



**PENGARUH PENGGUNAAN SUMBER KARBON YANG BERBEDA  
TERHADAP DAYA REGENERASI KALUS PADI MENTIK WANGI,  
MENTIK WANGI SUSU DAN PADI TARABAS**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**CHRISTINE SEMBIRING**

**NIM 171510501205**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**PENGARUH PENGGUNAAN SUMBER KARBON YANG BERBEDA  
TERHADAP DAYA REGENERASI KALUS PADI MENTIK WANGI,  
MENTIK WANGI SUSU DAN PADI TARABAS**

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**CHRISTINE SEMBIRING**

**NIM 171510501205**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

## PERSEMBAHAN

Dengan Puji Syukur atas Kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, saya persembahkan karya tulis ini kepada:

1. Kedua orang tua saya Ayahanda tercinta Bapak Metehsa Sembiring dan Ibunda tercinta Marlina br Singarimbun
2. Saudara kandung saya Masana Frininta Sembiring dan Again Ari Sandi Sembiring yang telah memberikan dukungan terhadap kakaknya 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**

“Hendaklah pinggangmu tetap terikat dan pelitamu tetap menyala.”

(Lukas 12 : 35)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Christine Sembiring

NIM : 171510501205

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi berjudul **“Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon Yang Berbeda Terhadap Daya Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu Dan Padi Tarabas”** 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, 18 Agustus 2020

Yang menyatakan

Christine Sembiring

NIM. 171510501205

**SKRIPSI**

**PENGARUH PENGGUNAAN SUMBER KARBON YANG BERBEDA  
TERHADAP DAYA REGENERASI KALUS PADI MENTIK WANGI,  
MENTIK WANGI SUSU DAN PADI TARABAS**

Oleh :

**Christine Sembiring**  
**NIM. 171510501205**

**Pembimbing :**

Pembimbing Skripsi : **Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D**  
**NIP. 198102042015041001**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “**Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon Yang Berbeda Terhadap Daya Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu Dan Padi Tarabas**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 19 Agustus 2020

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Skripsi,**

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

**NIP. 198102042015041001**

**Dosen Penguji Utama,**

**Dosen Penguji Anggota,**

**Ir. Hari Purnomo, M.Si, Ph. D, DIC**

**NIP. 196606301990031002**

**Dr. Ir.Parawita Dewanti, M.P**

**NIP. 196504251990022002**

**Mengesahkan,**

**Dekan**

**Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D**

**NIP. 196005061987021001**

## RINGKASAN

**Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon Yang Berbeda Terhadap Daya Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu Dan Padi Tarabas**, Christine Sembiring; 171510501205; 2020; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik yang dilibatkan dalam pelaksanaan transformasi genetik dalam bioteknologi. Salah satu faktor terpenting yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah komposisi media kultur, salah satunya sumber karbon. Penggunaan sumber karbon yang berbeda telah diketahui memberikan pengaruh terhadap induksi dan regenerasi kalus pada kultur jaringan tanaman padi. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilaksanakan untuk mencari jenis sumber karbon terbaik bagi pembentukan kalus dan tingkat pada padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor. Faktor pertama adalah varietas padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas. Faktor kedua adalah jenis karbon yaitu glukosa, sukrosa dan maltosa. Data yang diperoleh kemudian dianalisis analisis varian anova dengan uji Fisher, kemudian diuji lanjut dengan DMRT (Uji Jarak Berganda Duncan) taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa padi Tarabas memiliki daya regenerasi terbaik dibandingkan dengan padi Mentik Wangi dan Mentik wangi susu pada semua kombinasi perlakuan. Jenis karbon maltosa memberikan hasil daya regenerasi terbaik pada varites padi padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas.

**Kata Kunci:** Kalus, Karbon, Sukrosa



## SUMMARY

**Effect Of Different Carbon Sources For Callus Regeneration Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu And Tarabas Rice, Christine Sembiring,** Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture, University of Jember Kalimantan Street No. 37, Tegal Boto Campus, Jember 68121

Tissue culture is one of the techniques involved in implementing genetic transformation in biotechnology. One of the determining factors that determine tissue culture is media culture, one of which is a carbon source. The use of different carbon sources has been known to have an effect on callus induction and regeneration in tissue culture of rice plants. Based on this, this research was conducted to find the best type of carbon source for callus ordering and levels in Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu and Tarabas rice. This research was conducted using a completely randomized design (CRD) 2 factors. The first factor is the rice varieties Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu and Tarabas. The second factor is the type of carbon, namely glucose, sucrose and maltose. The data obtained were analyzed by analysis of variance with Fisher's Test, then further tested with DMRT (Duncan's Multiple Range Test) at 5% level. The results showed that Tarabas rice had the best regeneration power compared to Mentik Wangi and Mentik fragrant milk in all treatment combinations. The type of maltose carbon gave the best regeneration power in the rice varieties of Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu and Tarabas.

Keywords: Callus, Carbon, Sucrose

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon Yang Berbeda Terhadap Daya Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu Dan Padi Tarabas” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

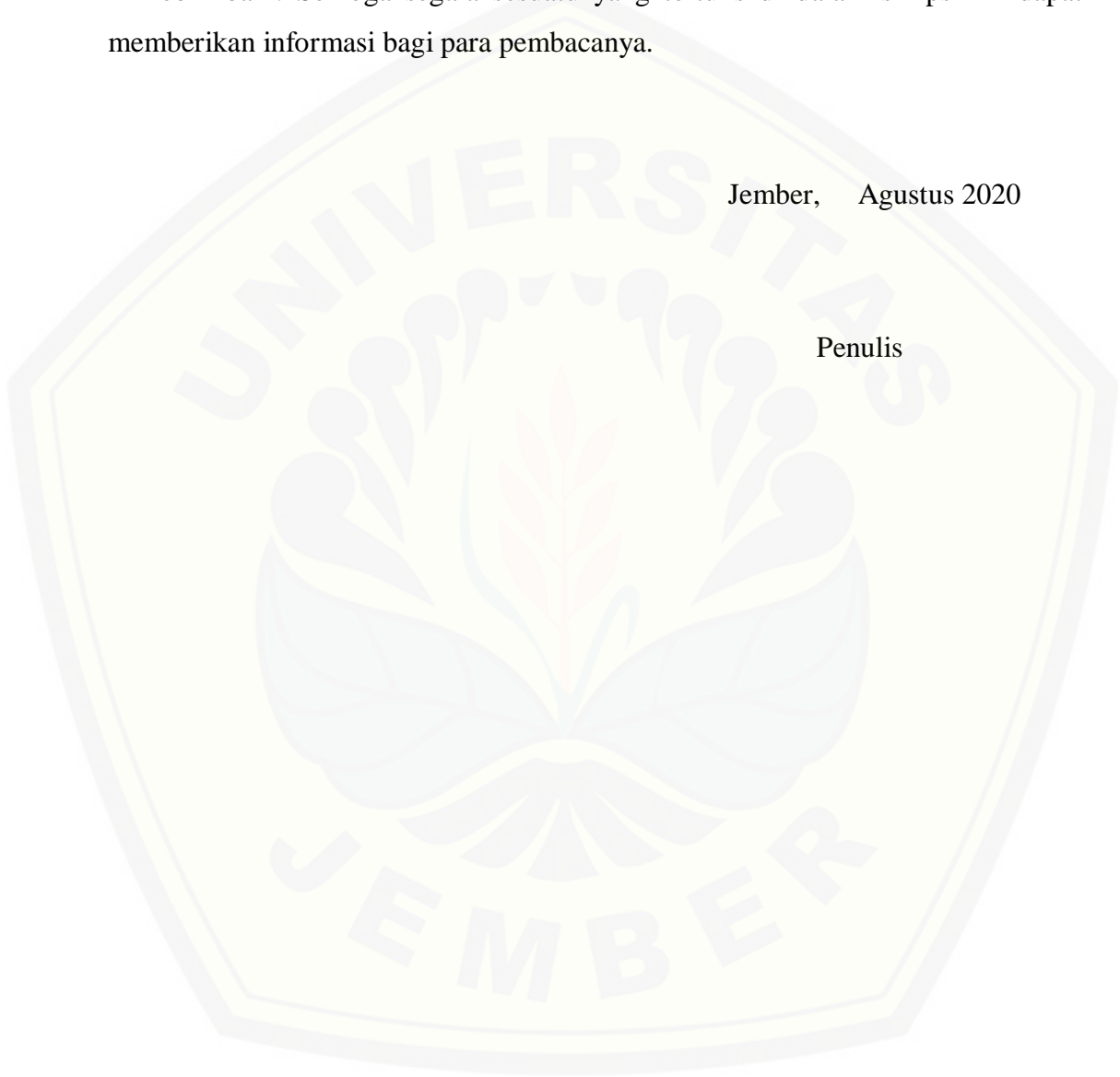
Penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada :

1. Kedua orang tua saya tercinta Ayahanda Metehsa Sembiring dan Ibunda Marlina br Singarimbun yang telah memberikan doa, semangat, motivasi serta dukungan hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC, selaku Koordinator Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah membimbing dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi.
5. Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P selaku Dosen Penguji I dan Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Dosen Penguji II yang telah membimbing dan memberikan saran selama penyelesaian skripsi ini.
6. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan.
7. Sahabat-sahabatku Bangkit, Ari Firnanda, Kizah, Hesti yang telah memberi semangat motivasi, saran, kritik serta do'a terhadap penulis.
8. Teman-teman seperjuangan di jurusan Agroteknologi 2016, 2017 dan 2018
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu oleh penulis.

Penulis telah berusaha menyelesaikan tanggung jawabnya dalam penulisan skripsi ini dengan sabaik-baiknya. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karenanya penulis berharap adanya saran dan kritik yang sifatnya membangun sehingga menjadikan penulisan skripsi ini lebih baik. Semoga segala sesuatu yang tertulis di dalam skripsi ini dapat memberikan informasi bagi para pembacanya.

Jember, Agustus 2020

Penulis



**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Tanaman Padi .....	4
2.2 Kalus .....	5
2.3 Media Kultur.....	6
2.4 Sumber Karbon.....	7
2.5 Hipotesis .....	9
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>10</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	10
3.2 Persiapan Penelitian .....	10
3.2.1 Alat .....	10
3.2.2 Bahan .....	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	10
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	11
3.3.2 Prosedur Penelitian.....	11
3.3.3 Variabel Pengamatan.....	14
3.4 Analisis Data.....	15

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>16</b>
4.1 Hasil .....	16
4.1.1 Hasil Analisis Ragam .....	16
4.1.2 Daya Pembentukan Kalus .....	17
4.1.3 Kalus Embriogenik.....	18
4.1.4 Daya Pembentukan Spot Hijau .....	20
4.1.5 Daya Regenerasi Kalus.....	22
4.2 Pembahasan .....	25
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>29</b>
5.1 Kesimpulan.....	29
5.2 Saran.....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>33</b>

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Kalus Embriogenik dan Kalus Non-Embriogenik.....6

Gambar 2.2 Daya Induksi dan Regenerasi Kalus Padi dengan Beberapa Sumber Karbon yang Berbeda .....9

Gambar 4.1 Induksi Kalus Padi Varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas dengan Perlakuan Sumber Karbon yang Berbeda .....18

Gambar 4.2 Pembentukan Kalus Embriogenik Padi Varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas dengan Perlakuan Sumber Karbon yang Berbeda.....19

Gambar 4.3 Kenampakan Kalus Embriogenik Padi Varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas dengan Perlakuan Sumber Karbon yang Berbeda.....20

Gambar 4.4 Pengaruh Faktor Tunggal Jenis Varietas Terhadap Pembentukan Spot Hijau Kalus .....21

Gambar 4.5 Pengaruh Faktor Tunggal Sumber Karbon Terhadap Pembentukan Spot Hijau Kalus.....21

Gambar 4.6 Pengaruh Faktor Tunggal Jenis Varietas Terhadap Daya Regenerasi Kalus .....22

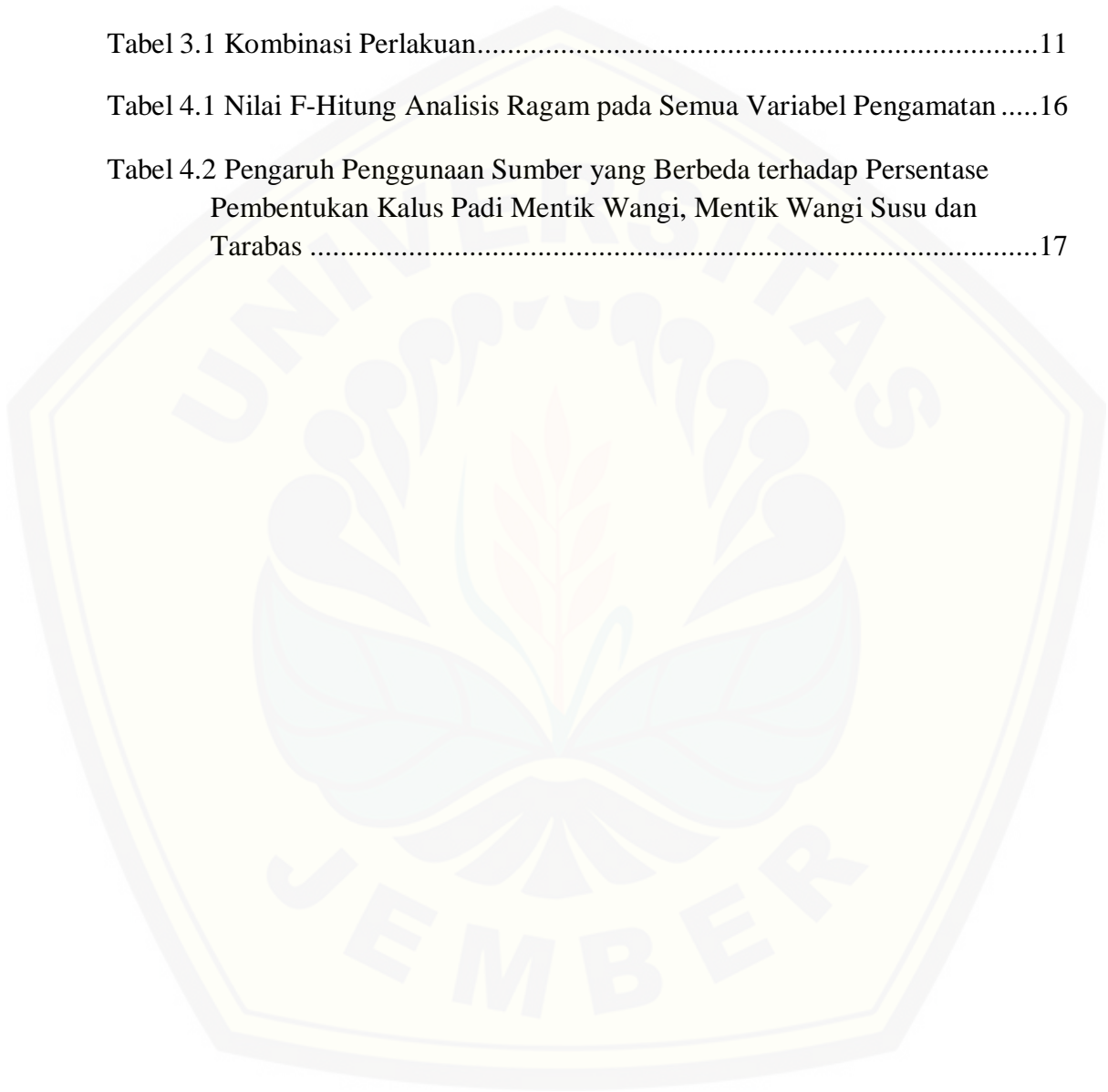
Gambar 4.7 Pengaruh Faktor Tunggal Jenis Varietas Terhadap Daya Regenerasi Kalus .....23

Gambar 4.8 Kenampakan Regenerasi Kalus pada Minggu ke-6.....24

Gambar 4.9 Kenampakan Pembentukan Spot Hijau dan Daya Regenerasi Kalus Padi Varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas dengan Perlakuan Sumber Karbon yang Berbeda .....25

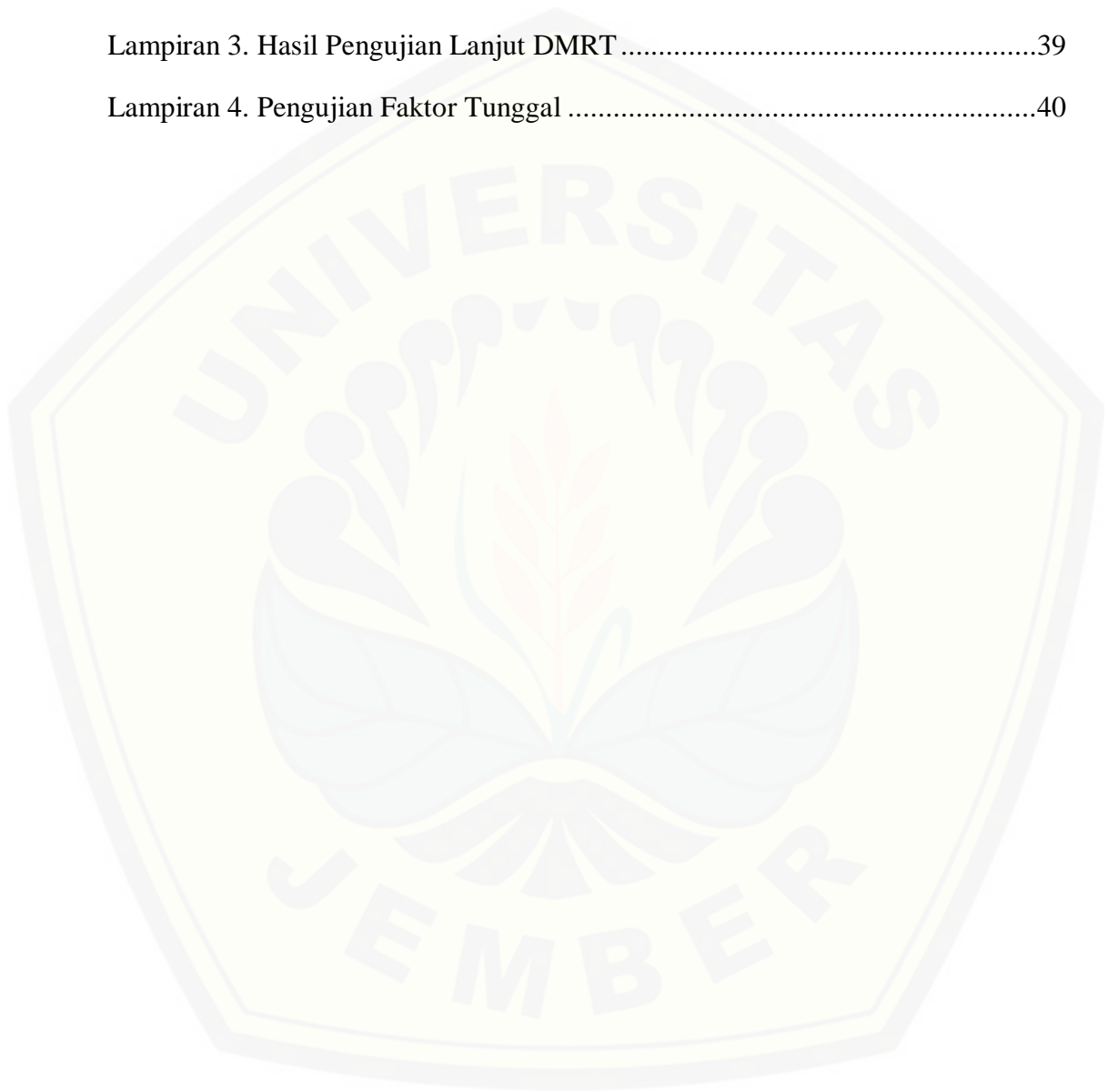
**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Perbedaan Subspesies Indica, Javanica dan Japonica .....	4
Tabel 2.2 Komposisi Medium N6 .....	7
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan.....	11
Tabel 4.1 Nilai F-Hitung Analisis Ragam pada Semua Variabel Pengamatan .....	16
Tabel 4.2 Pengaruh Penggunaan Sumber yang Berbeda terhadap Persentase Pembentukan Kalus Padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas .....	17



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian.....	33
Lampiran 2. Pengujian Analisis Ragam.....	36
Lampiran 3. Hasil Pengujian Lanjut DMRT.....	39
Lampiran 4. Pengujian Faktor Tunggal .....	40





## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Padi merupakan salah satu tanaman pangan yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik (2018) konsumsi beras di Indonesia mencapai 111,28 kg/kapita/tahun. Tingginya konsumsi beras di Indonesia mendorong perlu adanya upaya-upaya dalam peningkatan kualitas padi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu transformasi genetik dalam bioteknologi. Bioteknologi merupakan upaya transformasi genetik modern secara yang didapat digunakan dalam perbaikan sifat tanaman padi (Yaqoob *et al.*, 2016). Proses tranformasi genetik padi dalam bioteknologi memerlukan jenis tanaman yang memiliki tingkat regenerasi yang tinggi. Jenis padi yang umumnya dibudidayakan dan digunakan sebagai objek transformasi di Indonesia adalah jenis padi indica, japonica dan javanica.

Pada umumnya, padi subspecies indica memiliki tingkat regenerasi yang lebih rendah dibandingkan dengan japonica. Padi indica mempunyai kemampuan pembentukan kalus yang rendah yaitu sebesar 49-60% (Zaidi, 2006) dan daya regenerasinya berkisar 1-5%, sedangkan padi japonica mempunyai daya regenerasi sebesar 82,66% (Santoso dkk., 2005; Sah *et al.*, 2014). Padi subspecies javanica merupakan jenis padi yang memiliki kekerabatan yang dekat dengan padi japonica. Sumadji dkk. (2014) melaporkan bahwa padi javanica memiliki kemampuan membentuk kalus yang lebih tinggi dibandingkan dengan padi indica. Padi javanica seperti Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu merupakan contoh yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan disukai karena nasinya yang pulen dan wangi. Sedangkan padi Tarabas merupakan varietas baru yang mempunyai karakter beras/nasi seperti japonica, sehingga varietas ini digolongkan pada subspecies japonica.

Kemampuan regenerasi padi subspecies javanica dan japonica yang cukup baik menjadikan padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas sangat berpotensi sebagai obyek penelitian bioteknologi untuk perbaikan sifat maupun

karakterisasi gen melalui pemanfaatan teknik transformasi genetik. Dalam pelaksanaannya, keberhasilan transformasi genetik tanaman padi sangat bergantung pada kondisi optimal teknik kultur jaringan yang diindikasikan dengan tingginya tingkat pembentukan kalus dan kemampuan beregenerasinya. Diantara berbagai faktor yang mempengaruhi induksi dan regenerasi kalus, komposisi media kultur merupakan faktor paling penting yang mendukung keberhasilannya (Shabir *et al.*, 2011).

Salah satu komponen media yang cukup mempunyai peranan penting dalam keberhasilan adalah jenis sumber karbon yang digunakan. Senyawa gula yang ditambahkan dengan jumlah tertentu pada media kultur berperan sebagai sumber energi untuk eksplan (Mostafiz dan Wagiran, 2018). Selain itu, gula juga berperan sebagai pengatur tekanan osmotik yang berpengaruh terhadap penyerapan air dan konstituen lainnya (Inayah, 2015). Penggunaan jenis gula yang berbeda pada media telah diketahui memberikan pengaruh signifikan pada kemampuan morfogenetik kalus (Bakry, 2002). Shabir *et al.*, (2011) melaporkan bahwa penggunaan 30g/L sukrosa pada media kultur menghasilkan tingkat induksi kalus tertinggi pada padi japonica varietas Kitaake. Di lain pihak, hasil beberapa penelitian lain juga menunjukkan bahwa penggunaan sukrosa dapat meningkatkan pembentukan etilen yang berimbas pada pencoklatan (*browning*) pada eksplan kalus padi subspecies indica (Zaidi, 2006; Mostafiz dan Wagiran, 2018). Jenis sumber karbon lain yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah maltosa dan glukosa. Zaidi *et al.*, (2006) melaporkan bahwa penggunaan glukosa dapat meningkatkan induksi kalus sampai dengan 58% padi subspecies indica. Sedangkan pada beberapa penelitian lainnya, maltosa telah dilaporkan menghasilkan memberikan hasil induksi dan regenerasi kalus padi yang paling baik dibandingkan dengan sumber karbon yang lainnya (Darachai *et al.*, 2009; Shashavari, 2010, Mostafiz dan Wagiran, 2018).

Beberapa hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa jenis sumber karbon yang digunakan dalam media kultur memiliki peranan penting dalam induksi kalus dan regenerasi padi. Namun sejauh ini belum ada informasi mengenai pengaruh jenis sumber karbon terhadap respon pembentukan kalus dan daya

regenerasi pada padi subspecies japonika dan javanika. Penelitian ini telah dilaksanakan untuk menjawab pertanyaan mengenai pengaruh penggunaan sumber karbon yang berbeda terhadap pembentukan kalus dan daya regenerasinya melalui penggunaan sukrosa, glukosa, dan maltose untuk perlakuan sumber karbon serta penggunaan padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas sebagai perlakuan varietas padi. .

## **1.2 Perumusan Masalah**

Sejauh ini, belum ada informasi mengenai kondisi optimal bagi pembentukan kalus dan daya regenerasi pada beberapa padi varietas lokal unggul Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas. Penggunaan beberapa senyawa gula seperti sukrosa, glukosa, dan maltosa sebagai sumber karbon bagi eksplan berpengaruh terhadap daya regenerasi kalus beberapa varietas padi. Berdasarkan hal tersebut, permasalahan utama dari penelitian ini adalah jenis gula apa yang paling baik untuk digunakan sebagai sumber karbon pada proses pembentukan kalus dan daya regenerasi padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas?

## **1.1 Tujuan Penelitian**

Mengetahui jenis gula yang paling baik untuk proses pembentukan kalus dan regenerasi pada padi varietas Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas.

## **1.2 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian adalah berupa informasi jenis gula yang terbaik untuk sumber energi proses pengkalusan dan regenerasi. Informasi ini dapat memberikan manfaat bagi peneliti untuk merancang kondisi kultur jaringan yang lebih optimal untuk tanaman Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Tarabas.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 1.1 Tanaman Padi

Tanaman padi merupakan golongan tanaman pangan yang diklasifikasikan ke dalam Kingdom Plantae, Divisio *Spermatophyta*, termasuk kedalam Sub divisio *Angiospermae*, dan Kelas *Monocotyledoneae*, Ordo tanaman padi adalah *Poales*, Famili adalah *Graminae* dan Genus adalah *Oryza* Linn, serta Spesiesnya adalah *Oryza sativa* L (Vaughan., 1989). Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) dibedakan menjadi 3 jenis subspecies berdasarkan sifat morfologi dan wilayah adaptasi agroekosistem yang meliputi Subspecies *Indica*, *Japonica* dan *Javanica* (Chang, 1988). Perbedaan antara padi subspecies *Indica*, *Japonica* dan *Javanica* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2.1. Perbedaan subspecies *Indica*, *Japonica* dan *Javanica*.

Faktor pembeda	<i>Indica</i>	<i>Japonica</i>	<i>Javanica</i>
<b>Gabah</b>	Panjang, ramping dan agak pipih	Pendek, agak bulat	Panjang, lebar dan tebal
<b>Daun</b>	Lebar sampai sempit	Sempit	Lebar, kaku
<b>Anakan</b>	Banyak	Sedang	Sedikit
<b>Tinggi Tanaman</b>	Tinggi sampai sedang	Pendek sampai sedang	Tinggi
<b>Kepekaan fotoperiodisme</b>	Beragam	Tidak sampai peka	ada agak peka
<b>Jaringan Tanaman</b>	Lembut	Keras	Keras
<b>Bulu</b>	Kebanyakan tidak berbulu	Ada yang tidak berbulu dan berbulu panjang	Ada yang berbulu panjang dan tidak berbulu

Padi subspecies *Javanica* merupakan jenis padi yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya Bali, Jawa, dan Lombok. Padi *Javanica* contohnya adalah padi Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu. Menurut Kristantini dkk., (2011) padi Mentik Wangi merupakan jenis padi yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat Yogyakarta. Tingkat konsumsi padi Mentik Wangi cukup tinggi karena padi ini memiliki bau yang khas dan rasanya yang pulen. Namun, padi beberapa petani kurang menyukai padi ini dikarenakan umur panen yang cukup lama dan kerebahannya yang mudah roboh (Yunus dkk., 2017).

Padi Mentik Wangi Susu juga merupakan padi yang berasal dari Yogyakarta, tepatnya Magelang. Padi ini memiliki tidak mudah roboh namun memiliki tingkat produksi yang lebih rendah dibandingkan dengan produksi pada umumnya di Indonesia. Padi Mentik wangi Susu memiliki rasa pulen dan lebih lengket dibandingkan dengan beras lokal sehingga disukai oleh masyarakat. Padi ini mempunyai warna padi yang lebih pekat seperti susu jika dibandingkan dengan padi Mentik Wangi (Yunus *et al.*, 2018).

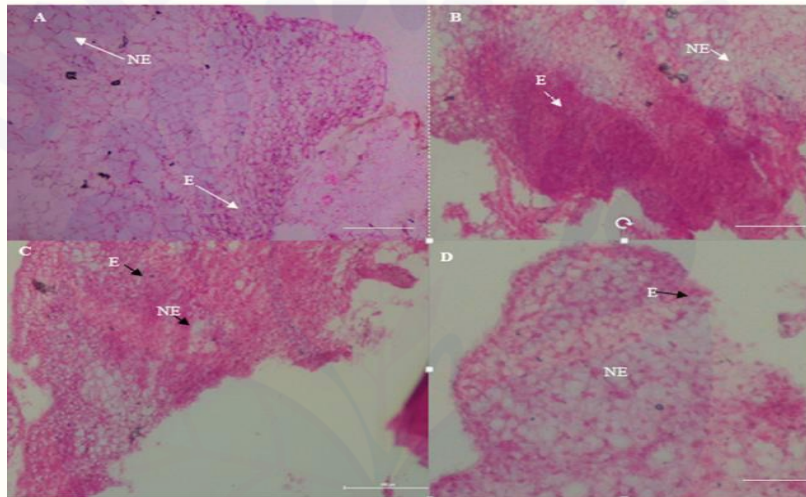
Padi Tarabas merupakan padi subspecies *Japonica* yang bersifat “*Sticky rice*”. Padi ini karena memiliki ketahanan terhadap penyakit tungro dan blast yang sering sekali menjadi permasalahan pada kegiatan budidaya padi pada umumnya. Keunggulan yang dimiliki oleh padi ini menjadikannya dikembangkan secara lebih luas oleh Badan Penelitian Pertanian dan Pemerintah Daerah Jawa Barat. Padi ini memiliki kandungan amilosa sekitar 17,73% (Sasmita, 2019).

## 2.2 Kalus

Kalus merupakan sekumpulan masa sel yang belum terorganisasi yang terjadi pada sel jaringan yang selalu aktif membelah (Kamsinah dkk., 2012). Kalus muncul pada irisan atau permukaan eksplan yang dimulai dengan penebalan eksplan pada bagian yang dipotong atau dilukai (Yelnititis, 2012). Munculnya kalus pada eksplan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media, zat pengatur tumbuh, genotipe dan hormon (Vennapusa *et al.*, 2015).

Kalus yang dihasilkan pada tahapan induksi memiliki berbagai macam tipe, ada kalus yang embriogenik dan ada kalus yang tidak embriogenik. Ciri kalus yang tergolong embriogenik yakni memiliki ciri berstruktur remah (*friable*),

globular (terbentuk nodul-nodul), berwarna putih kekuningan dan bening dan cenderung lebih mudah dipisahkan dengan pinset (Mastuti, 2017). Kalus yang berukuran 1-2 mm dikategorikan baik untuk dipindahkan ke media kultur, sedangkan kalus yang berukuran kurang dari 1 mm akan sulit diregenerasikan dan mempunyai kemungkinan untuk mati (Purnamaningsih, 2006). Kalus yang tidak embriogenik warna kuning total atau coklat terang. Kalus ini juga biasanya mempunyai ukuran yang lebih besar dan ruang antar sel yang lebih lebar dibandingkan dengan kalus embriogenik (Mostafiz dan Wagirin, 2018). Penampakan kalus embriogenik dan non-embriogenik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2.1. Kalus embriogenik dan non-embriogenik.

Sumber :Mostafiz dan Wagirin, 2018)

### 2.3 Media Kultur

Media kultur merupakan salah faktor yang paling menentukan dalam keberhasilan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan bergantung kepada tujuan dan eksplan yang digunakan. Komponen medium kultur jaringan tumbuhan meliputi: garam-garam anorganik, vitamin, asam amino, karbohidrat dan zat pengatur tumbuh. Terdapat berbagai jenis media yang digunakan dalam kultur jaringan seperti Murashige and Skoog (MS), B5, N6 dan beberapa jenis media lainnya yang penggunaannya disesuaikan dengan jenis eksplan yang digunakan. Media N6 merupakan media yang dikembangkan pada tahun 1975.

Media ini adalah media kultur yang khusus dirancang untuk tanaman serelia seperti *Oryza sativa L.* Komposisi Media N6 dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2.2 Komposisi Media N6

Elemen	N6(mg/L)
<b>Elemen makro</b>	
Calcium Chloride (CaCl <sub>2</sub> )	125.340
Pottasium Dyhydrogen Phosphate KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	400
Pottasium Nitrate KNO <sub>3</sub>	2830
Magnesium Sulfate MgSO <sub>4</sub>	180
Ammonium Sulphate NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-
Diammonium Sulphate (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	463
<b>Elemen Mikro</b>	
Cobalt Chloride CoCl 6H <sub>2</sub> O	-
Cuprum Sulfate CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	-
Boric Acid H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.60
Pottasium Iodide KI	0.80
Manganese Sulfate MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	4.40
Sodium Molybdate Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	-
Zinc Sulfate ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1.50
<b>Vitamins</b>	
Glycine C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	2.00
Nicotinic Acid C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	0.50
Pyridoxine C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	0.50
Thiamine C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> CIN <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	1.00
<b>Iron</b>	
Disodium ethylenediaminetetraacetic acid Na <sub>2</sub> EDTA	37.25
Ferrous Sulfate FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27.85
<b>Komponen Pelengkap</b>	
Sukrosa/Maltosa	30
Myo-inositol	100
L-glutamin	500
L-proline	100
Pytagel agar	2000

Sumber : Panjaitan dkk., (2009)

#### 2.4 Sumber Karbon

Komponen media pada kultur jaringan yang cukup penting adalah sumber karbon atau karbohidrat. Karbohidrat merupakan senyawa yang terdiri dari unsur karbon, hidrogen dan oksigen. Karbohidrat digolongkan menjadi 3 bagian berdasarkan hidrolisisnya yaitu monosakarida, disakarida dan polisakarida. Monosakarida merupakan gula paling sederhana yang hanya terdiri dari satu unit gula. Disakarida merupakan molekul yang terdiri dari dua molekul monosakarida,

sedangkan polisakarida adalah rantai panjang yang terdiri dari ratusan atau ribuan unit monosakarida. Glukosa merupakan salah satu contoh monosakarida yang mempunyai rumus atom  $C_6H_{12}O_6$ . Glukosa sering disebut sebagai gula manis dan sering dimanfaatkan sebagai sumber energi. Peranan glukosa dapat kultur jaringan khususnya dalam induksi dan regenerasi kalus telah dilaporkan oleh berbagai peneliti. Zaidi (2006) melaporkan bahwa tingkat induksi kalus padi pada konsentrasi 3 % dan 4% menghasilkan kalus sebesar 49% dan 58% serta daya regenerasinya sebesar 18% dan 21%. Bakry et al.,(2002) melaporkan bahwa glukosa 3% pada media induksi kalus menghasilkan pertumbuhan kalus tomat kedua terbaik setelah sukrosa. Amiri (2011) juga melaporkan bahwa perlakuan glukosa 3% pada media regenerasi menghasilkan pertumbuhan kalus *Datura stramonium* terbaik dibandingkan dengan sukrosa dan maltosa.

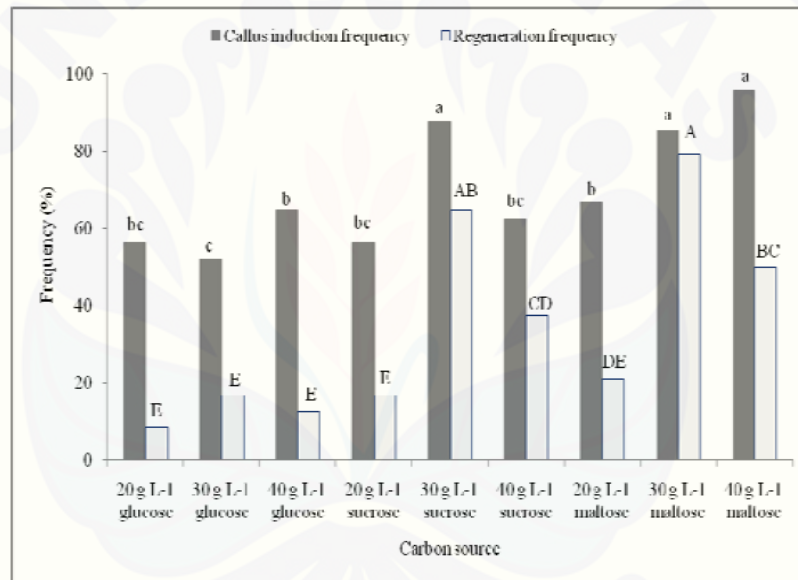
Sukrosa merupakan jenis karbohidrat yang tergolong ke dalam disakarida dan mempunyai rumus molekul  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Sukrosa jika dihidrolisisakan menghasilkan glukosa dan fruktosa. Sukrosa merupakan jenis karbohidrat yang mudah larut dalam air. Dalam kultur jaringan sukrosa merupakan jenis gula yang paling sering digunakan. Penelitian Zaidi, (2006) menyebutkan bahwa sukrosa dengan konsentrasi 3% dapat membentuk kalus padi pada hari 11 setelah induksi. Persentase kalus yang dihasilkan mencapai 53% dan daya regenerasinya mencapai 22%. Shahvasari (2010) juga melaporkan bahwa sukrosa dengan konsentrasi 3% dapat membentuk kalus padi Selasi mencapai lebih dari 80% dan daya regenerasi dapat mencapai lebih dari 60%.

Selain sukrosa, maltosa juga tergolong ke dalam bagian disakarida. Maltosa juga dikenal sebagai gula gandum yang tidak terdapat bebas di alam. Maltosa diperoleh dari hasil analisis glikogen dengan katalis amilase atau amilum dengan katalis amilase. Maltosa memiliki rumus molekul  $C_6H_{12}O_{11}$ . Dalam proses kerja kultur jaringan maltosa juga merupakan salah satu bahan yang sering digunakan karena memberikan hasil yang cukup baik, jika dibandingkan dengan sumber karbon lainnya. Shahvasari (2010) pada penelitiannya di tanaman padi varietas Selasi menghasilkan induksi kalus terbaik. Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Darachai *et al.*, (2009) yang menyatakan bahwa penggunaan maltosa



sebagai sumber karbon memberikan hasil induksi dan regenerasi kalus padi dibandingkan dengan sumber karbon yang lainnya. Mostafiz dan Wagiran, (2018) juga menyebutkan bahwa penggunaan maltose pada media dapat mengontrol produksi fenolik. Produksi fenolik yang berlebih dapat menyebabkan kematian pada sel.

Sumber karbon dalam media kultur jaringan memiliki peranan penting karena sumber karbon merupakan sumber energi utama bagi eksplan. Eksplan yang ditumbuhkan tidak dapat membuat sumber makanan sendiri sehingga membutuhkan sumber karbon tambahan dari luar. Penggunaan sumber karbon sangat pada setiap tanaman memiliki dampak yang berbeda-beda pula.



Gambar 2.2 Daya induksi dan regenerasi kalus padi dengan beberapa sumber karbon yang berbeda.

Sumber : Shahvasari, (2010)

## 2.5 Hipotesis

Terdapat respon daya pembentukan kalus yang berbeda dari padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas dengan perlakuan sumber karbon yang berbeda dan pengaruhnya terhadap daya regenerasi.

## BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 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 adalah benih padi Subspesies Japonika (varietas Tarabas), subspesies Javanika ( varietas Mentik dan Mentik Wangi Susu), glukosa, sukrosa, maltosa, prolin, glutamin, kasein, sigma N6 *salt*, zat pengatur tumbuh 2,4-D, kinetin , NAA , gellan, aquadest, spritus, hipoklorit, alkohol 70%, dan 97% sebagai desinfektan, plastik wrap, aluminium foil, dan plastik pembungkus.

#### 3.2.2 Alat

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

### 3.3 Pelaksanaan penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu 3 varietas padi dan faktor kedua yaitu 3 jenis karbon.

Faktor pertama adalah tanaman padi subspesies Japonica dan Javanica:

- V1 : Varietas Tarabas
- V2 : Varietas Mentik Wangi
- V3 : Varietas Mentik Wangi Susu

Faktor kedua adalah sumber karbon:

C1 : Sukrosa

C2 : Maltosa

C3 : Glukosa

Berdasarkan perlakuan yang akan digunakan, maka terdapat 9 unit percobaan. Setiap unit percobaan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdapat 27 satuan percobaan.

Tabel 3.1 Tabel kombinasi perlakuan

C \ V	V1	V2	V3
C1	C1V1	C1V2	C1V3
C2	C2 V1	C2V2	C2V3
C3	C3V1	C3V2	C3V3

### 3.3.2 Prosedur penelitian

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui daya regenerasi kalus pada 3 jenis varietas padi dengan 3 jenis sumber karbon yang berbeda. Penelitian yang dilakukan terdiri dari beberapa tahapan yaitu :

#### 1. Tahapan sterilisasi alat dan ruang

Tahapan sterilisasi alat dan ruang dilaksanakan sesuai dengan prosedur yang ada di laboratorium. Sterilisasi alat dengan menggunakan autoklaf. Peralatan *glassware* dibungkus dengan plastik tahan panas, sedangkan untuk pinset dan gunting terlebih dahulu diberi aluminium foil pada ujungnya, kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas. Seluruh peralatan dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilkan selama  $\pm 20$  menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 17,5 psi. Sterilisasi ruang dilaksanakan dengan membersihkan *Laminar Air Flow* dengan alhokol kemudian disinari dengan lampu UV selama  $\pm 60$  menit sebelum digunakan.

## **2. Tahapan Pembuatan Media Induksi Kalus**

Induksi kalus dilaksanakan pada media N6, namun diberi perlakuan yang berbeda pada sumber karbon yang digunakan. Bahan-bahan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sesuai dengan komposisi media diantaranya kasein 1 g/l, prolin 0,5 g/l, glutamin 0,5 g/l, gellan 4 g/l, sigma N6 salt 4 g/l, dan karbon sesuai dengan perlakuan ( sukrosa 30 mg/L, maltosa 30 gr/L dan glukosa 30 gr/L). Seluruh bahan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dicampurkan menjadi satu (kecuali gellan), ditambahkan aquades, dan hormon 2,4 D 2ppm, kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* serta pH diatur sampai dengan 5,8. Larutan media yang sudah tercampur kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi gellan kemudian ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Erlenmeyer berisi larutan media kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 17,5 psi. Setelah proses sterilisasi, larutan media pindahkan ke dalam petridish yang dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF). Setiap petridish berisi ±25 ml larutan media, lalu dibiarkan terbuka selama ± 30 menit sampai mengeras dan tidak terdapat uap air di dalam petridish. Setelah mengeras, petridish kemudian ditutup dengan menggunakan plastik wrap dan disimpan di dalam lemari es.

## **3. Tahapan Persiapan Eksplan Induksi Kalus**

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah benih. Benih padi yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih padi Tarabas, Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu. Benih dikupas dengan menggunakan alat pengupas buah kemudian benih diseleksi berdasarkan keseragaman ukuran dan terbebas dari jamur. Benih yang diseleksi kemudian disterilisasi dengan mengkocoknya dengan larutan hipoklorit 1% selama 20 menit kemudian dengan menggunakan akuades steril 5-7 kali sampai bersih.

## **4. Tahapan Penanaman Eksplan untuk Induksi Kalus**

Eksplan yang sudah disterilisasi dan dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan meletakkannya diatas kertas saring steril. Eksplan diambil dan ditanam ke

media yang berada dalam petridish dengan menggunakan pinset. Pinset yang digunakan harus terlebih dahulu disterilisasi dengan mencelupkannya ke dalam alkohol 97%, lalu kemudian dibakar diatas bunsen setiap akan digunakan. Media yang sudah di tanami eksplan ditutup dengan *plastic wrap*, kemudian disimpan ke dalam inkubator bersuhu 28-30<sup>0</sup>C selama 15 hari. Eksplan yang ditanaman diamati sesuai dengan variable pengamatan.

### **5. Tahapan Pembuatan Media Regenerasi**

Media regenerasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah N6. Media dibuat dengan menimbang bahan-bahan diantaranya kasein 0,3 g/l, prolin 0,5 g/l, glutamin 0,5 g/l, sigma N6 *salt* 4 g/l, gellan 7 g/l dan dan karbon sesuai dengan perlakuan ( sukrosa 30 mg/L, maltosa 30 gr/L dan glukosa 30 gr/L). Seluruh bahan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dicampurkan menjadi satu (kecuali gellan), ditambahkan aquades, NAA 0,5 ppm, BAP 2 ppm dan Kinetin 2 ppm. Seluruh bahan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* serta pH diatur sampai dengan 5,8. Larutan media yang sudah tercampur kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi gellan kemudian ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Erlenmeyer berisi larutan media kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 17,5 psi. Setelah proses sterilisasi, larutan media pindahkan ke dalam petridish yang dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF). Setiap petridish berisi ±25 ml larutan media, lalu dibiarkan terbuka selama ± 30 menit sampai mengeras dan tidak terdapat uap air di dalam petrisidish. Setelah mengeras, petridish kemudian ditutup dengan menggunakan plastik wrap dan disimpan di dalam lemari es.

### **6. Tahapan Regenerasi**

Tahapan regenerasi dilaksanakan dengan cara penanaman kalus pada media dengan komposisi yang sama dengan perlakuan pada saat tahapan induksi kalus. Kalus yang dibersihkan dari akar dan tunas yang tumbuh dengan menggunakan gunting steril dengan agar tidak mengganggu pertumbuhan kalus. Kalus yang sudah dibersihkan kemudian ditanam pada media regenerasi yang

telah disiapkan sebelumnya. Setiap petridish berisikan  $\pm 20$  kalus sesuai dengan ukuran tumbuhnya kalus. Petridish yang sudah ditanami kalus dipindahkan ke dalam *growth chamber* bersuhu  $\pm 28^{\circ}\text{C}$  dan diamati selama 45 hari.

## 7. Pengamatan Regenerasi

Pengamatan regenerasi kalus yang dilakukan selama 45 hari. Pengamatan dilakukan pada hari setiap 7 hari sekali. Pengamatan regenerasi dilakukan dengan mengamati persentase spot hijau dan persentase regenerasi kalus. Pengamatan spot hijau dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Pengamatan regenerasi kalus dilakukan dengan mengamati kalus yang sudah berdiferensiasi menjadi planlet.

### 3.3.3 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah :

#### 1. Pembentukan Kalus (%)

Daya pembentukan kalus (%) diperoleh dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus dibagi dengan total eksplan yang ditanam pada media kultur dikali 100% (Sah *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan 15 hst (hari setelah tanam) pada media induksi. Perhitungan daya pembentukan kalus dapat dirumuskan sebagai berikut :

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

#### 2. Kalus Embriogenik (%)

Kalus embriogenik (%) diperoleh dengan cara menghitung jumlah kalus embriogenik dibagikan dengan total jumlah kalus yang terbentuk dikalikan dengan 100% (Sah *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan 15 hst (hari setelah tanam) pada media induksi. Perhitungan kalus embriogenik dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{Kalus embriogenik (\%)} = \frac{\text{Jumlah kalus embriogenik}}{\text{Jumlah total kalus}} \times 100\%$$

#### 3. Daya Pembentukan Spot Hijau Kalus (%)

Daya pembentukan spot hijau diperoleh dengan cara menghitung jumlah kalus yang berwarna hijau dibagi dengan total jumlah kalus yang ditanam di media regenerasi. Perhitungan daya pembentukan spot hijau kalus dapat dirumuskan sebagai berikut

$$\text{Spot Hijau Kalus (\%)} = \frac{\text{Jumlah kalus yang membentuk spot hijau}}{\text{Jumlah total kalus yang pada media regenerasi}} \times 100\%.$$

#### 4. Daya Regenerasi Kalus (%)

Daya regenerasi kalus diperoleh dengan cara menghitung jumlah kalus yang menjadi planlet dibagi dengan total jumlah kalus yang ditanam media regenerasi dikalikan dengan 100% (Sah *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai akhir penelitian. Perhitungan daya regenerasi kalus dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{Daya Regenerasi Kalus (\%)} = \frac{\text{Jumlah kalus yang menjadi planlet}}{\text{Jumlah kalus yang ditanam di media regenerasi}} \times 100\%.$$

### 3.3.4 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan yaitu analisis varian anova dengan uji Fisher, kemudian diuji lanjut dengan DMRT (Uji Jarak Berganda Duncan) taraf 5% apabila terdapat perbedaan nyata untuk mengetahui respon daya pembentukan kalus padi Mentik Wangi, Mentik Wangi Susu dan Tarabas pada media induksi kalus dan pengaruhnya terhadap daya regenerasi.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah:

1. Penggunaan sumber karbon yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pembentukan kalus padi Tarabas, Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu.
2. Penggunaan sumber karbon dan jenis varietas yang berbeda memberikan pengaruh terhadap daya regenerasi kalus padi.
3. Jenis karbon yang memberikan respon daya regenerasi terbaik pada varietas Tarabas, Mentik Wangi dan Mentik Wangi Susu adalah jenis maltosa.
4. Jenis varietas yang memberikan respon daya regenerasi terbaik pada kombinasi perlakuan adalah secara berturut-turut Tarabas, Mentik Wangi susu dan Mentik Wangi.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian penelitian lebih lanjut tentang dosis yang paling tepat untuk media regenerasi kalus.
2. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai penggunaan sumber karbon pada kegiatan transformasi genetik tanaman padi.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Anitasari, S. D., D. N. R. Sari, I. A. Astanini, dan M. R. Defiani. 2018. *Dasar Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Yogyakarta: Deepublish.
- Amiri S., Kazemitabar SK. 2011. Enchament of Callus Induction and Regeneration efficiency from Embryo of *Datura stramonium* by Adjusting Carbon Sources and Concentrations. *Academic Journal*. 10(50):10101-10107.
- Arianto, Z. Basri, dan M. U. Butamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid secara *In Vitro*. *Agrotekbis*, 1 (3) : 211-220.
- Badan Pusat Statistika. 2018. *Ringkasan Eksekutif : Luas Panen dan Produksi Beras 2018*. Jakarta: Badan Pusat Statistika.
- Bakry El. AA. 2002. Effect of Genotipe, Growth Regulators, Carbon Source, and pH on Shoot Induction and Plant Regeneration in Tomato. *Bio. Plant*. 38 (501-507).
- Chang, T.T. 1988. The Ethnobotany of Rice in Island Southeast Asia. *Asian Perspectives* 26(1):69–76.
- Darachai P., Chutipaijit S., Sompornpailin K. 2010. Carbon Sources and Supporting Materials in Callus Induction Effect on Regeneration on Indica Rice (*Oryza sativa* l. cv RD6 and RD15). *The 8<sup>th</sup> Symposium on Biocontrol and Biotechnology*.
- Inayah Titik. 2015. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Pada Induksi Embrio Somatik Dua Kultivar Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Agribisnis*.9(1): 67-70.
- Kamsinah., Hardiyati T., Fauziyyah D. 2012. Upaya Memacu Pembentukan Kalus Eksplan Embrio Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merril) Dengan Pemberian Kombinasi 2.4-D Dan Sukrosa Secara Kultur *In Vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. 12(1):30-37.
- Kristamtini., Widyawati S., Rahayu S. 2011. Respons Padi Lokal Mentik Wangi Terhadap Pendekatan Teknologi Sri (*System Of Rice Intensification*) Dan PTT (Pengelolaan Tanaman Terpadu). *Widya Riset*. 14(3):565-570.
- Mastuti, R. 2017. *Dasar-dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Malang: UB Press.

- Mostafiz SB., Wagiran. 2018. Efficient Callus Induction and Regeneration in Selected Indica Rice. *Agronomy*.8(77):1-18
- Panjaitan BS., Abdullah SNA., Aziz MA., Meon S., Omar O. 2009. Somatic Embryo of *Oryza sativa* L. var. MR219. *Journal Tropica Agriculture Science*. 32(2):185-194.
- Sah SR., Kaur A., Sandhu JS. 2014. High Frequency Embryogenic Callus Induction and Whole Plant Regeneration in Japonica Cv. Kitaake. *Journal Rice Research*. 2(2):1-5
- 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 Mikroproyektil. *Hayati*, 12(4): 157-161.
- Sasmita.P., Satoto. Rahimni, N. Agustiani,D.D. Handoko, Suprihanto, A. Guswara dan Suharna. 2019. Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Kemnetrian Pertanian.
- Shabir HW., Sanghera GS., Gosal SS. 2011. An efficient and reproducible method for regeneration of whole plants from mature sedds pf a high yielding Indica rice (*Oryza sativa* L.) Variety PAU 201. *New biotechnology*. 28(4).418-422.
- Shahsavari, E., 2010. Evaluation and optimizations of media on the tissue culture system of upland rice. *Int. J. Agric. Biol.*, 12: 537–540.
- 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.
- Trejgell A., Jarkiewicz M., Tretyn A. 2006. The Effect of Carbon Sources on Callus Induction and Regeneration Ability in *Pharbitis nil*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 26(6):619-626.
- Vaughan, D.A. 1989. Collection, conservation, and potential use of the wild relatives of rice in Asia and Australia. In A Mujeeb-Kazi and L.A. Sitch (Eds.). *Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-1988*. IRRI. Manila. pp. 180–190.
- Vennapusa, A. R., R. S. Vemanna, R. B. H. Rajashekar, K.C. Babitha, K. Kiranmai, A. Nareskumar, and C. Sudhakar. 2015. An Efficient Callus Induction and Regeneration Protocol for a Drought Tolerant Rice *Indica* Genotype AC39020. *Plant Sciences*, 3(5): 248-254.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Dari Eksplan Daun Ramin(*Gonystylus bancanus*(Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6(3): 181-194.

- Yunus A., Hartati S., Brojokusumojo R. D. K. 2017. Performance of Mentik Wangi Generation M1 from The Results of Gamma Ray Irradiation. *Agrobiosains*. 19(1): 6-14.
- Yunus A., Parjanto., Pratama. I. Y. 2018. Performance of Mentik Wangi Generation M1 from The Results of Gamma Ray Irradiation. IOP Publishing. 142(2018):1-10.
- Zaidi, M.A., Narayanan, M., Sardana, R., Taga, I., Postel, S., Johns, R., McNulty, M., Mottiar, Y., Mao, J., Loit, E. and Altosaar, I., **2006**. Optimizing Tissue Culture Media for Efficient Transformation of Different Indica Rice Genotypes. *Agronomy Research*, 4, 563-57.

**LAMPIRAN**

**Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian**



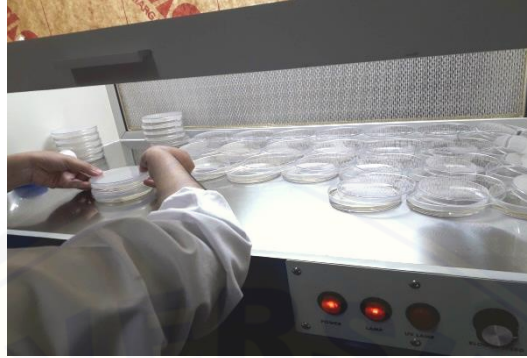
Gambar 1. Persiapan Benih



Gambar 2. Pengupasan Benih



Gambar 3. Pembuatan Media Kultur



Gambar 4. Menuang Media ke Petridish



Gambar 5. Sterilisasi benih



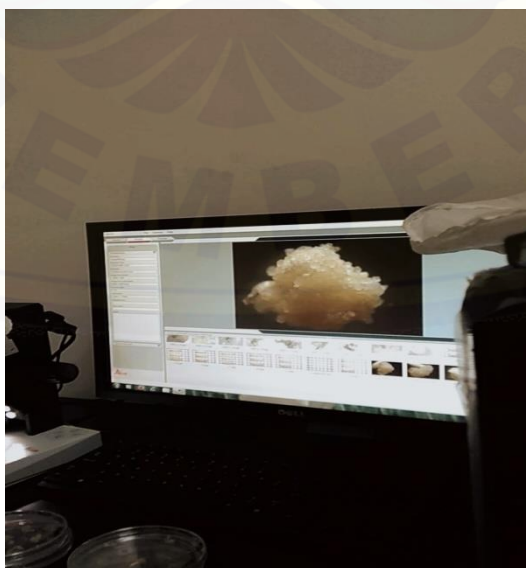
Gambar 6. Penanaman Benih



Gambar 7. Benih di tanam di petridish



Gambar 8. Induksi benih setelah 15 HST



Gambar 9. Pengamatan dengan Mikroskop

**Lampiran 2. Pengujian Analisis Ragam**

2.1 Kalus Embriogenik

PERLAKUAN		U1	U2	U3	TOTAL
TARABAS	SUKROSA	1,000	0,947	1,000	2,947
	MALTOSA	1,000	0,947	0,944	2,892
	GLUKOSA	0,950	0,889	0,842	2,681
MW	SUKROSA	0,250	0,176	0,053	0,479
	MALTOSA	0,389	0,118	0,400	0,907
	GLUKOSA	0,188	0,263	0,188	0,638
MWS	SUKROSA	0,650	0,250	0,722	1,622
	MALTOSA	1,000	1,000	0,778	2,778
	GLUKOSA	0,300	0,667	0,125	1,092
<b>JUMLAH</b>		5,726	5,258	5,052	16,036

TABEL INTERAKSI 2 ARAH

C/V	GLU	SUK	MAL	TOTAL
MWS	1,092	1,622	2,778	5,492
MW	0,638	0,479	0,907	2,024
TAR	2,681	2,947	2,892	8,52
	4,411	5,048	6,577	

TABEL ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	Keterangan
<b>PERLAKUAN</b>	8	2,887	0,360875	16,239375	2,51	BERBEDA NYATA
<b>REPLIKASI</b>	2	0,02	0,01	0,45	3,55	BERBEDA NYATA
<b>C</b>	2	0,276	0,138	6,210	3,550	BERBEDA NYATA
<b>V</b>	2	2,348	1,174	52,830	3,550	BERBEDA NYATA
<b>CV</b>	4	0,264	0,066	2,970	2,930	BERBEDA NYATA
<b>Galat</b>	18	0,400	0,022			
<b>Total</b>	26	3,288				

## 2.2 Pembentukan Spot Hijau

### 2.2.3. Spot Hijau Minggu 3

PERLAKUAN		U1	U2	U3	RATA-RATA	TOTAL
TARABAS	C1	0,76	0,84	0,92	0,84	2,53
	C2	1,00	0,93	1,00	0,98	2,93
	C3	0,88	0,82	0,81	0,84	2,52
MENTIK WANGI	C1	0,60	0,40	0,25	0,42	1,25
	C2	0,57	0,60	0,67	0,61	1,84
	C3	0,40	0,40	0,75	0,52	1,55
MENTIK WANGI SUSU	C1	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	C2	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	C3	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	TOTAL	7,22	6,99	7,40		21,61

TABEL 2 ARAH

	GLU	SUK	MAL	TOTAL
MWS	3	3	3	9
MW	1,55	1,25	1,84	4,64
TAR	2,52	2,53	2,93	7,98
TOTAL	7,07	6,78	7,77	

TABEL ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-HITUNG	F-TABEL 5 %	NOTASI
PERLAKUAN	8	1,25	0,15625	17,68867925	2,51	BERBEDA NYATA
REPLIKASI	2	0,009	0,0045	0,509433962	3,55	BERBEDA NYATA
C	2	0,066	0,033	3,735849057	3,55	BERBEDA NYATA
V	2	1,164	0,582	65,88679245	3,55	BERBEDA NYATA
CV	4	0,029	0,00725	0,820754717	2,93	NS
GALAT	18	0,159	0,008833			
TOTAL	26	1,417				



2.3 Daya Regenerasi

2.3.3 Daya Regenerasi Minggu 6

PERLAKUAN		U1	U2	U3	TOTAL
TARABAS	SUKROSA	58,3%	46,2%	42,9%	1,47
	MALTOSA	92,3%	92,9%	100,0%	2,85
	GLUKOSA	62,5%	60,0%	37,5%	1,60
MW	SUKROSA	25,0%	20,0%	0,0%	0,45
	MALTOSA	50,0%	0,0%	50,0%	1,00
	GLUKOSA	20,0%	0,0%	0,0%	0,20
MWS	SUKROSA	50,0%	25,0%	0,0%	0,75
	MALTOSA	92,9%	35,7%	36,8%	1,65
	GLUKOSA	10,0%	23,0%	12,5%	0,46
TOTAL		461,0%	302,7%	279,7%	1043%

TABEL 2 ARAH

	GLU	SUK	MAL	TOTAL
MWS	46%	75%	165%	286%
MW	20%	45%	100%	165%
TAR	160%	147%	285%	592%
TOTAL	226%	267%	550%	

TABEL ANOVA

SK	DB	JKT	KT	F-HITUNG	F-TABEL	
PERLAKUAN	8	1,84	0,23	9,975904	2,51	BERBEDA NYATA
REPLIKASI	2	0,22	0,11	4,771084	3,55	BERBEDA NYATA
C	2	0,688	0,344	14,92048	3,55	BERBEDA NYATA
V	2	1,073	0,5365	23,26988	3,55	BERBEDA NYATA
CV	4	0,067	0,01675	0,726506	2,93	NS
GALAT	18	0,415	0,023056			
TOTAL	26	2,469				

**Lampiran 3. Hasil Pengujian Lanjut DMRT**

4.1 Kalus Embriogenik

PERLAKUAN	RATA-RATA	V1C1	V1C2	V3C2	V1C3	V3C1	V3C3	V2C2	V2C3	V2C1
		0,982	0,964	0,926	0,894	0,541	0,364	0,302	0,213	0,160
V1C1	0,982	0								
V1C2	0,964	0,018	0,000							
V3C2	0,926	0,0565	0,038	0,000						
V1C3	0,894	0,089	0,070	0,032	0,000					
V3C1	0,541	0,442	0,423	0,385	0,353	0,000				
V3C3	0,364	0,619	0,600	0,562	0,530	0,177	0,000			
V2C2	0,302	0,680	0,662	0,624	0,591	0,239	0,062	0,000		
V2C3	0,213	0,770	0,751	0,713	0,681	0,328	0,151	0,089	0,000	
V2C1	0,160	0,823	0,804	0,766	0,734	0,381	0,204	0,142	0,053	0,000
	P	0,293	0,291	0,289	0,286	0,282	0,276	0,268	0,256	

PERLAKUAN	RATA-RATA	V1C1	V1C2	V3C2	V1C3	V3C1	V3C3	V2C2	V2C3	V2C1	NOTASI
		0,982	0,964	0,926	0,894	0,541	0,364	0,302	0,213	0,160	
V1C1	0,982	ns									a
V1C2	0,964	ns	Ns								a
V3C2	0,926	ns	Ns	Ns							a
V1C3	0,894	ns	Ns	Ns	ns						a
V3C1	0,541	*	*	*	*	Ns					b
V3C3	0,364	*	*	*	*	Ns	ns				bc
V2C2	0,302	*	*	*	*	Ns	ns	ns			bc
V2C3	0,213	*	*	*	*	*	ns	ns	ns		c
V2C1	0,160	*	*	*	*	*	ns	ns	ns	ns	cd

**Lampiran 4. Pengujian Faktor Tunggal**

**4.1 Spot Hijau Minggu ke-3**

PERLAKUAN		U1	U2	U3	RATA-RATA	TOTAL
V1	C1	0,76	0,84	0,92	0,84	2,53
V2	C2	1,00	0,93	1,00	0,98	2,93
	C3	0,88	0,82	0,81	0,84	2,52
	C1	0,60	0,40	0,25	0,42	1,25
	C2	0,57	0,60	0,67	0,61	1,84
	C3	0,40	0,40	0,75	0,52	1,55
V3	C1	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	C2	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	C3	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00
	TOTAL	7,22	6,99	7,40		21,61

SK	DB	JK	KT	F-HITUNG	F-TABEL 5 %	F-TABEL 1-%	NOTASI
PERLAKUAN	8	1,25	0,15625	17,6886	2,51	3,38	**
REPLIKASI	2	0,009	0,0045	0,50943	3,55	3,11	NS
C	2	0,066	0,033	3,73584	3,55	3,11	*
V	2	1,164	0,582	65,8867	3,55	3,11	**
CV	4	0,029	0,00725	0,82075	2,93	3,27	NS
GALAT	18	0,159	0,00883				
TOTAL	26	1,417					

$(KTG/r)^{1/2}$	0,054263	JARAK P	SSR 5%	UJI SSD 5%
		2	2,971	0,161
		3	3,117	0,169
		4	3,21	0,174

PENGUJIAN SINGLE FAKTOR									
A. Pengujian pengaruh perbedaan 3 rata-rata varietas padi terhadap pembentukan spot hijau									
Nomor	Varietas	Rata-Rata	V3		V1		V2		Notasi
			1,0		0,9		0,5		
1	V3	1	0	ns					a
2	V1	0,886	0,11	ns	0	ns			a
3	V2	0,516	0,48	*	0,37	*	0	ns	b
			0,169		0,161				

B. Pengujian pengaruh perbedaan 3 rata-rata jenis karbon terhadap pembentukan spot hijau									
Nomor	Varietas	Rata-Rata	C2		C3		C1		Notasi
			0,863		0,786		0,753		
1	C2	0,863	0	ns					a
2	C3	0,786	0,08	ns	0	ns			a
3	C1	0,753	0,11	ns	0,03	ns	0	ns	a
			0,169		0,161				

## 4.2 Daya Regenerasi Minggu ke-6

PERLAKUAN		U1	U2	U3	TOTAL	RATA-RATA
TARABAS	SUKROSA	58,3%	46,2%	42,9%	1,47	0,491
	MALTOSA	92,3%	92,9%	100,0%	2,85	0,951
	GLUKOSA	62,5%	60,0%	37,5%	1,60	0,533
MW	SUKROSA	25,0%	20,0%	0,0%	0,45	0,150
	MALTOSA	50,0%	0,0%	50,0%	1,00	0,333
	GLUKOSA	20,0%	0,0%	0,0%	0,20	0,067
MWS	SUKROSA	50,0%	25,0%	0,0%	0,75	0,250
	MALTOSA	92,9%	35,7%	36,8%	1,65	0,551
	GLUKOSA	10,0%	23,0%	12,5%	0,46	0,152
	TOTAL	461,0%	302,7%	279,7%	1043%	3,478

VARIETAS	C1	C2	C3	TOTAL	RATA-RATA
TARABAS	0,491	0,951	0,533	1,975	0,658333
MENTIK WANGI	0,15	0,333	0,067	0,55	0,183333
MENTIK WANGI SUSU	0,25	0,551	0,152	0,953	0,317667
TOTAL	0,891	1,835	0,752		
RATA-RATA	0,297	0,611667	0,250667		

$$(KTG/r)^{1/2}$$

$$= 0,087665$$

JARAK P	SSR 5%	UJI SSD 5%
2	2,971	0,260
3	3,117	0,273

PENGUJIAN SINGLE FAKTOR									
A. Pengujian pengaruh perbedaan 3 rata-rata vareitas padi terhadap pembentukan spot hijau									
Nomor	Varietas	Rata-Rata	V1		V3		V2		Notasi
			0,658		0,317		0,183		
1	V1	0,658	0	ns					a
2	V3	0,317	0,34	*	0	ns			b
3	V2	0,183	0,48	*	0,13	ns	0	ns	b
			0,169		0,161				

B. Pengujian pengaruh perbedaan 3 rata-rata jenis karbon terhadap pembentukan spot hijau									
Nomor	Varietas	Rata-Rata	C2		C1		C3		Notasi
			0,6		0,3		0,3		
1	C2	0,611	0	ns					a
2	C1	0,297	0,31	*	0	ns			b
3	C3	0,25	0,36	*	0,05	ns	0	ns	b
			0,169		0,161				