respon pertumbuhan kalus kedelai terhadap penambahan Hyponex pada medium sederhana.

b. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan :

1. Dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya
2. Dapat dilakukan perbanyakan tanaman kedelai secara kultur jaringan dengan harga yang relatif murah.

IV. METODE PENELITIAN

a. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, dari bulan Juli – Oktober 2007.

b. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah Medium B5, medium sederhana (agar, gula putih, akuades), NaClO 5,25 % (Bayclin), sukrosa, deterjen, alkohol 70 %, spiritus, zat pengatur tumbuh 2,4 D, Hyponex, , HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, alumonium foil, kertas topi, karet dan biji kedelai varietas Willis dan Singgalang yang didapat dari

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, gelas ukur, gelas piala, erlenmeyer, cawan petri, botol kultur, lemari pendingin, pinset, lampu spiritus, scalpel, autoklaf, *laminar air flow cabinet* (L AFC), sprayer dan batang pengaduk.

c. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan 5 perlakuan dan 20 ulangan. Perlakuan adalah penambahan Hyponex dengan berbagai konsentrasi seperti berikut :

- A. 0 g/l (kontrol)
- B. 1 g/l
- C. 2 g/l
- D. 3 g/l
- E. 4 g/l

d. Prosedur Penelitian

1. Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang digunakan dalam penelitian seperti alat-alat gelas, botol kultur, skalpel, pinset, kertas saring, aluminium foil dan lainnya disterilisasi dalam autoklaf pada temperatur 121° C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

2. Pembuatan Medium B5 untuk induksi kalus

Terlebih dahulu dibuat larutan stok (I - IV) dengan menimbang seluruh zat kimia untuk komposisi medium B5. Larutan stok ini disimpan dalam lemari pendingin sampai saat digunakan.

Untuk 1 liter medium B5 dimasukkan larutan stok sesuai dengan kebutuhan ke dalam gelas piala 1000 ml. Setelah itu dimasukan 30 gram sukrosa dan zat pengatur tumbuh 2,4 D sebanyak 10 ppm. Masukkan agar sebanyak 8 g/l, lalu panaskan dan homogenkan dengan magnetik stirer. Setelah homogen, atur pH sampai 5,8 dengan penambahan 0,1 N NaOH atau N HCl. Kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur ± 10 ml/botol dan ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya medium tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temeperatur 121° C dengan tekanan 15 lbs selama 20 menit. Medium yang telah steril diinkubasi selama 1 minggu di ruang kultur.

3. Pembuatan Medium Sederhana untuk Perlakuan

Untuk satu liter medium sederhana, disediakan gula putih sebanyak 30 g dan agar 6,5 – 7 g. Kemudian cukupkan akuades sampai volume medium menjadi 1 liter. Lalu tambahkan Hyponex sesuai dengan perlakuan dan homogenkan dengan magnetik stirer. Setelah homogen, atur pH sampai 5,8 dengan penambahan 0,1 N NaOH atau N HCl. Kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur ± 10 ml/botol dan ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya medium tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temeperatur 121° C dengan tekanan 15 lbs selama 20 menit. Medium yang telah steril diinkubasi selama 1 minggu di ruang kultur.

4. Penyediaan Eksplan

Untuk penyediaan eksplan, terlebih dahulu biji kedelai disterilkan permukaannya dengan NaClO 5,25 % (Bayclin), kemudian direndam dengna alkohol 70 % selama 1 menit, lalu bilas dengan akuades steril. Selanjutnya

direndam dengan larutan tween 20 % selama 15 menit. Kemudian biji tersebut dibilas lagi dengan akuades steril dan dibuang kulitnya, lalu ditanama dalam botol yang telah berisi medium B5 dengan penambahan 2,4 D untuk menginduksi kalus. Kalus mulai terbentuk lebih kurang dalam waktu 2 minggu.

e. Penanaman Eksplan

Kalus yang terbentuk dipotong dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm. Kemudian ditanam pada medium sederhana yang telah ditambahkan Hyponex dengan berbagai konsentrasi (sesuai perlakuan).

f. Pengamatan

Pengamatan dilakukan 8 minggu setelah kalus disub kultur terhadap :

1. Persentase kalus yang hidup
2. Persentase kalus yang membentuk tunas
3. Persentase kalus yang membentuk akar
4. Persentase kalus yang tidak mengalami diferensiasi (tetap membentuk kalus)

g. Tehnik Analisis Data

Data yang didapat dari hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan persentase.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mendapatkan eksplan yang berupa kalus dari kotiledon benih kedelai, terlebih dahulu dilakukan penginduksian dengan menggunakan medium B5. Kalus yang diinduksi dari kotiledon benih kedelai adalah varietas Willis dan Singgalang. Hasil induksi kalus setelah satu minggu tanam didapatkan hasil seperti pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Persentase kalus yang terbentuk dari koteiledon benih kedelai varietas Willis dan Singgalang satu minggu setelah tanam

Varietas	Persentase kalus yang terbentuk
Willis	0
Singgalang	100

Dari Tabel 1 dapat dilihat, bahwa benih kedelai varietas Willis tidak satupun yang membentuk kalus ataupun organ karena semua eksplan tidak menunjukkan tanda-tanda untuk tumbuh seperti perubahan warna menjadi hijau. Sedangkan pada varietas Singgalang, semua kotiledon berubah warnanya menjadi hijau dan satu minggu setelah tanam mulai memperlihatkan perubahan untuk membentuk kalus. Hal ini menunjukkan bahwa eksplan dari varietas Singgalang tumbuh. Tidak tumbuhnya eksplan dari kotiledon varietas Willis berkemungkinan benih kedelai tersebut sudah tidak mempunyai kemampuan untuk berkecambah karena sudah terlalu lama dalam penyimpanan.

Pada minggu ke dua setelah tanam, kalus yang terbentuk pada Varietas Singgalang tidak menunjukkan pertambahan ukuran kalus. Kemudian pada setiap eksplan mulai terlihat lendir bakteri pada medium di sekeliling eksplan. Dengan terkontaminasinya eksplan karena munculnya bakteri, maka sebahagian eksplan mulai menunjukkan gejala nekrotik dan akhirnya semua jaringan dari eksplan menjadi mati. Akhirnya semua eksplan menunjukkan hal yang sama. Berarti kalus tersebut tidak bisa digunakan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian berikutnya

yaitu untuk perlakuan pada medium sederhana yang ditambahkan Hyponex. Untuk itu dilakukan penginduksian kalus kembali dari kotiledon kedelai varietas Singgalang.

Akan tetapi, setelah dilakukan pengulangan penginduksian kalus sebanyak dua kali, terjadi lagi hal yang sama dengan kejadian yang sebelumnya, yaitu setelah kalus terbentuk satu minggu, kemudian terjadi lagi kontaminasi pada eksplan oleh bakteri. Berdasarkan dengan kejadian tersebut, dapat disimpulkan bahwa benih kedelai varietas Singgalang tersebut sudah terinvestasi oleh bakteri patogen. Diduga bakteri tersebut adalah *Pseudomonas syringae* pv. *glycine* yang dapat menimbulkan penyakit hawar bakteri (*bacterial blight*) pada kedelai. Menurut Habazar (1989), bakteri ini tergolong penting karena dapat menginfeksi tanaman mulai dari benih sampai ke tanaman di lapangan dan dapat bertahan di dalam benih selama 2 tahun. Gejalanya sering tidak terlihat bila berada pada embrio atau bagian lainnya dalam biji (Sinclair, 1982). Biji dari polong yang sakit dapat keriput atau berubah warnanya, namun adakalanya tidak bergejala sama sekali (Semangun, 1993).

Berdasarkan dengan keadaan tersebut, maka kegiatan penelitian berikutnya yaitu mengkulturkan kalus kedelai pada medium sederhana yang ditambahkan Hyponex tidak dapat dilaksanakan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Benih kedelai yang terinvestasi oleh bakteri patogen dapat tumbuh untuk sementara waktu, tetapi akhirnya tidak dapat berkembang bahkan mati karena patogen tersebut mulai menyerangnya.

B. Saran

1. Untuk menginduksi kalus dari kotiledon kedelai harus dari benih kedelai yang bebas dari infeksi laten bakteri patogen (mempunyai sertifikat dari Balai Sertifikasi Benih)
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan kedelai yang tahan terhadap serangan bakteri patogen

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2005. *Sumatera Barat dalam Angka 2004/2005*. Badan Pusat Statistik. Propinsi Sumatera Barat.
- Adisarwanto, T. 2005. *Budidaya dengan Pemupukan yang Efektif dan Pengoptimalan Peran Bintil Akar Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Bhojwani, S.S dan M.K Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture. Theori and Practice*. Elseveir, Amsterdam
- Chatri, M. 2002. *Perbanyakkan Tanaman Kedelai dengan Kultur Jaringan*. Laporan Penelitian Peneliti Muda (Unpublished).
- Djafaruddin, 1991. *Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman Secara Terpadu*. Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang.
- Dolozel, Y dan F.M Novak. 1986. *Sister Chromatic Exchanges in Garlic (Allium sativum L.) Callus Cells*. Plant Cell.
- George, E.F dan P.D Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press Reading Berk. England.
- Gunawan, L.W. 1989. *Teknik Kultur Jaringan tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Habazar, T. 1989. *Inventarisasi Penyakit-penyakit Bakteri pada tanaman Kedelai*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Krishnamoorthy, H.N. 1981. *Plant Growth Substances*. Tata Mc Grow-Hill Publishing Company LTD. New Delhi.
- Lamina, 1989. *Kedelai dan Pengembangannya*. CV. Simplex.
- Murni, Y. 2005. *Pengaruh Penambahan Hyponex pada Medium Sederhana terhadap Pertumbuhan Meristem Tanaman Pisang Ambon Kuning (Musa paradisiaca L.) var sapientum*. Skripsi Sarjana Biologi. FMIPA. Universitas Negeri Padang.
- Nurliana, S. 1992. *Media Kultur Jaringan Tanaman. Penelitian Kultur Jaringan Tanaman Berkayu dan Tanaman Langka*. Heds Project. Universitas Bengkulu.

- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinns Mijhoff Publisher. Dordrecht Nederland.
- Rahardja, P.C. 1988. *Kultur Jaringan. Teknik Perbanyakan Tanaman Secara Modern*. PT Penebar Swadaya. Jakarta.
- Santoso, U dan F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM Press. Malang.
- Scowcroft, W.R., P.J Larkin dan R.I.S Brettell. 1983. *Genetic Variation from Tissue Culture and Protoplast in Plant Pathologi* (Edited by Helgeson J.P and B.J Deverall). Academic Press. London.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. UGM-Press : Yogyakarta.
- Sinclair, J.B. 1982. *Compedium of Soybean Disease. Second Edition. The International Soybean Program (INTSOY)*. College of Agriculture. University of Illinoist at Urbana-Champaign.
- Supriadi, D. 2003. *Petunjuk Pelaksanaan Kultur Jaringan*. Dinas Pertanian Tanaman Pangan. UPTD. Balai Pengembangan Benih Kentang Pengalengan. Japan International Cooperation Agency.
- Sutejo, M. 1994. *Pupuk dan Cara Pemupukan*. PT Rineka Cipta. Jakarta.
- Thorpe, T.A. 1981. *Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture*. Academic Press Inc. LTD. London.
- Wiendi, N.M.A; G.A Wattimena dan L.W Gunawan 1992. *Perbanyakan Tanaman dalam Bioteknologi tanaman* (Ed) G.A Wattimena. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Yusnita. 2004. *Kultur jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

Lampiran

Komposisi Medium B5

Stok	Senyawa penyusun	Konsentrasi Dalam Medium (mg/l)	Konsentrasi Larutan Baku (g/l)	Volume larutan Medium (ml/l)
I	KNO ₃ CaCl ₂ .2H ₂ O MgSO ₄ .7H ₂ O	2.500 150 250	25,0 1,5 2,5	50
II	KI H ₃ BO ₃ MnSO ₄ .4H ₂ O CuSO ₄ .5H ₂ O CoCl ₂ .6H ₂ O ZnSO ₄ .7H ₂ O Na ₂ Mo ₂ O ₇ .2H ₂ O	0,75 3,0 10,0 0,025 0,025 3,0 0,25	0,015 0,06 0,20 0,005 0,005 0,06 0,005	5
III	FeSO ₄ .7H ₂ O Na ₂ EDTA.2H ₂ O	27,8 37,3	0,556 0,746	5
IV	Myinositol Thiamin-HCl Pyridoxin-HCl Nicotinic acid	100 10 1 1	2 0,2 0,02 0,02	5
	Sukrosa Agar		20 8	

3. Komposisi Pupuk Hyponex

Nitrogen Nitrat	4 %
Amonium Nitrogen	4 %
Phosphor Acid	20 %
Potasium	20 %
Boron (B)	
Magnesium (Mg)	
Kalsium (Ca)	
Mangan (Mn)	
Cobalt (Co)	
Molybdenum (Mo)	
Copper (Cu)	
Sulfur (S)	
Iron (Fe)	
Zink (Zn)	

(Supriadi, 1996)

**3. Komposisi Medium Sederhana
(untuk 1 (satu) liter medium)**

Gula putih	30 g
Agar	6,5 - 7 g
Akuades	

(Supriadi, 1996)