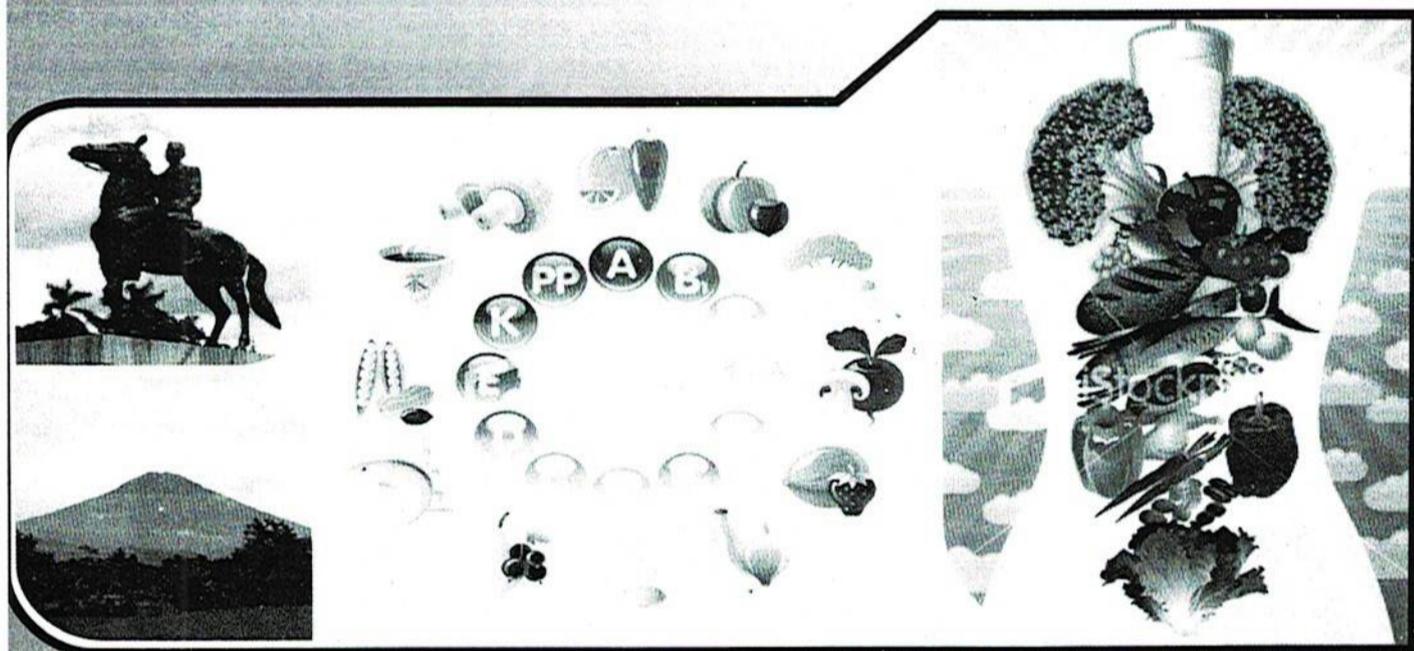




# PROSIDING SEMINAR NASIONAL

Purwokerto, 23-24 Nopember 2011

## "Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan"



**PUSLIT PANGAN GIZI DAN KESEHATAN**  
**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**  
**UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN**

**Editor :**

Prof. Ir. Totok Agung DH, MP, Ph.D	(UNSOED)
Dr. Rifda Naufalin, SP., M.Si	(UNSOED)
Prof. Dr. Hardinsyah, MS	(IPB)
Erna Kusuma Wati, SKM, M.Si	(UNSOED)
Friska Citra Agustia, S.TP, M.Sc	(UNSOED)
Santi Dwi Astuti, S.TP, MP	(UNSOED)
Siti Zulaikha Wulandari, SE, M.Si	(UNSOED)
Ali Maksum, S.TP	(UNSOED)
Diah Puspasari, S.TP	(UNSOED)

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

“Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan”

Diterbitkan oleh :

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Jenderal Soedirman  
Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto  
Telp / Fax (0281) 625739

Cetakan 1. Nopember 2011  
ISBN. 978-979-9204-51-6

ISBN 978-979-9204-51-6



9 789799 204516

**KATA PENGANTAR**  
**KETUA PANITIA SEMINAR NASIONAL**

Yth. Rektor Universitas Jenderal Soedirman

Yth. Ketua LPPM Universitas Jenderal Soedirman

Para peserta seminar dan hadirin sekalian yang saya hormati

**Assalamualaikum wr.wb**

Rasa syukur yang dalam kami sampaikan ke hadirat Alloh SWT yang telah memberi rahmat dan karunia-Nya sehingga prosiding Seminar Nasional tahun 2011 "Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan" dapat diterbitkan.

Seminar ini dibagi dalam dua kegiatan utama, yaitu sesi pleno dan sesi paralel. Sesi pleno melibatkan dua pembicara, yaitu dari Kementerian Pertanian dan dari Ketua Pergizi (Perhimpunan Peminat Gizi Pangan) Indonesia: Prof. Dr. Hardinsyah, MS. Pada sesi paralel, yang dibagi dalam 6 bidang yaitu (1) Biodiversitas tropis dan bioprospeksi; (2) Pengelolaan wilayah kelautan, pesisir dan pedalaman; (3) Pangan, gizi dan kesehatan; (4) Energi baru dan terbarukan; (5) Kewirausahaan, koperasi dan UMKM dan (6) Rekayasa sosial dan pengembangan pedesaan.

Institusi yang memaparkan makalahnya berasal dari Universitas Jenderal Soedirman dan universitas lainnya.

Seminar ini diadakan dalam upaya mengembangkan sumber daya manusia yang kompeten dan kompetitif di bidang penelitian untuk pengembangan riset dengan luaran yang unggul sesuai dengan kebutuhan pengguna serta dalam rangka mengembangkan diseminasi informasi dan transfer teknologi kepada masyarakat.

Pada kesempatan ini panitia menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung terselenggaranya seminar dan diterbitkannya prosiding ini. Semoga prosiding ini bermanfaat.

Billahit tautiq wal hidayah, wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Purwokerto, 23 Nopember 2011



## DAFTAR ISI

### MAKALAH SESI PLENO

No	Judul	Halaman
1.	Kebijakan Pemerintah dalam Pengembangan Pedesaan	1
2.	Optimalisasi Gizi dalam Pangan Berbasis Kearifan Lokal untuk Meningkatkan Derajat Kesehatan Masyarakat.	13

MAKALAH SESI PARALEL

BIDANG II: PENGELOLAAN WILAYAH KELAUTAN, PESISIR, DAN PEDALAMAN

No	Judul	Halaman
1.	Analisis Faktor Fisik-Kimia dan Biologi Dalam Upaya Monitoring Daya Dukung Perairan Sungai Pelus Purwokerto <b>Carmudi dan Kusbiyanto</b>	1
2.	<i>Introduced VS Indigenous Species</i> :Model Managemen Diversitas Ikan di Sungai <b>W. Lestari dan Moh. Husein Sastranegara</b>	13
3.	Kajian Teknologi Budidaya Padi Sawah Spesifik Lokasi Berdaya Hasil Tinggi dan Ramah Lingkungan <b>Sakhidin, khasirun dan Wiyantono</b>	25
4.	Analisis Investasi Pengembangan Obyek Wisata Desa Terpadu Di Kecamatan Somagede <b>Sudjarwanto, Sugito dan Bambang Lelono</b>	32
5.	UPAYA PELESTARIAN BUDIDAYA IKAN DI WADUK DENGAN PENGGUNAAN PAKAN FERMENTASI YANG DISUBSTITUSI TEPUNG KULIT UBI KAYU DAN PROBIOTIK <b>Endang Widyastuti, Lestanto Unggul Widodo, Siti Rukayah</b>	43
6.	Pemanfaatan Metode Resistivitas untuk Menginvestigasi Karakteristik Akuifer dan Potensi Sumber Air Tanah Di Kawasan Lahan Kritis Daerah Aliran Sungai (DAS) Serayu Kabupaten Cilacap (Studi Kasus : Beberapa Desa di Kecamatan Maos, Kecamatan Kesugihan, dan Kecamatan Adipala Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah) <b>Sehah dan Hartono</b>	55
7.	Pengembangan Pakan Ikan Alternatif Berbasis Bahan Baku Lokal Untuk Menunjang Akuakultur Berkelanjutan <b>Sri Marnani, Emyliana Listiowati, dan Anandita Ekasanti</b>	70
8.	Pengendalian Hayati Hama Lundi Pada Pertanaman Kentang Di Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah) <b>Rostaman, Budi Prakoso dan Darini Sri Utami</b>	84
9.	Penggunaan 2,4-D Terhadap Perkembangan Hypokotil Kedelai Varietas Slamet Yang Ditumbuhkan Secara In Vitro Untuk Mendapatkan Tanaman Tahan Kering <b>Iman Budisantoso dan Lucky Prayoga</b>	93
10.	Desain Saringan <i>Multi Soil Layering (Msl) Biomineral</i> Untuk Mengoptimalkan Penyaringan Limbah Cair Industri Kilang Minyak Guna Air Irigasi <b>Joko Maryanto, Tamad, dan Ismangil</b>	104
11.	Strategi Pengelolaan Sumberdaya Perikanan Berbasis Ekosistem (Studi Empiris di Pesisir Selatan Jawa Tengah Bagian Barat) <b>Hary Pudjianto, Suharno, dan T. Junaedi</b>	114

12.	POTENSI REPRODUKSI UDANG <i>Macrobrachium</i> spp. SEBAGAI ACUAN MEMPRODUKSI BENIH <b>Anastasia Endang Pulungsari dan Elly Tuti Winarni</b>	129
13.	Implementasi Perspektif Green Politics : Pelaksanaan Tata Kelola Lingkungan Hidup Dalam Kerangka Otonomi Daerah (Studi Kasus Tata Kelola Lingkungan Hidup di Kabupaten Tegal) <b>Arif Darmawan dan Achmad Sururi</b>	136
14.	Kajian Keefektifan Pemberian Pupuk Daun Pada Tanaman Kedelai Di Tanah Pasir Pantai <b>Khavid Faozi dan A. H. Syaeful Anwar</b>	147
15.	Perencanaan Pengembangan Sektor Pertanian Sub Sektor Tanaman Pangan dengan Pendekatan Agropolitan Di Kabupaten Wonosobo <b>Suharno, Suprpto dan Indah Nuraeni</b>	155
16.	Analisis Sumberdaya Genetik Kambing Peranakan Etawah di <i>Village Breeding Centre</i> Kabupaten Banyumas <b>A.T. Ari Sudewo dan Setya Agus Santosa</b>	167

**Penggunaan 2,4-D Terhadap Perkembangan Hipokotil Kedelai Varietas Slamet Yang Ditumbuhkan Secara *In Vitro* Untuk Mendapatkan Tanaman Tahan Kering**

Oleh : Drs. Iman Budisantoso., MP dan Drs. Lucky Prayoga., MP

**RINGKASAN**

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah mengetahui pengaruh 2,4-D terhadap pertumbuhan dan perkembangan hipokotil dan kotiledon kedelai varietas Slamet dalam kultur *in vitro*. Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan yang diberikan adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 4 macam konsentrasi yaitu 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L dan 60 mg/L, masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Parameter yang diamati perkembangan eksplant meliputi : prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embriogenesis dan jenis kalus yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplant hipokotil maupun kotiledon kedelai varietas Slamet yang ditumbuhkan dalam media MS dengan perlakuan 2,4-D 20 s/d 60 mg/L tidak menghasilkan kalus maupun tanaman melalui proses embriogenesis, eksplant berwarna coklat dan mati, sehingga tidak dapat dilakukan analisis data. Setelah perlakuan konsentrasi hormon diubah menjadi 0; 5; 10 dan 15 mg/L, kalus tumbuh pada eksplant hipokotil dengan perlakuan 2,4-D 5 mg/L, sedangkan eksplant kotiledon kalus tumbuh pada media tanpa hormon 2,4-D (kontrol).

**Kata kunci** : kedelai varietas Slamet, 2,4-D, kultur *in vitro*, hipokotil, kotiledon.

**SUMMARY**

*Objectives to be achieved in this study is to know the effect of 2,4-D on the growth and development of cotyledons and hypocotyl Slamet soybean variety in vitro cultured. The research carried out experiments with the experimental design Completely Randomized Design (CRD), the treatment given is the concentration of 2,4-D which consists of four kinds ie: 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L and 60 mg/L, each treatment was repeated 4 times. Parameters observed include: the percentage of callus formation, growth through the process of embryogenesis and type of callus formed. The results showed that*

*the soybean cotyledon and hypocotyl of Slamet soybean varieties grown in MS medium with 2,4-D treatment of 20 until 50 mg/L did not produce callus and plants through the process embryogenesis, explant brown and die, so it can not be done data analysis. After concentration of the hormone treatment was changed to 0, 5, 10 and 15 mg/L, callus grown on explant hypocotyl with 2,4-D treatment of 5 mg/L, while explant cotyledon callus grown on media without hormones 2,4-D (control).*

**Keywords:** Slamet soybean variety, 2,4-D, invitro cultured, hypocotyl, and cotyledon

## PENDAHULUAN

Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang tahan terhadap penyakit karat, mempunyai produktifitas cukup tinggi 2,6 ton/Ha yang dilepas pada tahun 1995 (Sunarto, 1997). Hasil penelitian **Budisantoso (1999)**, menunjukkan bahwa varietas Slamet tahan terhadap kekeringan, pertumbuhan dan hasil tanaman akan menurun pada kadar air tanah 50% dari kapasitas lapang.

Dengan meningkatnya kebutuhan kedelai setiap tahun, sedangkan produktivitas kedelai masih rendah, maka ketergantungan import kedelai sangat tinggi. Import kedelai pada tahun 1990 sebesar 500.000 ton dengan nilai sebesar US\$ 128 juta, nilai tersebut meningkat tajam pada tahun 2000 mencapai US\$ 300 juta, selanjutnya pada tahun 2005 telah mencapai US\$ 358 juta atau setara dengan Rp. 3,58 triliun. Keadaan tersebut diperparah dengan menyusutnya lahan pertanian, pada tahun 2003 lahan yang ditanami kedelai hanya mencapai 0,53 juta Ha, sehingga kebutuhan kedelai hanya dicapai 35% dari produksi dalam negeri (Simatupang, 2005). Kenyataan ini dapat 'menguras' devisa negara, sehingga perlu upaya-upaya penelitian guna meningkatkan produktivitas kedelai lokal.

Kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas lebih tinggi dari tetuanya dan tahan terhadap kekeringan (**Budisantoso dan Hartiko, 2001**). Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang dilepaskan pada masyarakat pada tahun 1995, merupakan kedelai yang tahan pada tanah masam, tahan pada kondisi kering, dengan rata-rata berat 100 biji adalah 12,5 g atau mempunyai produktivitas 2,26 ton/Ha dengan kandungan protein biji 34%, sementara tetuanya Varietas Wilisberat 100 biji adalah 10 g, produktivitas 1,6 ton/Ha dan kandungan

protein biji 37% sedangkan varietas Dempo berat 100 biji adalah 12 g, produktivitas 1,5 ton/Ha. Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas yang cukup tinggi. Selanjutnya, apabila dibandingkan varietas lainnya, varietas slamet menunjukkan produktivitas yang tinggi pula, namun akhir-akhir ini ukuran biji varietas Slamet telah menurun, karena diduga mengalami segregasi genetik, hal ini ditunjukkan dari hasil pengamatan awal berat 100 biji yang dipanen pada bulan Oktober 2008 adalah 7,58 g.

Upaya peningkatan produktivitas varietas slamet telah banyak dilakukan diantaranya dengan menggunakan teknologi sonik bloom yaitu menggunakan suara berfrekuensi tinggi yang dibarengi dengan pemberian hara tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknologi sonik bloom dapat meningkatkan berat kering tanaman dan berat biji/tanaman (**Budisantoso dan Prcklamasingsih, 2003**). Upaya lain untuk meningkatkan produktivitas adalah dengan perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,25-0,75 %, yang direndaman selama 6-24 jam. Biji yang telah mendapat perlakuan kolkisin ditanam dalam media tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin mampu mengubah penampilan pertumbuhan awal (kecambah), selanjutnya pada pengamatan secara mikroskopis inti sel pada waktu pembelahan mitosis tampak membesar, jumlah kromosom tidak dapat dilakukan karena ukuran kromosom pada kedelai sangat kecil. Namun demikian, diduga tanaman kedelai telah mengalami mutasi menjadi poliploid. Pada umur 20 hst (hari setelah tanam) tanaman mati karena bulu-bulu akar tidak tumbuh sehingga tanaman tidak mampu menyerap hara (**Budisantoso dan Kamsinah, 2009**). Adanya kenyataan tersebut di atas maka perlu upaya penelitian lainnya, guna menghasilkan tanaman kedelai yang lebih unggul. Dalam penelitian ini, hypokotil kedelai varietas slamet ditumbuhkan dalam media MS yang diberi 2,4-D untuk memacu pertumbuhan kalus. Selanjutnya kalus yang dihasilkan dapat ditumbuhkan menjadi tanaman utuh untuk memperbanyak tanaman atau kalus dapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya.

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mendapatkan kalus kedelai var. Slamet yang bersifat embrionik yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut seperti perlakuan kalus dengan bahan yang bersifat mutagen sehingga akan

dihasilkan tanaman mutasi yang akan memperbaiki sifat genetic tanaman, maupun perlakuan bahan kimia lainnya yang akan menghasilkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan maupun garam. Selain itu dapat pula digunakan untuk memperbanyak tanaman melalui teknik kultur *in vitro*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan/materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kedelai varietas Slamet yang diperoleh dari Laboratorium Pemuliaan Fak. Pertanian Unsoed. Biji kedelai dikecambahkan dalam kondisi steril. Bahan lainnya adalah alkohol 96% dan 70%, aquadestilata, HCL 1N, NaOH 1N, media dasar Murashige & Skoog (MS). Sedangkan alat yang digunakan antara lain *autoclave*, *aluminium foil*, *beaker glass*, *erlenmeyer*, *hand sprayer*, *Laminar Air Flow Cabinet (LAF)*, *hot plate magnetic stirrer*, *micropipette*, cawan petri, botol kultur, gelas ukur, karet gelang, lampu TL, pH meter, pinset, skalpel, rak, oven, plastik wrap dan neraca analitik.

### **Rancangan percobaan**

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan yang diberikan adalah konsentrasi 2,4-D untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan hipokotil kedelai. Konsentrasi 2,4-D yang diberikan terdiri dari 4 macam konsentrasi yaitu 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L dan 60 mg/L, masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah perkembangan eksplant yang ditumbuhkan dalam media MS, prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embrio genesis dan jenis kalus yang terbentuk.

### **Cara Kerja Penelitian**

#### **Persiapan Media**

Media kultur yang digunakan yaitu media Murashige & Skoog (MS) dengan membuat larutan stokter lebih dahulu.

a. Pembuatan Larutan Stok Media

Larutan stok media MS yang dibuat yaitu larutan stok hara makro (10x) 100 ml per 1 liter larutan, stokharamikro (100x) 10 ml per 100 ml larutan, larutaniodin (100x) 10 ml per 100 ml larutan, larutanFeEDTA (1000x) dan vitamin (1000x), untukmembuat 1000 ml larutanstok media MS diperlukanlarutanstokharamakro 100 ml, 1 ml haramikro, 1 ml iodin, dan vitamin 0,25 ml.

b. Pembuatan Media Kultur dan Sterilisasi

1) Media MS (Murashige&Skoog).

Media MS yang digunakan untuk setiap perlakuan sebanyak 200 ml. Kedalam 50 ml aquades, ditambahkan 100 ml larutan stok hara makro, 0,8 ml larutan stok hara mikro, 1 ml larutan stok iodin, 1 ml larutan stok vitamin, 0,25 ml larutan stok EDTA, 1 ml larutan stok besi, 80 mg mioinositol, 6 g sukrosa. Atur pH hingga mencapai 5,85 dengan penambahan NaOH 1 N atau HCL 1 N. Tambahkan 7 g/l agar dan aquades hingga mencapai volume 200 ml.

2.)Sterilisasi

a. Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dengan detergen sampai bersih kemudian dikeringkan. Peralatan seperti scalpel, cawan petri berisi kertas saring dan pinset dibungkus dengan kertas, sedangkan Erlenmeyer dan botol kultur ditutup dengan aluminium foil, selanjutnya sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 0,15 Mp aselama 30 menit. Untuk alat-alat seperti pinset dan scalpel, sterilisasi dilakukan kembali pada saat akan digunakan dalam *laminar air flow cabinet* dengan cara membakar ujung pinset dan scaipel yang telah dicelupkan dalam aikohol 96% di atas api bunsen.

b. Sterilisasi Media

Masing-masing botol kultur yang berisi media perlakuan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekan 0,15 Mpa selama 20 menit.

c. Sterilisasi *Laminar Air Flow*

Sebelum digunakan LAF disterilisasi terlebih dahulu dengan lampu ultra violet (UV) selama 30 menit. Selanjutnya, *laminar air flow* disemprot dan

dilap dengan menggunakan alcohol 96%. Semua alat dan bahan yang akan digunakan kecuali eksplan disemprotkan dengan alcohol 96% kemudian dimasukkan dalam *laminar air flow*.

### **Penanaman Eksplan**

Penanaman dilakukan dalam ruang isolasi, penanaman dengan menggunakan *Laminar Air Flow Cabinet*. Bahan tanam berupa biji kedelai var Slamet dilakukan sterilisasi dengan alkhohol 70% selama 3 menit, cuci dengan menggunakan aquadet steril sebanyak 3 kali. Sterilisasi dilakukan kembali dengan menggunakan HgCl 2% selama 5 menit dan dicuci kembali dengan aquadet steril sebanyak 3 kali. Biji yang telah steril dikecambahkan dalam erlenmeyer steril dan ditambah aquades steril. Setelah 3 hari hipokotil akan tumbuh dan dipotong serta ditanam dalam media sesuai dengan perlakuan.

### **Pemeliharaan kultur**

Hipokotil yang telah ditanam disimpan ditempatkan dalam ruangan inkubasi dalam kondisi gelap, untuk memacu perkembangan eksplan. Apabila telah terbentuk kalus/tanaman botol tanam dikeluarkan dari ruang gelap dan diberi penyinaran dengan intensitas cahaya yang didapat dari lampu neon sebesar 600 - 1000 lux yang dinyalakan secara kontinyu. Apabila terjadi kontaminasi maka segera ditanam kembali sesuai dengan perlakuannya.

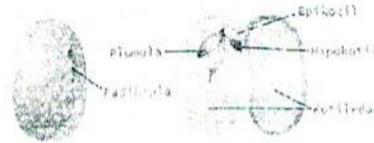
### **Pengamatan, pengambilan dan analisis data**

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah perkembangan eksplant yang ditumbuhkan dalam media MS, prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embrio genesis dan jenis kalus yang terbentuk. Pengamatan tersebut dilakukan setiap hari. Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji F dengan taraf kepercayaan 95% dan 99%, yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan. Apabila menunjukkan bedanya nyata, dilanjutkan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 48 eksplant yang berupa biji yang telah dikecambahkan diambil hipokotilnya dan ditanam dalam media MS dengan perlakuan masing-masing 0; 20; 40 dan 60 mg/L (sesuai dengan perlakuan dalam proposal yang diajukan). Tiap perlakuan dalam petridisk ditanam 4 buah eksplant. Setelah 3 hari ternyata banyak ( $\pm 25\%$ ) terjadi kontaminasi, selanjutnya setelah 7 hari sebagian besar media ( $> 90\%$ ) terjadi kontaminasi, sehingga dilakukan penanaman kembali. Kontaminasi disebabkan desinfektan (alkohol 70%) yang digunakan. Alkohol 70% yang digunakan dibeli dari apotik sehingga diragukan kadar alkohol yang ada. Setelah alkohol diganti dengan alkohol 96% yang dibeli dari toko bahan kimia ternyata kontaminasi dapat dihindari ( $\pm 1-2\%$ ). Untuk sterilisasi eksplant tetap menggunakan alkohol 70% dengan cara mengencerkan dari alkohol 96%.

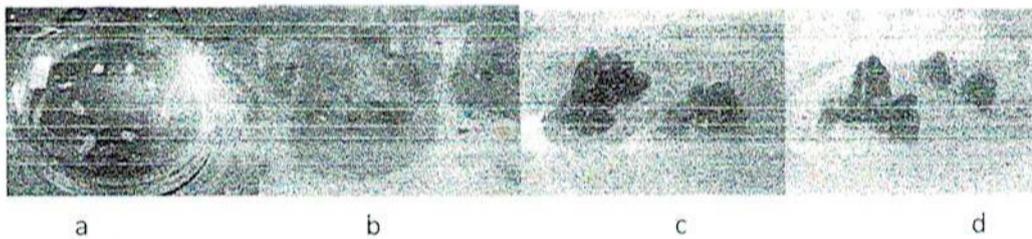
Penanaman kedua dilakukan dengan memisah antara hipokotil dan kotiledon (Gambar 1). Prosedur ini merupakan pengembangan dari kegagalan penanaman pertama. Dalam penanaman pertama, sesuai dengan proposal, jenis eksplant yang ditanam hanya berupa hipokotil. Karena keingintauan serta sayang apabila bagian yang 'dianggap' tidak terpakai hanya dibuang, maka dilakukan penanaman kotiledon. Masing-masing bagian dari eksplant (hipokotil dan kotiledon) ditanam dalam media MS secara terpisah sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Setelah dilakukan pengamatan ternyata kotiledon dan hipokotil tumbuh kalus. Kalus tumbuh pada eksplant kotiledon dengan media tanpa perlakuan 2,4-D (kontrol), sedangkan pada perlakuan 2,4-D (20; 40 dan 60 ppm) setelah 10 hari eksplant berwarna coklat dan mati. Pada semua eksplant hipokotil berwarna coklat dan mati. Hasil ini ternyata berbeda dengan penelitian Widoretno *et al.* (2003) bahwa pemberian 2,4-D hingga konsentrasi 40 ppm terbentuk kalus dan tunas melalui proses embriogenesis. Hal ini disebabkan pengaruh hormon berbeda-beda bergantung pada jenis tanaman, jaringan, organ maupun konsentrasi hormon yang diberikan (Wareing dan Phillips, 1981).



Sumber : Anonim (2011)

Gambar 1. Kotiledon dan hipokotil yang digunakan sebagai eksplant.

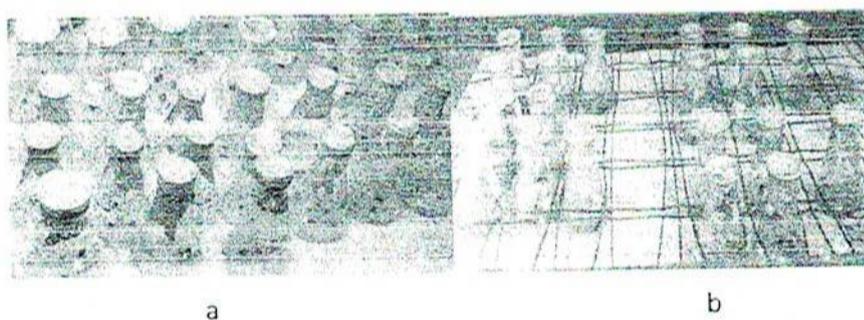
Berdasarkan kenyataan tersebut di atas maka dilakukan penanaman kembali dengan menurunkan konsentrasi perlakuan yang terkecil menjadi 0; 5; 10 dan 15 mg/L 2,4-D. Dari hasil pengamatan ternyata pada eksplant kotiledon dapat tumbuh kalus tetap pada perlakuan 0 ppm (kontrol), sedangkan eksplant hipokotil tumbuh kalus pada perlakuan 2,4-D 5 mg/L (Gambar 2).



Gambar 2. Kalus yang tumbuh dari eksplant hipokotil dan kotiledon a. Kalus hipokotil b. Subkultur kalus hipokotil. c. Kalus kotiledon. d. Subkultur kalus kotiledon.

Pada perlakuan 2,4-D 10 dan 15 mg/L dengan eksplant kotiledon maupun hipokotil tidak tumbuh kalus. Hal ini diduga konsentrasi yang diberikan terlalu tinggi yang akan menghambat perkembangan kalus. Selanjutnya, apabila dilihat dari sifatnya kalus yang berasal dari hipokotil dan kotiledon sangat berbeda, kalus kotiledon sangat kompak, apabila dipotong-potong tampak keras, setelah diberi sinar lampu akan berwarna hijau, sedangkan kalus hipokotil bersifat embrionik dan remah, apabila diambil menggunakan piset akan terurai menjadi potongan kalus kecil-kecil, setelah diberi sinar lampu tidak berwarna hijau tetapi tetap bersifat embrionik dan remah (Gambar 2b dan 2d).

Pertumbuhan eksplant dalam kultur *in vitro* dapat menghasilkan kalus, tunas maupun tanaman melalui proses embriogenesis. Embriogenesis merupakan suatu proses dimana sel somatik dapat berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan embrio yang spesifik. Secara spesifik tahapan perkembangan tersebut dimulai dari fase globler, fase hati, fase terpedo dan plantlet (Gai, 2001). Ragapadmi (2002) mengatakan bahwa dari berbagai penelitian, 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk menginduksi kalus maupun tanaman melalui proses embriogenesis. Zat pengatur tumbuh tersebut merupakan auksin sintetik yang cukup kuat dan tahan terhadap degradasi karena reaksi enzimatik dan fotooksidasi. Bhojwani dan Razdan (1983) menambahkan bahwa disamping auksin, sering pula ditambahkan kinetin secara bersamaan. Berdasarkan teori tersebut, kalus yang telah diperoleh dari penelitian ini, diperlakukan dalam media MS dengan penambahan 2,4-D 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L dalam media padat maupun cair (Gambar 3) namun tidak menghasilkan tunas maupun tanaman melalui embriogenesis. Hal ini diduga pengaruh hormon untuk proses embriogenesis pada kedelai varietas Slamet berbeda dengan kedelai lainnya.



Gambar 3. Pertumbuhan kalus dalam media padat (a) dan media cair (b) dengan perlakuan 2,4-D 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L dan digojok.

Implikasi yang diperoleh dalam penelitian ini adalah diperoleh kalus yang embrionik yang berasal dari hipokotil dan kotiledon yang akan digunakan dalam penelitian-penelitian selanjutnya.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kultur *in vitro* hipokotil maupun kotiledon kedelai varietas Slamet dalam media MS dengan perlakuan 2,4-D 20 s/d 60 mg/L tidak menghasilkan kalus maupun tanaman melalui proses embrogenesis. Namun kalus tumbuh pada eksplant hipokotil dengan perlakuan 2,4-D 5 mg/L, sedangkan eksplant kotiledon kalus tumbuh pada media tanpa hormon 2,4-D (kontrol).

### Saran

Guna memperoleh tunas melalui proses embriogenesis maka perlu dilakukan penelitian kembali dengan menurunkan konsentrasi 2,4-D lebih kecil dari 5 mg/L. Perlu penelitian-penelitian lanjutan dari kalus kotiledon maupun hipokotil kedelai varietas Slamet, untuk memperoleh kedelai yang lebih unggul terhadap lingkungan tertentu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. Plant Tissue Culture Theory and Practice Elsevier. Amsterdam. Oxford. New York. Tokyo.
- Budisantoso I.** 1999. Pengaruh Lemas tanah dan pemupukan N terhadap aktivitas nitrat reduktase, retensi polong dan hasil kedelai (*Glycine max* (L) Merr). Tesis. Pascasarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Budisantoso I dan Kamsinah.** 2009. Pengaruh Kolkisin terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai. Laporan hasil penelitian. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Diana Sofia H. 2007. Pengaruh Konsentrasi dan lama waktu pemberian koikisin terhadap pertumbuhan dan poliploid pada biji muda kedelai yang dikultur secara *in vitro*. Laporan penelitian. Universitas Sumatra Utara.
- Gai., M.D. 2001. Direct Somatic Embryo genesis as a rapid and efficient system for *in vitro* regeneration of *Arabidopsisthaliana*. Plant Cell and Organ Culture 64:39-46.
- Ragapadmi Purnamaningsih. 2002. Regenerasi Tanaman melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang mengendalikannya. Buletin Agrobio 5(2):51-58.

- Ross C.W., and D.L. Rayie. 1982. Evaluation of H secretion Relative to zeatin-induced growth of detached cucumber cotyledons. *Plant Physiol* 70: 1470-1474.
- Simatupang P., Narwotodan K.S Swastika. 2005. Makalah Lokakarya :Pengembangan Kedelai dan Kebijakan Penelitian di Indonesia. [http://pse.litbang.deptan.go.id/ind/pdf/Anjak\\_2005\\_IV\\_10.pdf](http://pse.litbang.deptan.go.id/ind/pdf/Anjak_2005_IV_10.pdf).  
Tanggal diakses 11 April 2010.
- Sunarto.1997. Kedelai Varietas Slamet dan Sindoro. Fakultas Pertanian. Unsoed.Purwokerto.
- Wareing. P.F., and Phillips, I.D.J. 1981. *Growth and Differentiation Plant* (3rd edition). Pergamon Press. Oxford.
- Widoretno Wahyu, Estri Laras A dan Sudarsono. 2003. Metode Induksi Pembentukan Embrio Somatik dari Kotiledon dan Regenerasi Planlet Secara *In Vitro*. *Hayati* 10 (1) : 19-24.

# Sertifikat

diberikan kepada :

*Dr. Lucky Prayoga, MP*

Sebagai

PEMAKALAH

dalam

## SEMINAR NASIONAL PENGEMBANGAN SUMBER DAYA PEDESAAAN DAN KEARIFAN LOKAL BERKELANJUTAN

yang diselenggarakan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat  
Universitas Jenderal Soedirman  
pada tanggal 23 - 24 Nopember 2011

Rektor  
Universitas Jenderal Soedirman



Prof. Edy Yuwono, Ph.D  
NIP. 19621208 198601 1 001

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat  
Universitas Jenderal Soedirman



Prof. Ir. Totok Agung D.H., M.P., Ph.D  
NIP. 19630923 198803 1 001

Ketua Panitia



Dr. Rifda Naufalin, S.P., M.Si  
NIP. 19701121 199512 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN  
FAKULTAS BIOLOGI

Alamat : Jl. Dr. Soeparno 63 ☎ (0281) 638794 Faks. (0281) 631700 Grendeg Purwokerto 53122  
Email : [biologi@unsoed.ac.id](mailto:biologi@unsoed.ac.id) | Website : <http://bio.unsoed.ac.id>

//

**SURAT TUGAS**

Nomor : 2962a/H23.4.FB/DL.07.01/2011

Dekan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto menugaskan kepada Saudara yang namanya tercantum dalam lampiran Surat Tugas ini.

Untuk menjadi peserta / pemakalah dalam rangka Seminar Nasional Pengembangan Sumberdaya Pedesaan dan Kearifan Local Berkelanjutan yang diselenggarakan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Unsoed. Adapun pelaksanaannya pada :

Hari/Tanggal : Rabu – Kamis, 23 – 24 Nopember 2011  
Waktu : Pukul 08.00 WIB – selesai  
Tempat : LPPM Unsoed Purwokerto

Demikian surat tugas ini dibuat untuk dilaksanakan sebaik-baiknya dengan penuh tanggung jawab.

Purwokerto, 22 November 2011



Dekan

Dra. Purnomowati, SU

NIP 19531021 198103 2 001

Lampiran Surat tugas

Nomor : 2962a/H23.4.FB/DL.07.01/2011

Tanggal : 22 November 2011

No	Nama	NIP	Pangkat / Golongan	Ket.
1	Dra. Purnomowati, S.U.	19531021 198103 2 001	Pemb. Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
2	Prof. Drs. Agus Irianto, M.Sc., Ph.D.	19620407 198901 1 001	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
3	Dra. Harsini, M.P.	19470806 197501 2 001	Pemb. Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
4	Drs. Lestanto Unggul W, M.S.	19500707 197903 1 003	Pemb. Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
5	Dra. Sulistyani, M.Si.	19520120 198103 2 001	Pemb. Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
6	Dr. Ir. Hery Winarsi, M.S.	19570301 198503 2 001	Pembina Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
7	Drs. Edy Yani, M.S.	19581130 198403 1 001	Pembina Utama Muda (IV/c)	Pemakalah
8	Dr. Hj. Endang Widayastuti, M.S.	19511020 197603 2 001	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
9	Dr.rer.nat. Imam Widhiono MZ., M.S.	19590420 198503 1 002	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
10	Drs. H. A. Ilalqisny Insan, M.S.	19551214 198503 1 001	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
11	Dra. Erie Kolya Nasution, M.Si.	19591022 198603 2 001	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
12	Drs. Agus Hery Susanto, M.S.	19590814 198603 1 004	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
13	Drs. Untung Susilo, M.S.	19601231 198601 1 001	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
14	Drs. Priyo Susatyo, M.Si.	19610605 198703 1 004	Pembina Tk. I (IV/b)	Pemakalah
15	Drs. Carmudi, M.Si.	19540620 198403 1 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
16	Drs. Lucky Prayoga, M.P.	19570221 198203 1 003	Pembina (IV/a)	Pemakalah
17	Drs. Kusbiyanto, M.Si.	19560607 198403 1 004	Pembina (IV/a)	Pemakalah
18	Drs. Slamet Priyanto, M.S.	19521106 198211 1 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
19	Drs. Oedjijono, M.Sc.	19590617 198603 1 002	Pembina (IV/a)	Pemakalah
20	Dra. Hj. Christiani, M.Si	19530729 198703 2 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
21	Drs. Tata Brata Suparjana, M.Si.	19611119 198703 1 002	Pembina (IV/a)	Pemakalah
22	Drs. Hery Pratiknyo, M.Si.	19620914 198703 1 002	Pembina (IV/a)	Pemakalah
23	Dra. Dini Ryandini, M.Si.	19601205 198603 2 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
24	Dra. Murni Dwiati, M.Si.	19601231 198901 2 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
25	Dra. Dyah Fitri Kusharyati, M.P.	19650212 198903 2 002	Pembina (IV/a)	Pemakalah
26	Drs. Iman Budisantosa, M.P.	19620423 198703 1 004	Pembina (IV/a)	Pemakalah
27	Dra. Dwi Sunu Widyartini, M.Si.	19640523 198903 2 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
28	Drs. Aris Mumpuni, M.Phil	19640329 198803 1 002	Pembina (IV/a)	Pemakalah
29	Dra. P. Maria Hendrati, M.Si.	19540513 198703 2 001	Pembina (IV/a)	Pemakalah
30	Dra. Trisnowati BA, M.Si.	19660621 199103 2 003	Pembina (IV/a)	Pemakalah
31	Dr.rer.nat. W. Lestari, M.Sc.	19610217 198803 2 001	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
32	Dr.rer.nat. Moh. Husein Sastranegara, M.Si.	19630307 198703 1 002	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
33	Drs. Eddy Tri Suciarto, M.P.	19560115 198503 1 002	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
34	Drs. Juwarno, M.P.	19610704 198703 1 001	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
35	Dra. Siti Samiyarsih, M.Si.	19620515 198803 2 002	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
36	Dra. Diana Retna Utarini SR, M.P.	19640601 199003 2 002	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
37	Dr. Eming Sudiana, M.Si.	19621110 198703 1 005	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
38	Dra. Nuning Setyaningrum, M.Si.	19670901 199401 2 001	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
39	Dra. Sri Sukmaningrum, M.Si.	19660620 199103 2 003	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
40	Dra. Kamsinah, M.P.	19570510 198703 2 001	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
41	Dra. Siti Rukayah, M.Si.	19640805 198903 2 001	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
42	Drs. Darsono, M.Si.	19570719 198601 1 002	Penata Tk. I (III/d)	Pemakalah
43	Dra. Elly Tuti Winarni, M.Si.	19600530 198703 2 007	Penata (III/c)	Pemakalah
44	Drs. Sarwanto, M.Si.	19590910 198703 1 002	Penata (III/c)	Pemakalah
45	Drs. Sugiharto, M.Si.	19600303 198703 1 004	Penata (III/c)	Pemakalah
46	Dra. Muachiroh Abbas, M.Si.	19571006 198601 2 001	Penata (III/c)	Pemakalah
47	Drs. Uki Dwiputranto, Grad., Dip., Sc., M.Sc.	19560128 198603 1 002	Penata (III/c)	Pemakalah
48	Dr. Nurtjahjo DS., MA.pp.Sc.	19630905 198703 1 002	Penata (III/c)	Pemakalah
49	Dra. Anastasia Endang Pulungsari, M.Si.	19630824 199103 2 001	Penata (III/c)	Pemakalah
50	Juni Safitri Muljowati, S.Si., M.P.	19710603 199702 2 001	Penata Muda Tk. I (III/b)	Pemakalah
51	Drs. Adi Amurwanto, M.Sc.	19660209 199103 1 001	Penata Muda Tk. I (III/b)	Pemakalah
52	Ratna Stia Dewi, S.Si., M.Sc.	19800905 200501 2 001	Penata Muda Tk. I (III/b)	Pemakalah
53	Saefuddin Aziz, S.Si., M.Si.	19771012 200501 1 002	Penata Muda Tk. I (III/b)	Pemakalah
54	Sri Lestari, S.Si., M.Si.	19790114 200501 2 001	Penata Muda (III/a)	Pemakalah

Purwokerto, 22 November 2011

Dra. Purnomowati, SU  
NIP 19531021 198103 2 001

# PENGGUNAAN 2,4-D TERHADAP PERKEMBANGAN HYPOKOTIL KEDELAI VARIETAS SLAMET YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN VITRO* UNTUK MENDAPATKAN TANAMAN TAHAN KERING

Oleh : Drs. Iman Budisantoso., MP dan Drs. Lucky Prayoga., MP



## RINGKASAN

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah mengetahui pengaruh 2,4-D terhadap pertumbuhan dan perkembangan hipokotil dan kotiledon kedelai varietas Slamet dalam kultur *in vitro*. Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan yang diberikan adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 4 macam konsentrasi yaitu 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L dan 60 mg/L, masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Parameter yang diamati perkembangan eksplant meliputi : prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embriogenesis dan jenis kalus yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplant hipokotil maupun kotiledon kedelai varietas Slamet yang ditumbuhkan dalam media MS dengan perlakuan 2,4-D 20 s/d 60 mg/L tidak menghasilkan kalus maupun tanaman melalui proses embriogenesis, eksplant berwarna coklat dan mati, sehingga tidak dapat dilakukan analisis data. Setelah perlakuan konsentrasi hormon diubah menjadi 0; 5; 10 dan 15 mg/L, kalus tumbuh pada eksplant hipokotil dengan perlakuan 2,4-D 5 mg/L, sedangkan eksplant kotiledon kalus tumbuh pada media tanpa hormon 2,4-D (kontrol).

**Kata kunci** : kedelai varietas Slamet, 2,4-D, kultur *in vitro*, hipokotil, kotiledon.

## SUMMARY

Objectives to be achieved in this study is to know the effect of 2,4-D on the growth and development of cotyledons and hypocotyl Slamet soybean variety *in vitro* cultured. The research carried out experiments with the experimental design Completely Randomized Design (CRD), the treatment given is the concentration of 2,4-D which consists of four kinds ie: 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L and 60 mg/L, each treatment was repeated 4 times. Parameters observed include: the percentage of callus formation, growth through the process of embryogenesis and type of callus formed. The results showed that the soybean cotyledon and hypocotyl of Slamet soybean varieties grown in MS medium with 2,4-D treatment of 20 until 60 mg/L did not produce callus and plants through the process embryogenesis, explant brown and die, so it can not be done data analysis. After concentration of the hormone treatment was changed to 0, 5, 10 and 15 mg/L, callus grown on explant hypocotyl with 2,4-D treatment of 5 mg/L, while explant cotyledon callus grown on media without hormones 2,4-D (control).

**Keywords**: Slamet soybean variety, 2,4-D, *in vitro* cultured, hypocotyl, and cotyledon

## PENDAHULUAN

Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang tahan terhadap penyakit karat, mempunyai produktifitas cukup tinggi 2,6 ton/Ha yang dilepas pada tahun 1995 (Sunarto, 1997). Hasil penelitian **Budisantoso (1999)**, menunjukkan bahwa varietas Slamet tahan terhadap kekeringan, pertumbuhan dan hasil tanaman akan menurun pada kadar air tanah 50% dari kapasitas lapang.

Dengan meningkatnya kebutuhan kedelai setiap tahun, sedangkan produktivitas kedelai masih rendah, maka ketergantungan import kedelai sangat tinggi. Import kedelai pada tahun 1990 sebesar 500.000 ton dengan nilai sebesar US\$ 128 juta, nilai tersebut meningkat tajam pada tahun 2000 mencapai US\$ 300 juta, selanjutnya pada tahun 2005 telah mencapai US\$ 358 juta atau setara dengan Rp. 3,58 triliun. Keadaan tersebut diperparah dengan menyusutnya lahan pertanian, pada tahun 2003 lahan yang ditanami kedelai hanya mencapai 0,53 juta Ha, sehingga kebutuhan kedelai hanya dicapai 35% dari produksi dalam negeri (Simatupang, 2005). Kenyataan ini dapat 'menguras' devisa negara, sehingga perlu upaya-upaya penelitian guna meningkatkan produktivitas kedelai lokal.

Kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas lebih tinggi dari tetuanya dan tahan terhadap kekeringan (**Budisantoso** dan Hartiko, 2001). Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang dilepaskan pada masyarakat pada tahun 1995, merupakan kedelai yang tahan pada tanah masam, tahan pada kondisi kering, dengan rata-rata berat 100 biji adalah 12,5 g atau mempunyai produktivitas 2,26 ton/Ha dengan kandungan protein biji 34%, sementara tetuanya Varietas Wilis berat 100 biji adalah 10 g, produktivitas 1,6 ton/Ha dan kandungan protein biji 37% sedangkan varietas Dempo berat 100 biji adalah 12 g, produktivitas 1,5 ton/Ha. Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas yang cukup tinggi. Selanjutnya, apabila dibandingkan varietas lainnya, varietas slamet menunjukkan produktivitas yang tinggi pula, namun akhir-akhir ini ukuran biji varietas Slamet telah menurun, karena diduga mengalami segregasi genetik, hal ini ditunjukkan dari hasil pengamatan awal berat 100 biji yang dipanen pada bulan Oktober 2008 adalah 7,58 g.

Upaya peningkatan produktivitas varietas slamet telah banyak dilakukan diantaranya dengan menggunakan teknologi sonik bloom yaitu menggunakan suara berfrekuensi tinggi yang dibarengi dengan pemberian hara tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknologi sonik bloom dapat meningkatkan berat kering tanaman dan berat biji/tanaman (**Budisantoso** dan Proklamasingsih, 2003). Upaya lain untuk meningkatkan produktivitas adalah dengan perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,25-0,75 %, yang direndaman selama 6-24 jam. Biji yang telah mendapat perlakuan kolkisin ditanam dalam media tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin mampu mengubah penampilan pertumbuhan awal (kecambah), selanjutnya pada pengamatan secara mikroskopis inti sel pada waktu pembelahan mitosis tampak membesar, jumlah kromosom tidak dapat dilakukan karena ukuran kromosom pada kedelai sangat kecil. Namun demikian, diduga tanaman kedelai telah mengalami mutasi menjadi poliploid. Pada umur 20 hst (hari setelah tanam)

tanaman mati karena bulu-bulu akar tidak tumbuh sehingga tanaman tidak mampu menyerap hara (Budisantoso dan Kamsinah, 2009). Adanya kenyataan tersebut di atas maka perlu upaya penelitian lainnya, guna menghasilkan tanaman kedelai yang lebih unggul. Dalam penelitian ini hipokotil dan kotiledon kedelai varietas slamet ditumbuhkan dalam media MS yang diberi 2,4-D untuk memacu pertumbuhan kalus. Selanjutnya kalus yang dihasilkan dapat ditumbuhkan menjadi tanaman utuh untuk memperbanyak tanaman atau kalus dapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya.

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mendapatkan kalus kedelai var. Slamet yang bersifat embrionik yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut seperti perlakuan kalus dengan bahan yang bersifat mutagen sehingga akan dihasilkan tanaman mutasi yang akan memperbaiki sifat genetik tanaman, maupun perlakuan bahan kimia lainnya yang akan menghasilkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan maupun garam. Selain itu dapat pula digunakan untuk memperbanyak tanaman melalui teknik kultur *in vitro*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan/materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kedelai varietas Slamet yang diperoleh dari Laboratorium Pemuliaan Fak. Pertanian Unsoed. Biji kedelai dikecambahkan dalam kondisi steril. Bahan lainnya adalah alkohol 96% dan 70%, aquadestilata, HCL 1N, NaOH 1N, media dasar Murashige & Skoog (MS). Sedangkan alat yang digunakan antara lain *autoclave*, *aluminium foil*, *beaker glass*, *erlenmeyer*, *hand sprayer*, *Laminar Air Flow Cabinet (LAF)*, *hot plate magnetic stirrer*, *micropipette*, cawan petri, botol kultur, gelas ukur, karet gelang, lampu TL, pH meter, pinset, skalpel, rak, oven, plastik wrap dan neraca analitik.

### **Rancangan percobaan**

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan yang diberikan adalah konsentrasi 2,4-D untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan hipokotil dan kotiledon kedelai var slamet. Konsentrasi 2,4-D yang diberikan terdiri dari 4 macam konsentrasi yaitu 0 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L dan 60 mg/L, masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah perkembangan eksplant yang ditumbuhkan dalam media MS, prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embriogenesis dan jenis kalus yang terbentuk.

## Cara Kerja Penelitian Persiapan Media

Media kultur yang digunakan yaitu media Murashige & Skoog (MS) dengan membuat larutan stok terlebih dahulu.

### a. Pembuatan Larutan Stok Media

Larutan stok media MS yang dibuat yaitu larutan stok hara makro (10x) 100 ml per 1 liter larutan, stok hara mikro (100x) 10 ml per 100 ml larutan, larutan iodine (100x) 10 ml per 100 ml larutan, larutan FeEDTA (1000x) dan vitamin (1000x), untuk membuat 1000 ml larutan stok media MS diperlukan larutan stok hara makro 100 ml, 1 ml hara mikro, 1 ml iodine, dan vitamin 0,25 ml.

### b. Pembuatan Media Kultur dan Sterilisasi

#### 1) Media MS (Murashige & Skoog).

Media MS yang digunakan untuk setiap perlakuan sebanyak 200 ml. Kedalam 50 ml aquades, ditambahkan 100 ml larutan stok hara makro, 0,8 ml larutan stok hara mikro, 1 ml larutan stok iodine, 1 ml larutan stok vitamin, 0,25 ml larutan stok EDTA, 1 ml larutan stok besi, 80 mg mioinositol, 6 g sukrosa. Atur pH hingga mencapai 5,85 dengan penambahan NaOH 1 N atau HCL 1 N. Tambahkan 7 g/l agar dan aquades hingga mencapai volume 200 ml.

#### 2.) Sterilisasi

##### a. Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dengan detergen sampai bersih kemudian dikeringkan. Peralatan seperti scalpel, cawan petri berisi kertas saring dan pinset dibungkus dengan kertas, sedangkan erlenmeyer dan botol kultur ditutup dengan aluminium foil, selanjutnya sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 0,15 Mpa selama 30 menit. Untuk alat-alat seperti pinset dan scalpel, sterilisasi dilakukan kembali pada saat akan digunakan dalam *laminar air flow cabinet* dengan cara membakar ujung pinset dan scalpel yang telah dicelupkan dalam alkohol 96% di atas api bunsen.

##### b. Sterilisasi Media

Masing-masing botol kultur yang berisi media perlakuan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekan 0,15 Mpa selama 20 menit.

##### c. Sterilisasi *Laminar Air Flow*

Sebelum digunakan LAF disterilisasi terlebih dahulu dengan lampu ultra violet (UV) selama 30 menit. Selanjutnya, *laminar air flow* disemprot dan dilap dengan

menggunakan alcohol 96%. Semua alat dan bahan yang akan digunakan kecuali eksplan disemprotkan dengan alcohol 96% kemudian dimasukkan dalam *laminar air flow*.

### **Penanaman Eksplan**

Penanaman dilakukan dalam ruang isolasi, penanaman dengan menggunakan *Laminar Air Flow Cabinet*. Bahan tanam berupa biji kedelai var Slamet dilakukan sterilisasi dengan alkhohol 70% selama 3 menit, cuci dengan menggunakan aquadet steril sebanyak 3 kali. Sterilisasi dilakukan kembali dengan menggunakan HgCl 2% selama 5 menit dan dicuci kembali dengan aquadet steril sebanyak 3 kali. Biji yang telah steril dikecambahkan dalam erlenmeyer steril dan ditambah aquades steril. Setelah 3 hari hipokotil dan kotiledon ditanam dalam media sesuai dengan perlakuan dalam petridisk terpisah.

### **Pemeliharaan kultur**

Hipokotil yang telah ditanam disimpan ditempatkan dalam ruangan inkubasi dalam kondisi gelap, untuk memacu perkembangan eksplan. Apabila telah terbentuk kalus/tanaman botol tanam dikeluarkan dari ruang gelap dan diberi penyinaran dengan intensitas cahaya yang didapat dari lampu neon sebesar 600 - 1000 lux yang dinyalakan secara kontinyu. Apabila terjadi kontaminasi maka segera ditanam kembali sesuai dengan perlakuannya.

### **Pengamatan, pengambilan dan analisis data**

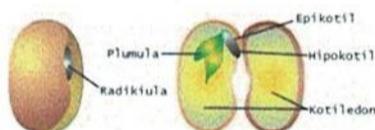
Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah perkembangan eksplant yang ditumbuhkan dalam media MS, prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embriogenesis dan jenis kalus yang terbentuk. Pengamatan tersebut dilakukan setiap hari. Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji F dengan taraf kepercayaan 95% dan 99%, yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan. Apabila menunjukkan bedanya nyata, dilanjutkan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sebanyak 48 eksplant yang berupa biji yang telah dikecambahkan diambil hipokotil dan kotiledon (Gambar 1) dan ditanam dalam media MS dengan perlakuan masing-masing 0; 20; 40 dan 60 mg/L (sesuai dengan perlakuan dalam proposal yang diajukan). Tiap perlakuan dalam petridisk ditanam 4 buah eksplant. Setelah 3 hari ternyata banyak ( $\pm 25\%$ ) terjadi kontaminasi, selanjutnya setelah 7 hari sebagian besar media ( $> 90\%$ ) terjadi kontaminasi, sehingga dilakukan penanaman kembali. Kontaminasi disebabkan desinfektan (alkohol 70%) yang digunakan. Alkohol 70% yang digunakan dibeli dari apotik sehingga diragukan kadar

alkohol yang ada. Setelah alkohol diganti dengan alkohol 96% yang dibeli dari toko bahan kimia ternyata kontaminasi dapat dihindari ( $\pm$  1-2%). Untuk sterilisasi eksplant tetap menggunakan alkohol 70% dengan cara mengencerkkan dari alkohol 96%.

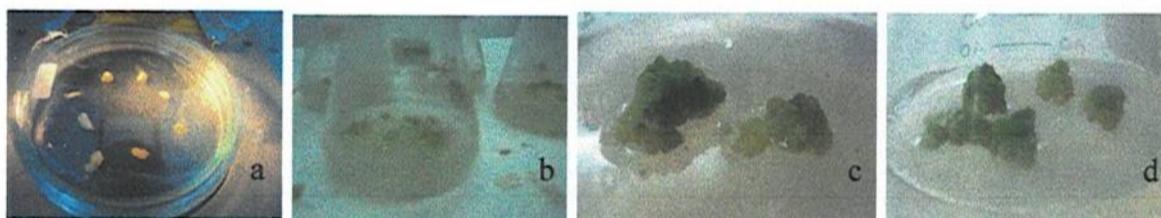
Penanaman kedua dilakukan dengan metode yang sama seperti penanaman sebelumnya. Masing-masing bagian dari eksplant (hipokotil dan kotiledon) ditanam dalam media MS secara terpisah sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Setelah dilakukan pengamatan ternyata kotiledon dan hipokotil tumbuh kalus. Kalus tumbuh pada eksplant kotiledon dengan media tanpa perlakuan 2,4-D (kontrol), sedangkan pada perlakuan 2,4-D (20; 40 dan 60 ppm) setelah 10 hari eksplant berwarna coklat dan mati. Pada semua eksplant hipokotil berwarna coklat dan mati. Hasil ini ternyata berbeda dengan penelitian Widoretno *et al.* (2003) bahwa pemberian 2,4-D hingga konsentrasi 40 ppm terbentuk kalus dan tunas melalui proses embriogenesis. Hal ini disebabkan pengaruh hormon berbeda-beda bergantung pada jenis tanaman, jaringan, organ maupun konsentrasi hormon yang diberikan (Wareing dan Phillips, 1981).



Sumber : Anonim (2011)

Gambar 1. Kotiledon dan hipokotil yang digunakan sebagai eksplant.

Berdasarkan kenyataan tersebut di atas maka dilakukan penanaman kembali dengan menurunkan konsentrasi perlakuan yang terkecil menjadi 0; 5; 10 dan 15 mg/L 2,4-D. Dari hasil pengamatan ternyata pada eksplant kotiledon dapat tumbuh kalus tetap pada perlakuan 0 ppm (kontrol), sedangkan eksplant hipokotil tumbuh kalus pada perlakuan 2,4-D 5 mg/L (Gambar 2).

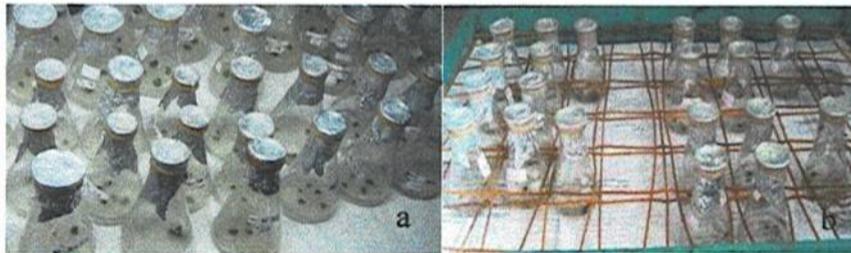


Gambar 2. Kalus yang tumbuh dari eksplant hipokotil dan kotiledon a. Kalus hipokotil b. Subkultur kalus hipokotil. c. Kalus kotiledon. d. Subkultur kalus kotiledon.

Pada perlakuan 2,4-D 10 dan 15 mg/L dengan eksplant kotiledon maupun hipokotil tidak tumbuh kalus. Hal ini diduga konsentrasi yang diberikan terlalu tinggi yang akan menghambat perkembangan kalus. Selanjutnya, apabila dilihat dari sifatnya kalus yang

berasal dari hipokotil dan kotiledon sangat berbeda, kalus kotiledon sangat kompak, apabila dipotong-potong tampak keras, setelah diberi sinar lampu akan berwarna hijau, sedangkan kalus hipokotil bersifat embrionik dan remah, apabila diambil menggunakan piset akan terurai menjadi potongan kalus kecil-kecil, setelah diberi sinar lampu tidak berwarna hijau tetapi tetap bersifat embrionik dan remah (Gambar 2b dan 2d).

Pertumbuhan eksplant dalam kultur *in vitro* dapat menghasilkan kalus, tunas maupun tanaman melalui proses embriogenesis. Embriogenesis merupakan suatu proses dimana sel somatik dapat berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan embrio yang spesifik. Secara spesifik tahapan perkembangan tersebut dimulai dari fase globler, fase hati, fase terpedo dan plantlet (Gai, 2001). Ragapadmi (2002) mengatakan bahwa dari berbagai penelitian, 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk menginduksi kalus maupun tanaman melalui proses embriogenesis. Zat pengatur tumbuh tersebut merupakan auksin sintetik yang cukup kuat dan tahan terhadap degradasi karena reaksi enzimatik dan fotooksidasi. Bhojwani dan Razdan (1983) menambahkan bahwa disamping auksin, sering pula ditambahkan kinetin secara bersamaan. Berdasarkan teori tersebut, kalus yang telah diperoleh dari penelitian ini, diperlakukan dalam media MS dengan penambahan 2,4-D 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L dalam media padat maupun cair (Gambar 3) namun tidak menghasilkan tunas maupun tanaman melalui embriogenesis. Hal ini diduga pengaruh hormon untuk proses embriogenesis pada kedelai varietas Slamet berbeda dengan kedelai lainnya.



Gambar 3. Pertumbuhan kalus dalam media padat (a) dan media cair (b) dengan perlakuan 2,4-D 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L dan digojok.

Implikasi yang diperoleh dalam penelitian ini adalah diperoleh kalus yang embrionik yang berasal dari hipokotil dan kotiledon yang akan digunakan dalam penelitian-penelitian selanjutnya.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kultur *in vitro* hipokotil maupun kotiledon kedelai varietas Slamet dalam media MS dengan perlakuan 2,4-D 20 s/d 60 mg/L

tidak menghasilkan kalus maupun tunas melalui proses embrogenesis. Namun kalus tumbuh pada eksplant hipokotil dengan perlakuan 2,4-D 5 mg/L, sedangkan eksplant kotiledon kalus tumbuh pada media tanpa hormon 2,4-D (kontrol).

### Saran

Guna memperoleh tunas melalui proses embriogenesis maka perlu dilakukan penelitian kembali dengan menurunkan konsentrasi 2,4-D lebih kecil dari 5 mg/L. Perlu penelitian-penelitian lanjutan dari kalus kotiledon maupun hipokotil kedelai varietas Slamet, untuk memperoleh kedelai yang lebih unggul terhadap lingkungan tertentu.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice* Elsevier. Amsterdam. Oxford. New York. Tokyo.
- Budisantoso I.** 1999. Pengaruh Lengan tanah dan pemupukan N terhadap aktivitas nitrat reduktase, retensi polong dan hasil kedelai (*Glycine max* (L) Merr). Tesis. Pascasarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Budisantoso I dan Kamsinah.** 2009. Pengaruh Kolkisin terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai. Laporan hasil penelitian. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Diana Sofia H. 2007. Pengaruh Konsentrasi dan lama waktu pemberian kolkisin terhadap pertumbuhan dan poliploid pada biji muda kedelai yang dikultur secara *in vitro*. Laporan penelitian. Universitas Sumatra Utara.
- Gai., M.D. 2001. Direct Somatic Embryo genesis as a rapid and efficient system for *in vitro* regeneration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Organ Culture* 64:39-46.
- Ragapadmi Purnamaningsih. 2002. Regenerasi Tanaman melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang mengendalikannya. *Buletin Agrobio* 5(2):51-58.
- Ross C.W., and D.L. Rayle. 1982. Evaluation of H secretion Relative to zeatin-induced growth of detached cucumber cotyledons. *Plant Physiol* 70: 1470-1474.
- Simatupang P., Narwoto dan K.S Swastika. 2005. Makalah Lokakarya : Pengembangan Kedelai dan Kebijakan Penelitian di Indonesia. [http://pse.litbang.deptan.go.id/ind/pdffiles/Anjak\\_2005\\_IV\\_10.pdf](http://pse.litbang.deptan.go.id/ind/pdffiles/Anjak_2005_IV_10.pdf). tanggal diakses 11 April 2010.
- Sunarto. 1997. Kedelai Varietas Slamet dan Sindoro. Fakultas Pertanian. Unsoed. Purwokerto.
- Wareing. P.F., and Phillips, I.D.J. 1981. *Growth and Differentiation an Plant* (3nd edition). Pergamon Press. Oxford.
- Widoretno Wahyu, Estri Laras A dan Sudarsono. 2003. Metode Induksi Pembentukan Embrio Somatik dari Kotiledon dan Regenerasi Planlet Secara *In Vitro*. *Hayati* 10 (1) : 19-24.