



**ANALISA DAYA REGENERASI KALUS PADI (*Oryza sativa L.*) MENTIK
WANGI, MENTIK WANGI SUSU, DAN TARABAS PADA BEBERAPA
KOMBINASI KINETIN DAN BAP**

SKRIPSI

Oleh:

**ELVA SAFIRA MARDISKA HAKIM
NIM 161510501112**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021**



**ANALISA DAYA REGENERASI KALUS PADI (*Oryza sativa L.*) MENTIK
WANGI, MENTIK WANGI SUSU, DAN TARABAS PADA BEBERAPA
KOMBINASI KINETIN DAN BAP**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

ELVA SAFIRA MARDISKA HAKIM
NIM 161510501112

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021**

PERSEMBAHAN

Dengan Puji Syukur atas Kehadirat Allah SWT, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Kedua orang tua saya ayahanda tercinta Bapak Lukmanul Hakim dan Ibunda tercinta Vera Mariaty Rastriastuti Phefferkorn.
2. Adik saya yaitu Neisyra Aurelia Hakim yang telah memberikan dukungan dan doa dalam menyelesaikan Tugas Akhir.
3. Dosen pembimbing skripsi Bapak Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D dengan sabar memberikan bimbingan dan ilmunya selama proses penyusunan Tugas Akhir.
4. Segenap dosen, pegawai dan karyawan Fakultas Pertanian Universitas Jember, khususnya di Program Studi Agroteknologi yang telah memberikan ilmu, pengalaman dan fasilitas selama saya menempuh pendidikan S1.
5. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al-Baqarah : 286)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Elva Safira Mardiska Hakim

NIM : 161510501112

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi berjudul "**Analisa Daya Regenerasi Kalus Padi (*Oryza sativa L.*) Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas Pada Beberapa Kombinasi Kinetin dan BAP**" adalah benar-benar hasil karya penulis sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya tulis plagiasi. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 4 Januari 2021

Yang menyatakan

Elva Safira Mardiska Hakim

NIM. 161510501112

SKRIPSI

**ANALISA DAYA REGENERASI KALUS PADI (*Oryza sativa L.*) MENTIK
WANGI, MENTIK WANGI SUSU, DAN TARABAS PADA BEBERAPA
KOMBINASI KINETIN DAN BAP**

Oleh :

Elva Safira Mardiska Hakim

NIM. 161510501012

Pembimbing :

Pembimbing Skripsi :

Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D

NIP. 198102042015041001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Analisa Daya Regenerasi Kalus Padi (*Oryza sativa L.*) Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas Pada Beberapa Kombinasi Kinetin dan BAP**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 12 Januari 2021

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D

NIP. 198102042015041001

Dosen Penguji Utama,

Dr. Ir. Miswar, M.Si

NIP. 196410191990021002

Dosen Penguji Anggota,

Dr. Ir. Slameto, MP

NIP. 196002231987021001

Mengesahkan,

Dekan

Prof. Dr. Ir. Soetrisno, M.P.

NIP. 196403041989021001

RINGKASAN

Analisa Daya Regenerasi Kalus Padi (*Oryza sativa L.*) Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas Pada Beberapa Kombinasi Kinetin dan BAP, Elva Safira Mardiska Hakim; 161510501112; 2021; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Bioteknologi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas tanaman padi karena dapat menciptakan varietas baru dengan sifat-sifat yang lebih unggul, salah satunya menggunakan metode kultur jaringan. Varietas padi yang digunakan untuk penelitian ini yaitu Tarabas, Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu. Modifikasi melalui kultur jaringan perlu dilakukan dengan perlakuan zat pengatur tumbuh untuk memperoleh kondisi optimal dengan menggunakan kombinasi Kinetin dan BAP. Perlakuan kombinasi ZPT yang digunakan yaitu Kinetin 2 ppm dan BAP 0 ppm, Kinetin 0 ppm dan BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm dan BAP 1 ppm, Kinetin 1 ppm dan BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm dan BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm dan BAP 2 ppm. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui respon daya regenerasi kalus padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa kombinasi kinetin dan BAP. Manfaat dari penelitian ini yaitu memberi informasi tentang kombinasi Kinetin dan BAP yang optimum untuk proses regenerasi kalus menjadi tunas pada padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa kombinasi Kinetin dan BAP. Metode penelitian yang digunakan yaitu uji-F lalu uji lanjut DMRT (Uji Jarak Berganda Duncan) dengan taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa padi Tarabas memiliki daya regenerasi terbaik dibandingkan padi Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu. Konsentrasi kombinasi ZPT terbaik yaitu 2 ppm Kinetin dan 1 ppm BAP untuk meregenerasi kalus padi Tarabas dan Mentik Wangi Susu.

Kata kunci: Kalus, Regenerasi, Kinetin, BAP.

SUMMARY

Analysis of Callus Regeneration of Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu and Tarabas Rice (*Oryza sativa L.*) on Several Combination of Kinetin and BAP.

Elva Safira Mardiska Hakim; 161510501112; 2021. Agrotechnology Study Program; Faculty of Agriculture; Universitas Jember.

Biotechnology is a way to increase the productivity of rice plants because it can create new varieties with superior characteristics, one of which is by using the tissue culture method. The types of rice used for this study were Tarabas, Mentik Wangi, and Mentik Wangi Susu. Modification through tissue culture needs to be done by treating growth regulators to obtain optimal conditions using a combination of kinetin and BAP. The combination treatment of growth regulators used were Kinetin 2 ppm and BAP 0 ppm, Kinetin 0 ppm and BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm and BAP 1 ppm, Kinetin 1 ppm and BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm and BAP 2 ppm, Kinetin 2 ppm and BAP 2 ppm. This research was conducted with the aim to determine the response of callus regeneration power of Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, and Tarabas varieties to several combinations of Kinetin and BAP. The benefit of this research is to provide information about callus regeneration power of Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, and Tarabas varieties in several combinations of Kinetin and BAP. The research method used was the F-test then the DMRT (Duncan's Multiple Range Test) continued test with a level of 5%. The results showed that Tarabas rice had the best regeneration power compared to Mentik Wangi and Mentik Wangi Susu. The best concentration of combination of growth regulating substances is 2ppm Kinetin and 1 ppm BAP to regenerate callus of Tarabas and Mentik Wangi rice.

Key words: Callus, Kinetin, BAP.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisa Daya Regenerasi Kalus Padi (*Oryza sativa L.*) Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas Pada Beberapa Kombinasi Kinetin dan BAP”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya tercinta Bapak Lukmanul Hakim dan Ibu Vera Mariaty Rastriastuti Phefferkorn serta Adik Neisya Aurelia Hakim yang telah memberikan doa, semangat, motivasi serta dukungan hingga terselesaiannya skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Soetriono, MP. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Bapak Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC, selaku Koordinator Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Bapak Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah membimbing dan telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam menyelesaikan skripsi
5. Dr. Ir. Miswar, M.Si. selaku Dosen Pengaji I dan Dr. Ir. Slameto, MP. selaku Dosen Pengaji II yang telah membimbing dan memberikan saran yang membangun selama penyelesaian skripsi ini.
6. Dr. Ir. Slameto, MP. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan.
7. Partner terbaik, Muhammad Elvinsyah Zidane yang selalu memberikan semangat dan doa selama penyusunan skripsi ini.
8. Sahabat saya para Srikandi, Fahira Ramadhanty Azhari, Maghfirotus Sibyan, dan Siti Mulazimatul Khoiriah yang selalu menguatkan satu sama lain.

9. Sahabat saya Vira, Wiwik , Haekal, Nuril dan Fahmi yang selalu menghibur dan selalu ada dikala susah.
10. Sahabat saya Mutiara, Shafly dan Asyari yang selalu menemani dan membantu saya mengerjakan Skripsi.
11. Teman-teman KKN, Tika, Debby, Yana, Putri, Tetri, Lintang, Brian, Yudha, Abi yang senantiasa menemani selama 45 hari KKN.
12. Kakak-kakak dan Teman-teman di CDAST, terutama Mbak Shafira, Mbak Dynda, Mbak Christine, Dalliyah, dan Velia yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian.
13. Teman-teman angkatan 2016 yang bersama-sama berjuang dari awal masuk kuliah.
14. Seluruh keluarga besar Chorus Rusticarum yang menjadi tempat saya berproses.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 4 Januari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ANALISA DAYA REGENERASI KALUS PADI (<i>Oryza sativa L.</i>) MENTIK WANGI, MENTIK WANGI SUSU, DAN TARABAS PADA BEBERAPA KOMBINASI KINETIN DAN BAP	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
SKRIPSI.....	v
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Padi	4
2.2 Zat Pengatur Tumbuh Pada Kultur Jaringan Padi.....	5
2.3 Pembentukan Kalus dan Regenerasi	7
2.4 Hipotesis	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10

3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Persiapan Penelitian	10
3.2.1 Bahan	10
3.2.2 Alat.....	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian	10
3.3.1 Rancangan Percobaan	10
3.3.2 Prosedur Penelitian	11
3.3.3 Variabel Pengamatan	14
3.4 Analisa Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Hasil.....	16
4.1.1 Hasil Analisis Ragam.....	16
4.1.3 Daya Pembentukan Kalus	18
4.1.4 Daya Pembentukan Spot Hijau	18
4.1.5 Daya Regenerasi Kalus	22
4.2 Pembahasan	27
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur kimia BAP	6
Gambar 2.2 Struktur kimia Kinetin.....	7
Gambar 2.3 Perbedaan kalus embriogenik dan non-embriogenik (a) kalus embriogenik (b) kalus non-embriogenik.....	8
Gambar 4.1 Hasil Induksi Kalus Varietas Mentik Mentik Wangi, Wangi Wangi Susu, dan Tarabas pada umur 15 HST.....	17
Gambar 4.2 Kenampakan kalus Padi Varietas Mentik Wangi, Mentik wangи Susu dan Tarabas yang Diinduksi dengan 2,4-D 2 ppm.....	18
Gambar 4.3 Persentase pembentukan kalus selama 15 hari.....	18
Gambar 4.4 Pengaruh jenis varietas terhadap pembentukan spot hijau pada minggu ke-1, minggu ke-2, dan ke-3. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.	19
Gambar 4. 5 Skoring pembentukan spot hijau kalus pada minggu ke-1.....	20
Gambar 4. 6 Skoring pembentukan spot hijau kalus pada minggu ke-2.....	20
Gambar 4. 7 Skoring pembentukan spot hijau kalus pada minggu ke-3.....	21
Gambar 4. 8 Pengaruh jenis varietas terhadap regenerasi kalus pada minggu ke-4,. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.	22
Gambar 4. 9 Pengaruh jenis varietas terhadap regenerasi kalus pada minggu ke-5. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.	23
Gambar 4. 10 Pengaruh perlakuan ZPT terhadap regenerasi kalus pada minggu ke- 5. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.	23
Gambar 4. 11 Kenampakan regenerasi kalus pada minggu ke-6.	25
Gambar 4. 12 Kenampakan pembentukan spot hijau dan regenerasi kalus setiap minggu setelah subkultur.	26

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan yang diperoleh yaitu sebagai berikut.....	11
Tabel 4.1 Nilai F-hitung Analisis Ragam pada Semua Variabel Pengamatan.....	16
Tabel 4. 2 Hasil Uji DMRT Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Regenerasi	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian.....	38
Lampiran 2. Deskripsi Padi Tarabas.....	41
Lampiran 3. Deskripsi Padi Mentik Wangi.....	42
Lampiran 4. Deskripsi Padi Mentik Wangi Susu.....	43
Lampiran 5. Data Hasil Analisis Ragam.....	44
Lampiran 6. Data Hasil Uji DMRT taraf 5%.....	53
Lampiran 7. Gambar dan Data Skoring Spot Hijau Kalus.....	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman padi merupakan salah satu tanaman pangan serealia terpenting di dunia karena lebih dari setengah populasi dunia menjadikan beras sebagai bahan makan pokok dan permintaan beras juga semakin meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah populasi manusia di dunia (Khush and Virk, 2000). Penerapan teknik rekayasa genetika melalui bioteknologi merupakan salah satu cara yang dapat ditempuh untuk merakit varietas tanaman padi dengan kualitas dan kuantitas panen yang tinggi serta adaptif terhadap kondisi cekaman lingkungan. Dalam pengaplikasianya, teknik kultur jaringan merupakan salah satu perangkat utama untuk proses transformasi gen asing ke dalam kromosom sel padi yang kemudian akan beregenerasi menjadi galur tanaman transgenik yang membawa sifat unggul baru. Namun, keberhasilan untuk menciptakan padi transgenik melalui teknik kultur jaringan sangat bergantung pada tingkat keberhasilan sel padi untuk beregenerasi menjadi tanaman sempurna. Jenis padi (genotip), dan kombinasi hormon dalam media kultur jaringan telah umum diketahui sebagai faktor utama dalam keberhasilan pembentukan kalus dan regenerasinya untuk menjadi tanaman secara *in vitro* (Hoque and Mansfield, 2004)

Jenis tanaman padi secara umum terbagi menjadi tiga subspecies yaitu Indica, Japonica, dan Javanica (*tropical japonica*). Padi Indica dan Javanica merupakan jenis padi yang sesuai dengan iklim tropis. Ketiga subspecies padi ini diketahui mempunyai respon kultur jaringan yang berbeda-beda, dimana pada padi Japonica pada umumnya mempunyai daya pembentukan kalus dan kemampuan beregenerasi lebih tinggi dibandingkan dengan padi Indica (Kumar and Ajinder, 2013). Hal ini kemudian menyebakan galur-galur tanaman padi Indica hasil rekayasa genetika jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan padi Japonica. Di Indonesia telah dihasilkan padi varietas Tarabas yang mempunyai sifat seperti padi Japonica bila ditinjau dari bentuk biji dan kadar amilosa. Namun pertanyaan apakah padi Tarabas juga mempunyai respon kultur *in vitro* yang setara dengan padi-padi Japonica juga perlu untuk dijawab.

Selain genotip, jenis dan konsentrasi hormon adalah faktor terpenting lainnya bagi keberhasilan kultur jaringan tanaman padi. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan yaitu auksin dan sitokin. Auksin dalam bentuk 2,4-D dengan konsentrasi 2 mg/l umumnya digunakan dalam proses penginduksian kalus padi dengan menggunakan eksplan embrio matang (Carsono and Yoshida, 2006). Sedangkan kombinasi antara auksin dan sitokin diperlukan untuk proses regenerasi kalus menjadi plantlet. Masing-masing varietas padi telah diketahui mempunyai rasio auksin dan sitokin optimal yang berbeda-beda. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ming *et al.*, (2019), penggunaan sitokin dalam bentuk Kinetin (2 ppm) dan BAP (1 ppm) serta auksin dalam bentuk NAA (0,5 ppm) menghasilkan tingkat regenerasi tertinggi kalus padi Indica varietas MR220 sebesar 40% dan MR220-CL2 sebesar 70%. Pada padi Japonica, planlet dapat dihasilkan dari kalus yang diregenerasikan pada media yang mengandung 0,02 ppm NAA dan 3 ppm Kinetin (Toki *et al.*, 2006). Pada padi Javanica, Vikurniati, (2019) telah menguji daya regenerasi kalus padi Javanica aromatik varietas Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu pada media yang mengadung 0,5 ppm NAA dan 3 ppm Kinetin. Kalus Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu menunjukkan prosentase pembentukan tunas dengan nilai masing-masing 1,9% dan 6,5% dibandingkan 22,7% pada kalus varietas Hwayoung, namun lebih tinggi dari padi Indica varietas Ciherang dan Situ Bagendit dengan prosentase regenerasi masing-masing 0%.

Kemampuan beregenerasi kalus Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu serta kemiripan sifat padi Tarabas dengan padi Japonica menunjukkan bahwa ketiga varietas ini mempunyai potensi sebagai objek transformasi genetik untuk perakitan varietas unggul baru. Namun karena daya regenerasi kalus Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu yang masih rendah, maka perlu dilakukan optimasi teknik kultur jaringan melalui penggunaan kombinasi Kinetin dan BAP pada media regenerasi. Oleh karena itu, penelitian ini akan dilaksanakan untuk mengetahui respon regenerasi kalus Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa rasio konsentrasi Kinetin dan BAP.

1.2 Perumusan Masalah

Sejauh ini, belum ada informasi mengenai kondisi media kultur jaringan yang optimum untuk menginduksi pembentukan tunas pada kalus padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas. Penggunaan kombinasi Kinetin dan BAP yang tepat dapat menstimulasi daya regenerasi kalus beberapa varietas padi. Berdasarkan hal tersebut, permasalahan utama dari penelitian ini adalah berapa kombinasi Kinetin dan BAP yang tepat untuk pembentukan tunas padi kalus Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui respon daya regenerasi kalus padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa kombinasi Kinetin dan BAP.

1.4 Manfaat Penelitian

Memberi informasi tentang kombinasi Kinetin dan BAP yang optimum untuk proses regenerasi kalus menjadi tunas pada padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa kombinasi Kinetin dan BAP.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Padi (*Oryza sativa*. L) merupakan tanaman pangan penghasil beras yang berperan penting dalam kehidupan ekonomi Indonesia karena sebagian besar penduduknya menjadikan beras sebagai bahan makanan pokok. Padi merupakan tanaman penting karena karakter agronomi dan nutrisinya menyediakan lebih dari 20% kalori per kapita. Tanaman padi tergolong dalam family *Graminae* (*Poaceae*) atau serealia yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi.

Menurut Sumadji dkk (2014), tanaman padi terdiri atas 2 ras, yaitu ras Indica dan Sinica. Khush (1997), menyatakan bahwa, padi subspesies Sinica digolongkan menjadi 2, yaitu padi *Temperate Japonica* (Japonica) dan *Tropical Japonica* (Javanica) yang digolongkan berdasarkan daerah tempat tumbuhnya. Padi subspesies Indica berasal dari daerah tropis yang dibudidayakan di sebagian besar wilayah Asia Tenggara. Padi subspesies Indica memiliki karakteristik yaitu tanamannya tinggi dan dapat tumbuh di dataran tinggi. Padi Japonica dibudidayakan pada wilayah beriklim subtropis, seperti China, Jepang, dan Korea. Karakteristik padi Japonica tanamannya relatif pendek, daun berwarna hijau gelap dan pendek, dan bulir padinya pendek, bulat, dan ujungnya berbulu. Padi Javanica merupakan padi yang dapat tumbuh dilahan kering dan banyak ditemukan di daerah Jawa dan Bali. Karakteristik padi Javanica yaitu daunnya berwarna hijau muda, lebar, dan kaku. Bulir padinya pendek, bulat, dan beberapa varietas memiliki bulu yang panjang dan beberapa tidak berbulu.

Deskripsi Varietas Mentik Wangi

Padi varietas Mentik Wangi tergolong padi aromatik subspesies Javanica yang berasal dari kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Padi varietas Mentik wangi mempunyai keunggulan yaitu memiliki aroma khas dan tekstur nasi yang pulen (Yunus *et al.*, 2017). Ciri-ciri khas padi Mentik Wangi yaitu berasnya berbentuk

bulat lonjong dan gabah berwarna kuning kecoklatan (Yulianto, 2017). Kadar amilosa padi ini berkisar 20,64%.

Deskripsi Varietas Mentik Wangi Susu

Mentik Wangi Susu tergolong dalam subspesies padi Javanica. Padi Mentik Wangi Susu sama seperti padi Mentik Wangi yaitu termasuk ke dalam golongan padi aromatik. Mentik Wangi Susu adalah varietas lokal yang berasal dari Magelang, Jawa Tengah. Mentik Wangi Susu memiliki ketahanan tidak mudah roboh. Beras padi ini berwarna putih susu seperti namanya (Yunus *et al.*, 2018). Mentik Wangi Susu memiliki ciri-ciri berasnya berwarna putih susu dan beraroma wangi. Kadar amilosa yang dimiliki padi ini yaitu 16,36%.

Deskripsi Varietas Tarabas

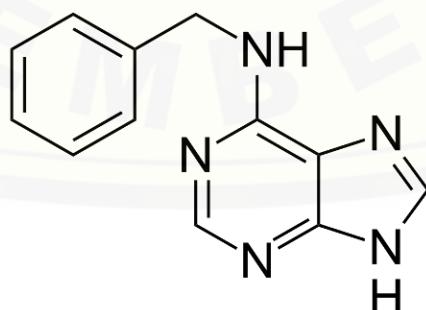
Tarabas di klaim sebagai padi subspesies Japonica. Padi Tarabas merupakan padi yang dikembangkan secara lebih luas oleh Badan Penelitian Pertanian dan Pemerintahan Daerah Jawa Barat. Padi ini memiliki ciri-ciri yaitu memiliki gabah berbentuk agak bulat dan berwarna kuning jerami. Kadar amilosa padi Tarabas berkisar 17,73%. Padi Tarabas memiliki keunggulan yakni tahan terhadap serangan penyakit blas dan tungro, sedangkan kelemahan yakni tidak tahan terhadap serangan hawar daun bakteri dan wereng batang coklat (Sasmita dkk., 2019)

2.2 Zat Pengatur Tumbuh Pada Kultur Jaringan Padi

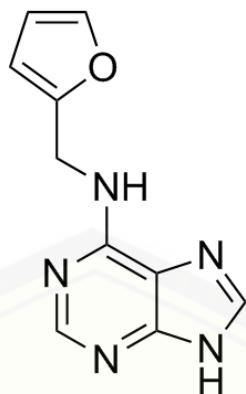
Zat pengatur tumbuh dalam media regenerasi yang meliputi perbandingan konsentrasi dari auksin dan sitokinin yang akan digunakan harus tepat agar kalus dapat membentuk tunas dan akar. Konsentrasi auksin dan sitokinin yang tepat dapat mencegah terjadinya *browning* pada kalus. Beberapa tanaman tropika memiliki kandungan senyawa fenol tinggi yang dapat teroksidasi bila sel dilukai sehingga jaringannya berwarna coklat dan gagal tumbuh. Auksin dalam kultur jaringan berperan dalam merangsang pembentukan kalus, akar, pemanjangan sel. Sitokinin berperan sebagai pengatur pertumbuhan, pembelahan dan pemanjangan sel. Menurut Zein (2016), fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel.

NAA (*Naftalen Asam Asetat*) merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin dan paling banyak digunakan pada kultur jaringan. Menurut Nisak dkk (2012), NAA berperan dalam pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel, sehingga air dapat masuk secara osmosis ke dalam dinding sel dan mengalami pemanjangan. Menurut Zulkarnain (2014), NAA merupakan auksin sintetik yang tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti IAA dan diberikan pada medium kultur jaringan pada konsentrasi rendah, yaitu 0,1-2,0 mg/l. Ming *et al* (2010), penambahan 2,4-D dapat mengatur embriogenesis somatik melalui aktivitas auksininya yang kuat dengan memengaruhi metabolisme endogen dari regulator pertumbuhan tanaman lainnya.

Menurut Azizan and RISDA (2015), sitokin adalah hormon yang berperan dalam mengatur siklus dan proses perkembangan tanaman. Kinetin dibutuhkan untuk memacu morfogenesis yang lebih optimal. Kinetin digunakan dalam kultur jaringan untuk menginduksi pembentukan tunas. Azizan and RISDA (2015), mengatakan bahwa, BAP lebih stabil daripada sitokin lainnya, lebih sulit teroksidasi oleh cahaya, lebih murah dan lebih mudah didapatkan. BAP berperan dalam memacu pertumbuhan dan menginduksi kalus karena BAP berperan aktif dalam organogenesis secara alami (Muliati dkk., 2017). Penggunaan BAP pada tanaman berkisar 1,0 hingga 3,0 mg/L karena jika konsentrasi terlalu tinggi menyebabkan penghambatan pertumbuhan tunas tetapi efeknya berbeda-beda bergantung dengan spesies tanaman (Azizan dan RISDA., 2015)



Gambar 2.1 Struktur kimia BAP



Gambar 2.2 Struktur kimia Kinetin

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mostafiz and Wagiran (2018), daya regenerasi kalus tertinggi pada perlakuan RM5 dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh 0,5 ppm NAA, 2 ppm Kinetin dan 2 ppm BAP menghasilkan regenerasi kalus tertinggi pada spesies Indica varietas MR220 sebesar 68%, MR220-CL2 sebesar 82%, dan Bario sebesar 40%.

Berdasarkan penelitian Ming *et al* (2019), penggunaan zat pengatur tumbuh Kinetin dan BAP menunjukkan bahwa regenerasi tanaman tertinggi pada konsentrasi Kinetin 2 ppm dan BAP 1 ppm dengan persentase regenerasi tanaman sebesar 70%. Pemberian Kinetin 2 ppm hanya menghasilkan sedikit planlet, tetapi bila ditambahkan dengan BAP 1 ppm menunjukkan adanya regenerasi tanaman yang baik.

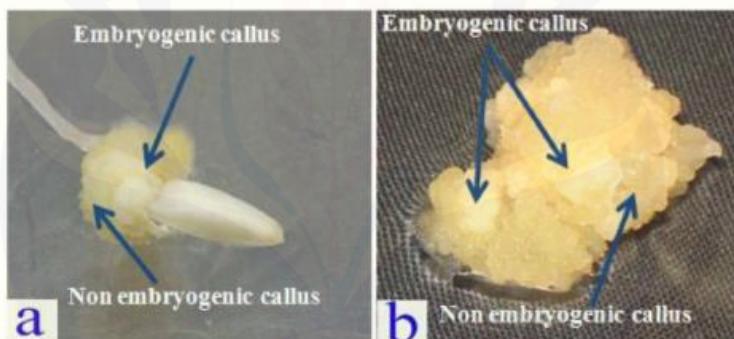
Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk menginduksi morfogenetik tanaman (Samudin, 2009). Penambahan kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi tepat mampu regenerasi kalus membentuk tanaman. Pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2.3 Pembentukan Kalus dan Regenerasi

Tanaman memiliki kemampuan totipotensi yaitu kemampuan sel tanaman untuk memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Sel tanaman ditumbuhkan secara *in vitro* dan berkembang membentuk kalus. Menurut Indah dan Ermavitalini (2013), kalus merupakan sekumpulan sel yang tidak beraturan dan belum mengalami diferensiasi yang membelah secara terus menerus

Kalus dapat terbentuk dari pelukaan sel yang mengalami pembelahan secara terus menerus (Mastuti, 2017). Struktur pembentukan kalus adalah menginduksi dari bagian tanaman tertentu dengan memberikan zat pengatur tumbuhan. Auksin digunakan dalam induksi kalus karena berperan untuk merangsang pembentukan kalus, sedangkan penggunaan sitokinin jarang dilakukan dalam induksi kalus (Zaidi *et al.*, 2006).

Secara morfologi, kalus dibedakan menjadi 2 yaitu kalus embriogenik dan non embriogenik. Fase induksi kalus dianggap berhasil apabila kalus yang diperoleh bersifat embrionik. Ciri kalus embriogenik yaitu remah, berwarna bening /putih kekuningan. Kalus embrionik jika diamati menggunakan mikroskop berwarna putih kekuningan, berbentuk globular dan seragam, dan ukurannya berkisar 1-2 mm, sedangkan kalus non embrionik berwarna kuning kecoklatan dan lebih pekat jika dibandingkan dengan kalus embriogenik (Shahsavari *et al.*, 2010).



Gambar 2.3 Perbedaan kalus embriogenik dan non-embriogenik (a) kalus embriogenik (b) kalus non-embriogenik

Sumber: Shahsavari *et al.*, 2010

Regenerasi tanaman merupakan tahap lanjutan setelah proses induksi kalus. Regenerasi merupakan suatu tahap perkembangan sel kalus menjadi tanaman sempurna. Regenerasi kalus dimulai pada saat kalus disubkultur pada media regenerasi yang diletakkan di ruang yang terkena cahaya. Kalus yang di subkultur memiliki ciri berstruktur remah dan berwarna putih kekuningan karena lebih mudah beregenerasi dibandingkan dengan struktur kalus yang kompak dan berwarna kecoklatan. Struktur kalus dapat menggambarkan daya regenerasi dalam membentuk tunas dan akar (Purnamaningsih, 2006).

Eksplan harus memiliki kemampuan totipotensi yang tinggi agar memiliki daya regenerasi yang tinggi pula untuk membentuk tanaman lengkap (Ikeuchi *et al.*, 2013). Eksplan embrio matang banyak digunakan dalam kultur jaringan padi karena menghasilkan kalus yang lebih baik bila dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya. Hal ini sejalan dengan pernyataan Vennapusa *et al* (2015), embrio merupakan eksplan terbaik dari berbagai sumber eksplan yang digunakan, karena memiliki daya totipotensi atau kemampuan regenerasi tinggi diantara sumber eksplan lainnya.

Berdasarkan pendapat Yuwono (2016), faktor komponen media yang paling penting adalah sumber nutrisi organik dan nutrisi anorganik, karbohidrat, nitrogen, vitamin, dan juga zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media regenerasi tanaman. Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik yang bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan merubah proses fisiologi tanaman (Abidin, 1982). Kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat dapat menghasilkan regenerasi tanaman yang baik. Auksin yang sering digunakan yaitu NAA, sedangkan sitokinin yang digunakan yaitu kombinasi antara BAP dan Kinetin.

2.4 Hipotesis

Media regenerasi dengan 2 ppm Kinetin dan 1 ppm BAP meningkatkan daya regenerasi kalus padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli hingga November 2020 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu benih padi varietas Tarabas, Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu, Maltosa, Prolin, Glutamin, Kasein Hidrosilat, N6 salt, N6 vitamin 1000, zat pengatur tumbuh Kinetin 1 ppm; 2 ppm, BAP 1 ppm; 2 ppm; NAA 0,5 ppm, Gellan, aquadest, spirtus, hipoklorit, alkohol 70%, dan 97% sebagai desinfektan, dan aluminium foil.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu glass ware (gelas ukur, petridish, beaker glass, dan erlenmeyer), pinset, gunting, alat pengupas benih, mikropipet, magnetic stirrer, bunsen, korek api, hand sprayer, timbangan analitik, pH meter, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, dan mikroskop stereo

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu 3 varietas padi dan faktor kedua yaitu 5 taraf konsentrasi kombinasi Kinetin dan BAP. Faktor pertama adalah tanaman padi:
L1 : Mentik Wangi Susu
L2 : Mentik Wangi
L3 : Tarabas

faktor kedua adalah 5 taraf konsentrasi kombinasi Kinetin dan BAP diantaranya yaitu:

V1 : 2 ppm Kinetin dan 0 ppm BAP

V2 : 0 ppm Kinetin dan 2 ppm BAP

V3 : 2 ppm Kinetin dan 1 ppm BAP

V4 : 1 ppm Kinetin dan 2 ppm BAP

V5 : 2 ppm Kinetin dan 2 ppm BAP

Berdasarkan perlakuan tersebut diperoleh 15 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 45 satuan percobaan.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan yang diperoleh yaitu sebagai berikut:

V \ L	L1	L2	L3
V1	L1V1	L2V1	L3V1
V2	L1V2	L2V2	L3V2
V3	L1V3	L2V3	L3V3
V4	L1V4	L2V4	L3V4
V5	L1V5	L2V5	L3V5

3.3.2 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya regenerasi varietas padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas pada beberapa kombinasi Kinetin dan BAP. Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa rangkaian kegiatan, yaitu:

1. Tahapan Sterilisasi Alat dan Ruang

Setiap alat disterilisasi sesuai dengan prosedur. Ujung dari pinset dan gunting ditutup aluminium foil lalu dibungkus dengan plastik tahan panas, sedangkan untuk *glass ware* dibungkus langsung dengan plastik tahan panas lalu dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama ±15 menit. Ruang disterilisasi dengan membersihkan bagian dalam *Laminar Air Flow* (LAF) menggunakan alkohol kemudian sinar UV dinyalakan selama ±60 menit sebelum digunakan. *Laminar Air Flow* (LAF) dalam kondisi tertutup rapat saat disinari sinar UV.

2. Tahapan Pembuatan Media Induksi Kalus

Pembuatan media induksi kalus dibuat dengan menimbang bahan-bahan media yang meliputi maltosa 30 g/l, glutamin 0,5 g/l, gellan 4 g/l, kasein hidrosilat 1 g/l, prolin 0,5 g/l, dan sigma N6 salt 4 g/l menggunakan timbangan analitik kemudian mencampur bahan-bahan tersebut kecuali gellan kedalam beaker glass, kemudian menambahkan aquades dan 2,4-D 2 mg/l kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer dan pH diatur sampai 5,8. Larutan media kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang didalamnya berisi gellan. Erlenmeyer berisi larutan media ditutup dengan aluminium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama ±15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi. Media dituangkan ke petridish setelah selesai disterilisasi, kemudian diletakkan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Setiap petridish berisi ±25 ml larutan media, dan dibiarkan terbuka selama ±30 menit hingga padat dan tidak terdapat uap air di dalam petridish. Petridish kemudian ditutup dan direkatkan menggunakan plastik wrap dan media dapat disimpan pada suhu 4°C

3. Tahapan Persiapan Eksplan Induksi Kalus

Bagian tanaman padi yang digunakan sebagai eksplan induksi kalus yaitu benih. Benih padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas dipilih benih yang ukurannya seragam, terdapat embrio utuh, dan tidak ada jamur ataupun bercak hitam. Eksplan disterilisasi dengan menggojok dalam larutan hipoklorit 1% selama ±20 menit kemudian dibilas menggunakan aquades steril sebanyak 5-7 kali sampai bersih.

4. Tahapan Penanaman Eksplan untuk Pembentukan Kalus

Penanaman eksplan diawali dengan mengeringkan eksplan pada kertas saring hingga tidak terlalu basah, kemudian di tanam pada media agar yang telah disiapkan. Eksplan diambil menggunakan pinset yang disterilisasi dengan cara dimasukkan kedalam alkohol 97% dan dibakar setiap kali selesai digunakan. Petridish yang telah ditanami eksplan kemudian ditutup kembali dan direkatkan dengan plastik wrap. Eksplan kalus disimpan pada inkubator dengan suhu antara 28-30° C selama 15 hari. Eksplan yang telah ditanam, diamati pertumbuhan kalusnya sesuai dengan variabel pengamatan.

5. Tahapan Pengamatan Induksi Kalus

Pengamatan dilakukan setiap hari guna mengetahui perkembangan kalus dan ada tidaknya kontaminasi. Variabel persentase pembentukan kalus didapat dari persentase kalus yang terbentuk selama masa inkubasi yaitu 15 hari setelah tanam. Pengamatan kalus menggunakan mikroskop juga dilakukan pada hari terakhir pengamatan.

6. Tahap Pembuatan Media Regenerasi

Komposisi media regenerasi kalus terdiri atas, maltosa 30 g/l, prolin 0,5 g/l, glutamin 0,5 g/l, sigma N6 salt 4 g/l, kasein 0,3 g/l, dan gellan 7 g/l menggunakan timbangan analitik kemudian mencampur semua bahan tersebut kecuali gellan menjadi satu dalam beaker glass kemudian menambahkan aquades, N6 vitamin 1 ml/l, kinetin 1 ppm; 2 ppm, BAP 1 ppm; 2 ppm dan NAA 0,5 ppm sesuai perlakuan, kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer dan pH diatur sampai 5,8. Larutan media kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi gellan. Erlenmeyer berisi larutan media ditutup dengan aluminium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama ±15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi. Media dituangkan ke petridish setelah disterilisasi di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Setiap petridish berisi ±40 ml larutan media, dan dibiarkan terbuka selama ±30 menit agar mengeras dan tidak terdapat uap air di dalam petridish. Petridish kemudian ditutup dan direkatkan dengan plastik wrap dan media dapat disimpan dalam lemari es.

7. Tahap Regenerasi

Pemindahan kalus yang terbentuk pada setiap kombinasi ke dalam petridish yang berisi media regenerasi sesuai dengan perlakuan kombinasi ZPT. Setiap petridish diisi 10 kalus. Tahap regenerasi dilakukan dengan cara menghilangkan tunas embrio sebelum ditanam dengan cara memotongnya menggunakan gunting yang telah disterilkan untuk mencegah pertumbuhan lebih lanjut karena akan mengganggu proses regenerasi. Setiap tahapan regenerasi dilakukan dalam kondisi aseptik, pinset maupun gunting disterilisasi dengan dimasukkan ke dalam alkohol 97% dan dibakar diatas bunsen setiap akan digunakan. Tahap regenerasi dilakukan di ruang inkubasi dengan suhu ±28°C.

8. Tahap Pengamatan Regenerasi

Pengamatan regenerasi dilakukan mulai hari ke-15 setelah subkultur hingga hari ke-42 yang dilakukan setiap minggu. Pengamatan regenerasi yaitu persentase spot hijau dan persentase regenerasi kalus. Pengamatan spot hijau kalus dilakukan menggunakan mikroskop setiap minngu setelah subkultur sampai minggu ke-1 sampai minggu ke-3. Pengamatan regenerasi kalus ditandai dengan kalus yang sudah terdeferensiasi menjadi planlet.

3.3.3 Variabel Pengamatan

Beberapa variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi:

1. Morfologi kalus yang terbentuk

Pengamatan dilakukan terhadap struktur kalus yang meliputi kompak, remah atau mudah hancurnya kalus.

2. Daya pembentukan kalus (%)

Daya pembentukan kalus (%) diperoleh dengan menjumlahkan eksplan yang terbentuk pada setiap media kultur dan dibagi dengan jumlah eksplan dalam media kultur kemudian dikali 100% (Fanata dan Qudsiyah, 2020). Rumus dapat dituliskan sebagai berikut:

$$\text{Daya Pembentukan Kalus (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berkalus}}{\text{Jumlah eksplan dalam media kultur}} \times 100\%$$

3. Daya pembentukan spot hijau pada kalus (%)

Daya pembentukan spot hijau (%) diperoleh dengan menjumlahkan kalus yang berubah warna menjadi hijau dan menjadi koleoptil ketika dalam media regenerasi dan dibagi dengan jumlah kalus yang ditanam pada media regenerasi kemudian dikalikan 100% (Fanata dan Qudsiyah, 2020). Rumus dapat dituliskan sebagai berikut:

$$\text{Daya pembentukan spot hijau (\%)} = \frac{\text{Jumlah kalus membentuk spot hijau}}{\text{Jumlah kalus dalam media regenerasi}} \times 100\%$$

Perhitungan skoring terhadap pembentukan spot hijau pada setiap perlakuan dilakukan guna mengetahui pertumbuhan spot hijau kalus setiap minggunya. Skor dimulai dari 1 sampai 5, berurutan dari yang sedikit membentuk spot hijau hingga menutupi seluruh bagian kalus.

4. Daya regenerasi kalus (%)

Daya regenerasi kalus (%) dapat dihitung dengan menjumlah kalus yang beregenerasi dan dibagi dengan jumlah kalus yang ditanam dalam media kultur kemudian dikali 100% (Fanata dan Qudsiyah, 2020). Rumus persentase regenerasi kalus dapat dituliskan sebagai berikut:

$$\text{Daya regenerasi kalus (\%)} = \frac{\text{Jumlah kalus yang membentuk planlet}}{\text{Jumlah kalus dalam media regeneras}} \times 100\%$$

3.4 Analisa Data

Metode analisis yang digunakan yaitu uji-F lalu uji lanjut DMRT (Uji Jarak Berganda Duncan) dengan taraf 5% apabila terdapat perbedaan nyata untuk mengetahui respon daya regenerasi kalus padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas dengan beberapa kombinasi Kinetin dan BAP.

Browning terjadi apabila eksplan mengeluarkan senyawa fenolik ke media. Mastuti (2017) menyatakan bahwa polifenol disintesis oleh enzim Polifenol Oksidase (PPO) yang bereaksi dengan oksigen dari udara sebagai penerima elektron. Proses ini dapat terjadi sebagai respon kalus terhadap proses subkultur atau pemindahan dari media induksi ke media regenerasi. Menurut Camm *et al* (1977), fenilalanin amonia liase (PAL) dapat mengubah fenilalanin menjadi senyawa fenolik bebas yang digunakan sebagai substrat saat bereaksi dengan Polifenol Oksidase (PPO). Meningkatnya aktivitas Polifenol Oksidase (PPO) dapat menghasilkan senyawa fenolik (Beruto *et al.*, 1996). Selain itu, *browning* pada kalus Mentik Wangi diduga karena tingginya produksi gas etilen pada kalus. Etilen telah diketahui dapat memberikan pengaruh negatif terhadap proses embriogenesis. Pada tanaman alfalfa (*Medicago truncatula*), tingginya tingkat embriogenesis pada kultur *in vitro* berkaitan erat dengan rendahnya aktivitas gen yang berkaitan dengan biosintesis etilen (Feng *et al.*, 2012). Selanjutnya, peningkatan produksi etilen akibat penggunaan thidiazuron juga telah diketahui sebagai penyebab dari menurunnya kapasitas embryogenesis pada kultur *in vitro* tanaman alfalfa (Karami and Saidi, 2010).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kombinasi 2 ppm Kinetin dan 1 ppm BAP merupakan perlakuan terbaik untuk regenerasi kalus varietas Tarabas dan Mentik Wangi Susu.
2. Kalus Mentik Wangi tidak dapat beregenerasi menjadi tunas pada semua perlakuan sitokinini.

5.2 Saran

1. Kalus yang dipindahkan pada media regenerasi sebaiknya kalus yang berstruktur remah karena termasuk dalam kalus embriogenik dan dapat menghasilkan regenerasi kalus yang lebih baik daripada kalus yang berstruktur kompak.
2. Perlu menghitung jumlah green spot di dalam perhitungan persentase green spot pada masing-masing kalus yang ditumbuhkan pada media regenerasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin. Z. 1982. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh.* Bandung: PT. Angkasa.
- Ali, S., X. Qing-Zhong,, and Z. Xian.-Yin. (2004). Assessment of Various Factors Involved in the Tissue Culture System of Rice. *Rice Sci*, 11(5-6): 345-349.
- Artadana, I. B. M., G. B. F. Suhono., P. H. Hardjo., M. G. M. Purwanto. Y. K. Wang., K. Supaibulwatana. 2017. Plant Regeberation Induced From Mature Embryo-derived Callus of Balinese Red Rice (*Oryza sativa* Cv. Badak Cenana). *Bali Medical*, 3(3): 12-17.
- Azizan, M. N. A., RISDA. 2017. The Rffect of BAP dan NAA Treatment of Micropropagation on *Cucumis sativus*. L.*Science and Research (IJSR)*, 6(11): 170-178.
- Beruto. M., Curir. P., Debergh. P. 1996. Callus growth and somatic embryogenesis in thalamus tissue of *Ranunculus asiaticus* L. cultivated in vitro: cytokinin effect and phenol metabolism. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 32:154-160.
- Carsono, N. and T. Yoshida. (2006). Identification of callus induction potential of 15 Indonesian rice genotypes. *Plant Prod. Sci*,9(1): 65–70.
- Chakrabarty, D., P. K. Trivedi., M. Shri., P. Misra., M. H. Asif., S. Dubey., S. Kumar., A. Rai., M. Tiwari., D. Shukla., A. Pandey., D. Nigam., R. D. Tripathi., R. Tuli. 2009. Differential Transcriptional Expression Following Thidiazuron-induced Callus Differentiation Developmental Shifts in Rice. *Council of Scientific and Industrial Research*, 1(1): 46-59.
- Darmawati, I. A. P., R. Dwiyani., H. Yuswanti. 2013. Induksi Kalus dengan 2,4-D pada Mikropropagasi Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa*Duch cv. Rosalinda). *Agrotrop*, 12: 46-59.
- Fanata, W. I. D., & Qudsiyah, D. H. (2020). Daya Regenerasi Kalus dan Tunas *In Vitro* Padi Varietas Tarabas pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 7(2): 250-25.
- Feng B.H., Wu B., Zhang CR, Huang X., Chen YF., Huang X.L. 2012. Cloning and expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase cDNA induced by thidiazuron during somatic embryogenesis of alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant Physiol*, 169 (2): 176-182.

- Fitriani, H. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia annua L. secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Hendaryono, D. P. S., A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hoque, M.E. and , J.W. Mansfield. (2004). Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root-derived callus of Indica rice genotypes. *Plant Cell, Tissue Organ Cult*, 78: 217–223.
- Ikeuchi, M., K. Sugimoto., A. Iwase. 2013. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *American Society of Plant Biologists*, 25: 3159-3173
- Indah. P. N., D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dihlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Sains dan Seni Pomits*, 2(1): 1-6.
- Karami O., Saidi A. 2010. The molecular basis for stress-induced acquisition of somatic embryogenesis. *Mol Biol Rep*, 37 (5): 2493-2507.
- Khush, G. S. 1997. Origin, Dispersal, Cultivation and Variation of Rice. *Plant Molecular Biology*, 35: 25–34.
- Khush. G. S., P. S. Virk. 2000. Rice Breeding: Achievement and Future Strategies. *Crop Improvement*, 27: 115-144.
- Kumar, S.S. and K. Ajinder (2013). Genotype independent tissue culture base line for high regeneration of japonica and indica rice. *Biotechnology*,. 8(12): 96–101.
- Mastuti. R. 2017. *Dasar-dasar Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UB Press.
- Ming, N. G. J., S. B. Mostafiz., N. S. Johon., N. S. A. Zulkifli., A. Wagiran. 2019. Combination of Plant Growth Regulators, Maltose, and Partial Desiccation Treatment Enhance Somatic Embryogenesis in selected Malaysian Rice Cultivar. *Plants*. 8(6): 144.
- Mostafiz. S. B., A. Wagiran. 2018. Efficient Callus Induction and Regeneration in Selected Indica Rice. *Agronomy*, 8(77): 1-18
- Muliati., T. Nurhidayah., Nurbaiti. 2017. Pengaruh NAA, BAP, dan Kombinasinya pada Media MS terhadap Perkembangan Eksplan *Sansivieria macrophylla* secara In Vitro. *Jom Faperta*, 4(1): 1-13.

- Nisak, K., T. Nurhidayati., K. I. Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. *Sains dan Seni Pomits*. 1(1):1-6.
- Purnamaningsih. R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*. *AgroBiogen*, 2(2):74-80.
- Sah, S.R., Kaur, A., Sandhu, J.S. 2014. High Frequency Embryogenic Callus Induction and Whole Plant Regeneration in Japonica Cv. Kitaake. *Rice Research*, 2(2): 1-5.
- Samudin, S. 2009. Pengaruh Kombinasi Auksin-Sitokinin terhadap Pertumbuhan Buah Naga. 2(1):62-66.
- Santoso, T. J., Sudarsono, H. Aswidinnoor, dan I. H. Somantri. 2005. Daya Regenerasi Padi Indica cv. Bengawan Solo dalam Dua Tipe Media Regenerasi dengan Penembakan Mikroprojektil. *Hayati*, 12(4): 157-161.
- Sari, R. A., R. Herawati., C. Herison. 2019. Induction and Growth of Endosperm Callus of Rimau Gerga Lebong (RGL) Citrus on Several Media Composition. *Akta Agrosia*, 22(2): 56-62.
- Sasmitha. P., Satoto., Rahmini., Nurwulan Agustiani., D. D. Handoko., Supriyanto., A. Guswara., Suharna. 2019. *Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian kementerian Pertanian.
- Sembiring. C. 2020. Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon yang Berbeda terhadap Daya Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember.
- Shahsavari. E., A. A. Maheran1., A. S. N. Akmar., M. M. Hanafi. 2010. The effect of Plant Growth Regulators on Optimization of Tissue Culture System in Malaysian Upland Rice. *Biotechnology*, 9(14): 2089-2094.
- Sumadji, A. R., A. Yunus, dan Sunarto. 2014. Induksi Kalus Padi (*Oryza Sativa L.*) Varietas IR64, Mentik Wangi, dan Rojolele melalui Kultur In Vitro. *EL-VIVO*, 2(1): 10-19.
- Toki, S., N. Hara., K. Ono., Onodera., H. Tagiri., S. Oka, S., and H. Tanaka. (2006). Early infection of scutellum tissue with Agrobacterium allows high-speed transformation of rice. *The Plant*, 47: 969–976.
- Vennapusa, A. R., R. S. Vemanna., R.B. H. Rajashekhar., K.C. Babitha., K.Kiranmai., A. Nareshkumar., C. Sudhakar. 2015. An Efficient Callus Induction and Regeneration Protocol for a Drought Tolerant Rice Indica Genotype AC39020. *Plant Sciences*, 3(5): 248-254.

- Vikurniati, M. 2019. Induksi Kalus dengan Konsentrasi Suboptimum 2,4-D dan Pengaruhnya terhadap Regenerasi pada 5 Varietas Padi. *Skripsi*. Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Jember
- Yulianto. 2017. Ketahanan Varietas Padi Lokal Mentik Wangi Terhadap Penyakit Blas. *JoFSA*, 1(1): 47-54.
- Yunus. A., S. Hartati., R. Di. K. Brojokusumojo. 2017. Performance Of Mentik Wangi Rice Generation M1 From The Results Of Gamma Ray Irradiation. *Agrosains*, 19(1): 6-14.
- Yunus. A. , Parjanto., I. Y. Pratama. 2018. The performance of M2 generation of Mentik Wangi Susu rice resulted from gamma ray irradiation. *Earth and Environmental Science*, 142(1): 1-11.
- Yuwono, T. 2016. *Biotehnologi Pertanian*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Zaidi. M. A., M. Narayanan., R. Sardana., I. Taga., S. Postel., R. Johns., M. McNulty., Y. Mottiar., J. Mao., E. Loit., I. Altosaar. 2006. Optimizing Tissue Culture Media for Efficient Transformation of Different Indica Rice Genotypes. *Agronomy Research*, 4(2): 563–575.
- Zein, A. 2016. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman (Fitohormon)*. Jakarta: Kencana.
- Zulkarnain. 2014. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: PT Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Benih untuk dijadikan eksplan



Gambar 2. Pembuatan media induksi kalus



Gambar 3. Tahap induksi di dalam inkubator



Gambar 4. Penuangan larutan media di LAF



Gambar 5. Penanaman regenerasi



Gambar 6. Tahap regenerasi kalus di ruang inkubasi



Gambar 7. Pengamatan kalus menggunakan mikroskop



Gambar 8. Pengamatan regenerasi H+42

Lampiran 2. Deskripsi Padi Tarabas

Asal seleksi	: Seleksi varietas lokal Tarabas
Golongan	: Japonica
Umur tanaman	: 131 hari setelah semai
Bentuk tanaman	: Tegak
Tinggi tanaman	: 122 cm
Daun bendera	: Agak tegak
Bentuk gabah	: Agak bulat
Warna gabah	: Kuning jerami
Kerontokan	: Sedang
Kerebahana	: Sedang
Tekstur nasi	: Sangat pulen dan lengket
Kadar amilosa	: 17,73%
Berat 1000 bulir	: 24,4 gram
Rata-rata hasil	: 4,10 t/ha
Potensi hasil	: 5,38 t/ha
Ketahanan terhadap	
- Hama	: Peka terhadap wereng coklat biotipe 1.
- Penyakit	: Rentan terhadap hawar daun bakteristain III, sangat rentan hawar daun bakteri strain IV dan VIII, agak tahan penyakit tungro inokulum Purwakarta, rentan terhadap penyakit tungro inokulum Garut, agak tahan blas ras 033 dan 073, tahan blas ras 133 dan 173.
Anjuran tahanan	: Baik ditanam pada sawah irigasi pada dataran rendah sampai menengah
Pemulia	: Aan A. Daradjat, Sudibyo TWU, Asep Maolana
Tahun dilepas	: 2017

Lampiran 3. Deskripsi Padi Mentik Wangi

Asal Persilangan	: Mentik Wangi
Golongan	: Cere
Umur Tanaman	: 112-113 hst
Bentuk Tanaman	: Tegak
Tinggi Tanaman	: 106-113 cm
Analisa Produktif	: 15-16
Warna Batang	: Hujau
Warna Daun	: Hijau
Permukaan Daun	: Kasar
Posisi Daun	: Tegak
Bentuk Gabah	: Sedang
Warna Gabah	: Kuning jerami
Kerontokan	: Tahan rontok
Kerebahana	: Tahan rebah
Tekstur Nasi	: Pulen
Kadar Amilosa	: 20,64%
Bobot 1000 butir	: 21,11-22,51 gram
Rata-rata Hasil	: 4,18 t/ha
Sifat khusus	: Aromatik
Pemulia	: Totok Agung DH dan Suwarto
Sumber	: (Ganesatria, 2010)

Lampiran 4. Deskripsi Padi Mentik Wangi Susu

Golongan	: Cere
Umur Tanaman	: 140 hari
Bentuk Tanaman	: Tegak
Tinggi Tanaman	: 123-125 hst
Anakan Produktif	: 15-15
Kereahanan	: Agak tahan
Batang	: Warna Hijau
Permukaan Daun	: Halus
Panjang Gabah	: 0,7-0,8 cm
Lebar Gabah	: 0,2 cm
Kerontokan	: Mudah rontok
Tekstur nasi	: Pulen
Kadar amilosa	: 16,36%
Bobot 1000 butir	: 22,3 gram
Rata-rata hasil	: 5 ton/Ha
Potensi hasil	: 7 ton/Ha
Warna beras	: Putih susu
Sumber	: PVTP 2011

Lampiran 5. Data Hasil Analisis Ragam

1. Daya Pembentukan Spot Hijau

Minggu ke-1

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Ratarata
MWS	V1	100%	70%	100%	270%	90%
	V2	82%	80%	90%	252%	84%
	V3	70%	80%	90%	240%	80%
	V4	100%	90%	100%	290%	97%
	V5	100%	100%	100%	300%	100%
MW	V1	70%	20%	33%	123%	41%
	V2	20%	30%	13%	63%	21%
	V3	20%	36%	70%	126%	42%
	V4	60%	60%	60%	180%	60%
	V5	80%	50%	50%	180%	60%
Tarabas	V1	67%	78%	70%	214%	71%
	V2	40%	50%	50%	140%	47%
	V3	50%	80%	40%	170%	57%
	V4	60%	70%	50%	180%	60%
	V5	60%	40%	56%	156%	52%
Total		978%	934%	971%	2884%	
Ratarata					64%	

Tabel 2 Arah (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	270%	252%	240%	290%	300%	1352%
MW	123%	63%	126%	180%	180%	672%
Tarabas	214%	140%	170%	180%	156%	860%
Total	608%	454%	536%	650%	636%	2884%

Tabel 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Ratarata
MWS	90%	84%	80%	97%	100%	90,12%
MW	41%	21%	42%	60%	60%	44,81%
Tarabas	71%	47%	57%	60%	52%	57,33%
Ratarata	68%	50%	60%	72%	71%	64,09%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
Perlakuan	14	2,15	0,15	8,03	2,04	2,74	**
L	2	1,64	0,82	42,94	3,32	5,39	**
V	4	0,29	0,07	3,84	2,69	4,02	NS
LV	8	0,21	0,03	1,40	2,27	3,17	NS
GALAT	30	0,57	0,02				
TOTAL	44	2,72					
CV	0,17						

Minggu ke-2

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Ratarata
MWS	V1	100%	90%	100%	290%	97%
	V2	100%	90%	90%	280%	93%
	V3	90%	90%	100%	280%	93%
	V4	100%	100%	100%	300%	100%
	V5	100%	100%	100%	300%	100%
MW	V1	30%	0%	0%	30%	10%
	V2	0%	25%	0%	25%	8%
	V3	0%	27%	10%	37%	12%
	V4	0%	30%	30%	60%	20%
	V5	60%	0%	10%	70%	23%
Tarabas	V1	100%	100%	90%	290%	97%
	V2	50%	100%	100%	250%	83%
	V3	80%	90%	70%	240%	80%
	V4	80%	90%	60%	230%	77%
	V5	70%	70%	90%	230%	77%
	Total				2912%	
	Ratarata				65%	

Tabel 2 Arah (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	290%	280%	280%	300%	300%	1450%
MW	30%	25%	37%	60%	70%	222%
Tarabas	290%	250%	240%	230%	230%	1240%
Total	610%	555%	557%	590%	600%	2912%

Total 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Ratarata
MWS	97%	93%	93%	100%	100%	96,67%
MW	10%	8%	12%	20%	23%	14,82%
Tarabas	97%	83%	80%	77%	77%	82,67%
Ratarata	68%	62%	62%	66%	67%	65%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
PERLAKUAN	14	5,90	0,42	18,23	2,04	2,74	**
L	2	5,75	2,87	124,43	3,32	5,39	**
V	4	0,03	0,01	0,30	2,69	4,02	ns
LV	8	0,12	0,01	0,64	2,27	3,17	ns
GALAT	30	0,69	0,02				
TOTAL	44	6,59					
CV	5,29						

Minggu ke-3

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Ratarata
MWS	V1	100%	100%	100%	300%	100%
	V2	100%	100%	90%	290%	97%
	V3	90%	90%	90%	270%	90%
	V4	100%	100%	100%	300%	100%
	V5	100%	100%	100%	300%	100%
MW	V1	30%	0%	0%	30%	10%
	V2	0%	0%	0%	0%	0%
	V3	0%	27%	10%	37%	12%
	V4	0%	30%	20%	50%	17%
	V5	0%	0%	10%	10%	3%
Tarabas	V1	100%	100%	100%	300%	100%
	V2	80%	100%	100%	280%	93%
	V3	100%	100%	90%	290%	97%
	V4	90%	90%	70%	250%	83%
	V5	80%	90%	100%	270%	90%
	Total				2977%	
	Ratarata				66%	

Tabel 2 Arah (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	300%	290%	270%	300%	300%	1460%
MW	30%	0%	37%	50%	10%	127%
Tarabas	300%	280%	290%	250%	270%	1390%
Total	63 0%	570%	597%	600%	580%	2977%

Tabel 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Ratarata
MWS	100%	97%	90%	100%	100%	97%
MW	10%	0%	12%	17%	3%	8%
Tarabas	100%	93%	97%	83%	90%	93%
Ratarata	70%	63%	66%	67%	64%	66%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
PERLAKUAN	14	7,63	0,54	68,66	2,04	2,74	**
L	2	7,50	3,75	472,62	3,32	5,39	**
V	4	0,02	0,01	0,74	2,69	4,02	NS
LV	8	0,10	0,01	1,63	2,27	3,17	NS
GALAT	30	0,24	0,01				
TOTAL	44	7,87					
CV		9,13					

2. Daya Regenerasi Kalus

Minggu ke-4

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Rata-rata
MWS	V1	20%	10%	0%	30%	10%
	V2	0%	0%	10%	10%	3%
	V3	30%	20%	10%	60%	20%
	V4	20%	0%	10%	30%	10%
	V5	20%	0%	0%	20%	7%
MW	V1	0%	0%	0%	0%	0%
	V2	0%	0%	0%	0%	0%
	V3	0%	0%	0%	0%	0%
	V4	0%	0%	0%	0%	0%
	V5	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	V1	11%	22%	22%	56%	19%
	V2	30%	10%	30%	70%	23%
	V3	10%	30%	30%	70%	23%
	V4	20%	20%	0%	40%	13%
	V5	0%	20%	11%	31%	10%
				Total	417%	
				Rata	9%	

Tabel 2 Arah (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	30%	3%	60%	30%	20%	143%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	56%	70%	70%	40%	31%	267%
Total	86%	73%	130%	70%	51%	410%

Tabel 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	10%	3%	20%	10%	7%	50%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	19%	23%	23%	13%	10%	88,89%
Total	29%	27%	43%	23%	17%	139%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
PERLAKUAN	14	0,33	0,02	3,46	2,04	2,74	**
L	2	0,23	0,11	16,75	3,32	5,39	**
V	4	0,03	0,01	0,99	2,69	4,02	ns
LV	8	0,07	0,01	1,38	2,27	3,17	ns
GALAT	30	0,20	0,01				
TOTAL	44	0,53					
CV	3,16						

Minggu ke-5

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Ratarata
MWS	V1	20%	10%	10%	40%	13%
	V2	0%	0%	10%	10%	3%
	V3	50%	30%	20%	100%	33%
	V4	30%	0%	20%	50%	17%
	V5	30%	0%	0%	30%	10%
MW	V1	0%	0%	0%	0%	0%
	V2	0%	0%	0%	0%	0%
	V3	0%	0%	0%	0%	0%
	V4	0%	0%	0%	0%	0%
	V5	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	V1	67%	67%	78%	211%	70%
	V2	100%	60%	70%	230%	77%
	V3	90%	90%	80%	260%	87%
	V4	60%	60%	50%	170%	57%
	V5	70%	80%	80%	230%	77%
			Total	1331%		
			Ratarata	30%		

Tabel 2 Arah (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	40%	10%	100%	50%	30%	230%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	211%	230%	260%	170%	230%	1101%
Total	251%	240%	360%	220%	260%	1331%

Tabel 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Ratarata
MWS	13%	3%	33%	17%	10%	15,33%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	70%	77%	87%	57%	77%	73,41%
Total	27,90%	26,67%	40%	24,44%	28,89%	30%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
PERLAKUAN	14	4,79	0,34	36,49	2,04	2,74	**
L	2	4,50	2,25	239,64	3,32	5,39	**
V	4	0,13	0,03	3,52	2,69	4,02	*
LV	8	0,16	0,02	2,19	2,27	3,17	NS
GALAT	30	0,28	0,01				
TOTAL	44	5,08					

Minggu ke-6

Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Ratarata
MWS	V1	20%	20%	20%	60%	20%
	V2	0%	0%	10%	10%	3%
	V3	60%	30%	20%	110%	37%
	V4	70%	0%	30%	100%	33%
	V5	40%	0%	0%	40%	13%
MW	V1	0%	0%	0%	0%	0%
	V2	0%	0%	0%	0%	0%
	V3	0%	0%	0%	0%	0%
	V4	0%	0%	0%	0%	0%
	V5	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	V1	89%	89%	89%	267%	89%
	V2	100%	90%	100%	290%	97%
	V3	100%	100%	100%	300%	100%
	V4	80%	80%	60%	220%	73%
	V5	80%	90%	90%	260%	87%
	Total				1657%	
	Ratarata				37%	

Tabel 2 Arath (Total)

	V1	V2	V3	V4	V5	Total
MWS	60%	10%	110%	100%	40%	320%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	267%	290%	300%	220%	260%	1337%
Total	327%	300%	410%	320%	300%	1657%

Tabel 2 Arah (Rata-rata)

	V1	V2	V3	V4	V5	Ratarata
MWS	20%	3%	37%	33%	13%	107%
MW	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Tarabas	89%	97%	100%	73%	87%	446%
Ratarata	109%	100%	137%	107%	100%	552%

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	NOTASI
PERLAKUAN	14	6,85	0,49	30,18	2,04	2,74	**
L	2	6,49	3,25	200,18	3,32	5,39	**
V	4	0,09	0,02	1,42	2,69	4,02	*
LV	8	0,27	0,03	2,06	2,27	3,17	*
GALAT	30	0,49	0,02				
TOTAL	44	7,34					
CV	4,76						

Lampiran 6. Data Hasil Uji DMRT taraf 5%

1. Daya Pembentukan Spot Hijau

Minggu ke-1

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

p	2	3
Sd	0,06	0,06
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,18	0,19

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal varietas

No	Varietas	Rata-rata	L1		L3		L2		Notasi
			0,90		0,57		0,45		
1	L1	0,90	0,00	ns					a
2	L3	0,57	0,33	*	0,00	ns			b
3	L2	0,45	0,45	*	0,13	ns	0,00	ns	b

UJD
5%
p

Minggu ke-2

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

P	2	3
Sd	0,07	0,07
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,20	0,21

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal varietas

No	Varietas	Rata-rata	L1		L3		L2		Notasi
			0,97		0,83		0,15		
1	L1	0,97	0,00	ns	0,00				a
2	L3	0,83	0,14	ns	0,00	ns			a
3	L2	0,15	0,82	*	0,68	*	0,00	ns	b

Minggu ke-3

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

P	2	3
Sd	0,04	0,04
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,11	0,12

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal varietas

No	Varietas	Ratarata	L1		L3		L2		Notasi
		0,97			0,93		0,08		
1	L1	0,97	0,00	ns					a
2	L3	0,93	0,05	ns	0,00	ns			a
3	L2	0,08	0,89	*	0,84	*	0,00	ns	b

UJD
5% 0,11 0,12
p 2 3

2. Daya Regenerasi Kalus

Minggu ke-4

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

p	2	3
Sd varietas	0,04	0,04
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,11	0,11

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal varietas

No	Varietas	Rata-rata	L1		L3		L2		Notasi
		0,89			1		0		
1	L1	0,89	0,00	ns					a
2	L3	1	0,39	*	0,00	ns			b
3	L2	0	0,89	*	0,50	*	0,00	ns	c

UJD
5% 0,11 0,11
p 2 3

Minggu ke-5

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

P	2	3
Sd	0,04	0,04
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,12	0,13

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal varietas

No	Varietas	Rata-rata	L3		L2		L1		Notasi
			0,73		0		0		
1	L3	0,73	0,00	ns					a
2	L1	0,15	0,58	*	0,00	ns			b
3	L2	0	0,60	*	0,02	ns	0,00	ns	b

UJD
5%
p 0,12 0,13
 2 3

Nilai UJD 5% terhadap Perlakuan

p	2	3	4	5
sd	0,06	0,06	0,06	0,06
ssr (α, p, v)	2,88	3,03	3,13	3,2
UJD	0,16	0,17	0,18	0,18

Pengujian pengaruh utama faktor tunggal perlakuan

No	Perlakuan	Rata-rata	V3		V5		V1		V2		V4		Notasi
			0,40		0,29		0,28		0,27		0,24		
1	V3	0,40	0,00	ns									a
2	V5	0,29	0,11	ns	0,00	ns							a
3	V1	0,28	0,12	ns	0,01	ns	0,00	ns					a
4	V2	0,27	0,13	ns	0,02	ns	0,01	ns	0,00	ns			a
5	V4	0,24	0,16	*	0,05	ns	0,04	ns	0,03	ns	0,00	ns	b

UJD 5% p	0,161 2	0,17 3	0,18 4	0,18 5
----------------	------------	-----------	-----------	-----------

Minggu ke-6

Nilai UJD 5% terhadap Varietas

P	2	3
Sd	0,06	0,06
ssr (α, p, v)	2,88	3,03
UJD	0,16	0,17

Nilai UJD 5% terhadap Konsentrasi

P	2	3	4	5
Sd	0,07	0,07	0,07	0,07
ssr (α, p, v)	2,88	3,03	3,13	3,2
UJD	0,21	0,22	0,23	0,23

A. Pengujian pengaruh sederhana faktor varietas (L) pada taraf V1 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V1 0,89	L1V1 0,20	L2V1 0,00	NOTASI
1	L3V1	0,89	0 NS			A
2	L1V1	0,20	0,69 * 0 NS			B
3	L2V1	0,00	0,89 * 0,20 * 0 NS			C
			UJD 5% P	0,16 2	0,17 3	

B. Pengaruh pengujian sederhana faktor varietas (L) pada taraf V2 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V1 0,97	L1V1 0,03	L2V1 0,00	NOTASI
1	L3V1	0,97	0 NS			A
2	L1V1	0,03	0,93 * 0 NS			B
3	L2V1	0,00	0,97 * 0,03 NS 0 NS			B
			UJD 5% P	0,16 2	0,20 3	

C. Pengaruh pengujian sederhana faktor varietas (L) pada taraf V3 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V1 1,00	L1V1 0,37	L2V1 0,00	NOTASI
1	L3V1	1,00	0 NS			A
2	L1V1	0,37	0,63 * NS			B
3	L2V1	0,00	1,00 * NS	0,37 *	0 NS	C
			UJD 5% P	0,16 2	0,20 3	

D. Pengaruh pengujian sederhana faktor varietas (L) pada taraf V3 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V1 0,73	L1V1 0,33	L2V1 0,00	NOTASI
1	L3V1	0,73	0 NS			A
2	L1V1	0,33	0,40 * NS			B
3	L2V1	0,00	0,73 * NS	0,33 *	0 NS	C
			UJD 5% P	0,16 2	0,20 3	

E. Pengaruh pengujian sederhana faktor varietas (L) pada taraf V3 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V1 0,87	L1V1 0,13	L2V1 0,00	NOTASI
1	L3V1	0,87	0 NS			A
2	L1V1	0,13	0,73 * NS			B
3	L2V1	0,00	0,87 * NS	0,13 NS	0 NS	B
			UJD 5% P	0,16 2	0,20 3	

F. Pengujian pengaruh sederhana faktor perlakuan (V) pada taraf L1 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L1V3 0,37	L1V4 0,33	L1V5 0,20	L1V1 0	L1V2 0,03	Notasi
1	L1V3	0,37	0 NS					a
2	L1V4	0,33	0,03 NS	0 NS				a
3	L1V5	0,20	0,17 NS	0,13 NS	0,00 NS			a
4	L1V1	0	0,23 * NS	0,20 * NS	0,07 NS	0 NS		b
5	L1V2	0,03	0,33 * NS	0,30 * NS	0,17 NS	0,10 NS	0 NS	b
			UJD 5%	0,2	0,2	0,2	0,2	

G. Pengujian pengaruh sederhana faktor perlakuan (V) pada taraf L2 yang sama

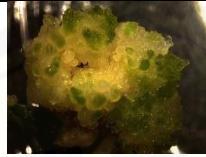
No.	Perlakuan	RATA2	L2V1 0,00	L2V2 0,00	L2V3 0,00	L2V4 0	L2V5 0,00	
1	L2V1	0,00	0 NS					a
2	L2V2	0,00	0,00 NS	0 NS				a
3	L2V3	0,00	0,00 NS	0,00 NS	0,00 NS			a
4	L2V4	0	0,00 NS	0,00 NS	0,00 NS	0 NS		a
5	L2V5	0,00	0,00 NS	0,00 NS	0,00 NS	0,00 NS	0 NS	a
UJD 5%			0,2	0,2	0,2	0,2		
P			2	3	4	5		

H. Pengujian pengaruh sederhana faktor perlakuan (V) pada taraf L3 yang sama

No.	Perlakuan	RATA2	L3V3 1,00	L3V2 0,97	L3V1 0,89	L3V5 0,87	L3V4 0,73	
1	L3V3	1,00	0 NS					a
2	L3V2	0,97	0,03 NS	0 NS				a
3	L3V1	0,89	0,11 NS	0,08 NS	0,00 NS			a
4	L3V5	0,87	0,13 NS	0,10 NS	0,02 NS	0 NS		a
5	L3V4	0,73	0,27 * NS	0,23 NS	0,16 NS	0,13 NS	0 NS	b
UJD 5%			0,2	0,2	0,2	0,2		
P			2	3	4	5		

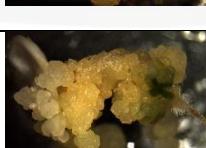
Lampiran 7. Gambar dan Data Skoring Spot Hijau Kalus

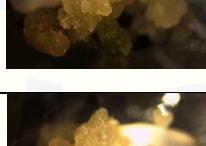
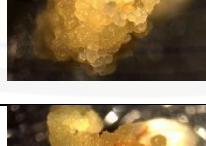
Minggu ke-3

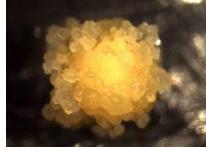
Perlakuan-ulangan	Visualisasi kalus	Skor Pembentukan Spot Hijau
L1V1-1		3
L1V1-2		3
L1V1-3		3
L1V2-1		2
L1V2-2		3
L1V2-3		2
L1V3-1		3
L1V3-2		2

L1V3-3		2
L1V4-1		3
L1V4-2		2
L1V4-3		2
L1V5-1		1
L1V5-2		1
L1V5-3		1
L2V1-1		1
L2V1-2		1

L2V1-3		0
L2V2-1		0
L2V2-2		1
L2V2-3		0
L2V3-1		0
L2V3-2		1
L2V3-3		1
L2V4-1		1
L2V4-2		0

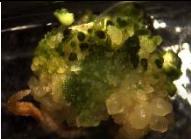
L2V4-3		0
L2V5-1		1
L2V5-2		1
L2V5-3		0
L3V1-1		0
L3V1-2		1
L3V1-3		1
L3V2-1		1
L3V2-2		1

L3V2-3		1
L3V3-1		1
L3V3-2		1
L3V3-3		1
L3V4-1		1
L3V4-2		1
L3V4-3		1
L3V5-1		1
L3V5-2		1

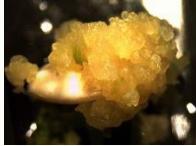
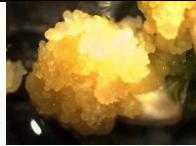
L3V5-3		1
--------	---	---

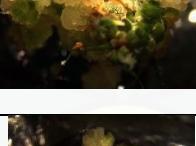
Minggu ke-4

Perlakuan-ulangan	Visualisasi kalus	Skor Pembentukan Spot Hijau
L1V1-1		4
L1V1-2		4
L1V1-3		4
L1V2-1		4
L1V2-2		4
L1V2-3		2
L1V3-1		2
L1V3-2		3

L1V3-3		2
L1V4-1		3
L1V4-2		3
L1V4-3		2
L1V5-1		2
L1V5-2		2
L1V5-3		3
L2V1-1		2
L2V1-2		1
L2V1-3		0

L2V2-1		0
L2V2-2		1
L2V2-3		0
L2V3-1		0
L2V3-2		2
L2V3-3		0
L2V4-1		0
L2V4-2		1
L2V4-3		1
L2V5-1		0

L2V5-2		0
L2V5-3		0
L3V1-1		1
L3V1-2		2
L3V1-3		1
L3V2-1		1
L3V2-2		2
L3V2-3		1
L3V3-1		2
L3V3-2		2

L3V3-3		2
L3V4-1		2
L3V4-2		2
L3V4-3		2
L3V5-1		1
L3V5-2		2
L3V5-3		2

Minggu ke-5

Perlakuan-ulangan	Visualisasi kalus	Skor Pembentukan Spot Hijau
L1V1-1		5
L1V1-2		5
L1V1-3		4
L1V2-1		5
L1V2-2		5
L1V2-3		3
L1V3-1		3
L1V3-2		5

L1V3-3		5
L1V4-1		5
L1V4-2		4
L1V4-3		5
L1V5-1		5
L1V5-2		5
L1V5-3		5
L2V1-1		2
L2V1-2		1

L2V1-3		0
L2V2-1		0
L2V2-2		0
L2V2-3		0
L2V3-1		0
L2V3-2		0
L2V3-3		0
L2V4-1		1
L2V4-2		1

L2V4-3		0
L2V5-1		0
L2V5-2		0
L2V5-3		0
L3V1-1		3
L3V1-2		4
L3V1-3		3
L3V2-1		3
L3V2-2		4

L3V2-3		4
L3V3-1		4
L3V3-2		3
L3V3-3		3
L3V4-1		2
L3V4-2		3
L3V4-3		3
L3V5-1		1
L3V5-2		4

L3V5-3		4
--------	---	---

