

Studi Regenerasi pada Beberapa Varietas Padi Indica

Endang G. Lestari, Ika Mariska, dan Mujiman

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Padi merupakan komoditas pertanian yang penting sebagai bahan makanan pokok. Dengan bertambahnya penduduk dunia maka kebutuhan akan padi semakin meningkat pula sehingga untuk memenuhi kebutuhan tersebut perlu dikembangkan varietas padi yang berproduksi tinggi dan toleran pada lingkungan tertentu. Dengan semakin menyempitnya lahan untuk sawah maka perlu dicari alternatif agar kebutuhan padi tersebut tetap terpenuhi. Beberapa cara yang dapat diterapkan antara lain dengan mengembangkan varietas padi yang toleran pada lahan bercekaman tertentu, seperti tanah masam, tanah salin maupun tanah kering. Untuk itu, diperlukan varietas padi yang tahan/toleran pada lingkungan tersebut. Untuk menghasilkan varietas baru yang toleran/tahan pada lingkungan tertentu dapat dilakukan secara konvensional maupun bioteknologi, yaitu dengan persilangan dan seleksi dari genotipe yang ada dan secara kultur *in vitro* dengan variasi somaklonal maupun dengan seleksi *in vitro*. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan formula media yang optimal untuk regenerasi tunas pada beberapa varietas padi Indica. Bahan tanaman yang digunakan embrio zigotik varietas Cisadane, Bengawan Solo, dan Gajah Mungkur. Penelitian terdiri dari 2 tahap, yaitu induksi kalus dan regenerasi tunas. Media dasar yang digunakan ialah Murashige dan Skoog (MS) + vitamin grup B + gelrite 2,5 g/l dan sukrose 3%. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ialah auksin (2,4-D, NAA dan IAA) dan sitokinin (benzil adenin, kinetin, dan zeatin). Hasil penelitian menunjukkan bahwa media untuk induksi kalus yang terbaik dari ketiga varietas tersebut ialah MS + 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l. Media untuk regenerasi pada varietas Cisadane ialah BA 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Untuk penggandaan tunas pemberian benzil adenin 0,5 mg/l setelah 3 minggu dapat menghasilkan tunas sebanyak 1,8. Padi varietas Bengawan Solo ialah benzil adenin 3 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Pada varietas Gajah Mungkur regenerasi paling banyak berasal dari media benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,2 mg/l.

Kata kunci: Padi Indica, regenerasi, Cisadane, Gajah Mungkur, Bengawan Solo

ABSTRACT

Due to its position as one of the main world staple food, rice need is growing along with the increasing numbers of world population. To fulfil the requirements, high-yielding varieties which is tolerant to certain should be developed. Due to the limited rice-field area, the alternative is, among others, by developing the varieties tolerant to stress such as acid soil, salinity and dryness. To produce new varieties tolerant to the particular environment, both conventional and biotechnological method could be applied. Biotechnological method could be carried out with the crossing and selection from the available genotype and by *in vitro* culture both through somaclonal variation and the *in vitro* selection. This research is aimed at obtaining the optimum formulation media to shoot regeneration at several Indica variety. The plant used is the zygotic embryo from Cisadane, Bengawan Solo, and Gajah Mungkur varieties. The research consists of two steps, namely callus induction and shoot regeneration. The basic media is Murashige and Skoog (MS) + vitamin group B + gelrite 2.5 g/l and sucrose 3%. The added growth regulator is auksin (2,4-D, NAA, and IAA) and sitokinin (BA, kinetin, and zeatin). The result shows that the

most appropriate media for callus induction from the three varieties is MS + 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l. Media for regeneration at Cisadane variety is BA 5 mg/l + IAA 0.1 mg/l + zeatin 0.1 mg/l. For multiplication, the addition of BA 0.5 mg/l after 3 weeks could produce shoot as many as 1.8. Bengawan Solo variety is BA 3 mg/l + NAA 0.1 mg/l + kinetin 1 mg/l. At Gajah Mungkur variety, the most optimum regeneration is obtained from the media BA 3 mg/l + IAA 0.1 mg/l + zeatin 0.2 mg/l.

Key words: Indica rice, regeneration, Cisadane, Gajah Mungkur, Bengawan Solo

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditas pertanian yang penting karena merupakan bahan makanan pokok sebagian besar penduduk dunia. Dengan demikian, kebutuhan akan padi terus meningkat seiring dengan bertambahnya penduduk. Untuk itu, usaha meningkatkan produksi pangan dilakukan dengan jalan merakit varietas unggul yang berproduksi tinggi maupun varietas yang toleran terhadap cekaman lingkungan.

Ada 2 macam varietas padi yang dikembangkan saat ini, yaitu padi sawah dan padi gogo. Karena area untuk pertanaman padi sawah semakin menyempit maka pengembangan padi gogo perlu dilakukan. Berbagai metode yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman yang tahan kekeringan telah dicoba baik dengan cara konvensional (persilangan) maupun dengan bioteknologi (seleksi markah molekuler) dari genotipe yang ada dan induksi mutasi untuk mendapatkan tanaman yang tahan kekeringan dengan kultur *in vitro*.

Kendala untuk mencapai hasil yang optimal pada transformasi genetik dan variasi somaklonal pada padi Indica ialah karena laju pertumbuhan yang rendah dalam menghasilkan kalus begitu pula regenerasinya, yang dilakukan baik melalui embriogenesis somatik maupun organogenesis (Chu dan Croughan, 1990). Khanna dan Raina (1998) menyatakan bahwa padi tipe Indica sulit diregenerasikan melalui kultur kalus, sedangkan keberhasilan yang lebih tinggi diperoleh melalui kultur panikula.

Maftuchah *et al.* (2000) telah melakukan penelitian yang bertujuan untuk mendapatkan formulasi media regenerasi tunas pada varietas Cisadane dan kalus bertunas tertinggi hanya 16,6% pada media MS + IAA 0,1 mg/l dan BAP 0,7 mg/l, padahal tahap ini merupakan tahap penting untuk mendapatkan tanaman baru melalui transformasi genetik.

Keberhasilan regenerasi umumnya tergantung dari formulasi media yang digunakan seperti media dasar, konsentrasi, dan jenis hormon yang diberikan serta genotipe tanaman. Untuk memacu produksi planlet dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin (Poonsapaya *et al.*, 1989). Varietas Taipei-309 merupakan tanaman model, karena regenerasi pada tanaman ini lebih mudah dibandingkan dengan varietas lainnya. Dengan demikian, untuk mendapatkan formulasi media regenerasi yang optimal pada padi Indica perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan

berbagai kombinasi sitokinin, auksin, dan genotipe tanam-an. Sampai saat ini, belum ada laporan lengkap mengenai formulasi media yang dapat diterapkan untuk semua varietas atau semua genotipe (Ogawa, 2000).

Beberapa faktor yang berpengaruh dalam proliferasi dan regenerasi tunas antara lain faktor fisik dan kimia seperti perbandingan antara NH_4^+ dan NO_3^- , asam amino, dan zat pengatur tumbuh, serta tekanan osmotik (Zhu *et al.*, 1996). Namun demikian, banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh sangat berperan dalam menentukan arah morfogenesis.

BAHAN DAN METODE

Eksplan yang digunakan berupa embrio zigotik yang berasal dari benih beberapa varietas padi Indica, yaitu Cisadane, Bengawan Solo, dan Gajah Mungkur.

Penelitian terdiri dari 2 tahap. Penanaman pada tahap awal, benih dikupas kemudian disterilisasi dengan (1) alkohol 70% selama 5 menit, (2) HgCl_2 0,2% selama 2 menit, (3) clorox 30% selama 20 menit, terakhir dibilas dengan akuades steril 3 kali. Untuk memudahkan isolasi eksplan embrio zigotik dengan memberikan kondisi yang optimal untuk dikaluskan maka benih terlebih dahulu dikulturkan pada media MS0 (tanpa zat pengatur tumbuh). Setelah 2-3 hari benih ditanam, embrio zigotik mulai membengkak. Embrio tersebut diisolasi di dalam laminar air flow dengan menggunakan pisau skalpel, kemudian ditanam pada media untuk induksi kalus. Dua minggu setelah penanaman, embrio zigotik akan membentuk kalus yang kemudian disubkultur pada media baru untuk memacu daya tumbuh membentuk kalus yang bersifat embrionik. Kalus embrionik yang dihasilkan dipindah ke dalam media regenerasi.

Induksi Kalus

Media dasar yang digunakan Murashige dan Skoog (MS) + vitamin grup B + gel rite 2,5 g/l dan sukrosa 3%. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ialah auksin (2,4-D, NAA) dan sitokinin (benzil adenin, kinetin, dan zeatin).

Perlakuan yang diuji ialah (1) 2,4-D 0,5 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l, (2) 1 + casein hidrolisat 2 g/l, (3) 2 + casein hidrolisat 2 g/l, (4) 2,4-D 0,5 mg/l + NAA 1 mg/l + benzil adenin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l, dan (5) 2,4-D 1 mg/l + NAA 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l.

Untuk meningkatkan daya tumbuh, maka kalus yang diperoleh di subkultur (SK1) pada media baru sebagai berikut:

1. 2,4-D 2 mg/l + NAA 1 mg/l + benzil adenin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
2. 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l
3. Benzil adenin mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 0,1 mg/l + zeatin 1 mg/l
4. Benzil adenin 0,5 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
5. Benzil adenin 3 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l

6. Benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l

Regenerasi

Tiga minggu setelah tanam, kalus disubkultur kembali (SK2) ke dalam media untuk regenerasi. Media yang dicoba ialah sebagai berikut:

1. Untuk varietas Cisadane

- Benzil adenin 0,5 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 1 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 1 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- BA 1 mg/l + IAA 0,5 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- BA 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l

2. Untuk varietas Bengawan Solo

- 2,4-D 0,5 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l
- 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l
- 2,4-D 0,1 mg/l + NAA 1 mg/l + BA 1 mg/l + zeatin 0,1
- 2,4-D 0,5 mg/l + NAA 1 mg/l + BA 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- 2,4-D 2 mg/l + NAA 1 mg/l + BA 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 0,5 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 1 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 1 mg/l + kin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + kin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 0,5 + IAA 0,5 mg/l
- Benzil adenin 1 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l
- Benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l

3. Untuk varietas Gajah Mungkur

Formulasi media yang terbaik dari penelitian sebelumnya untuk varietas Cisadane dan Bengawan Solo digunakan untuk varietas Gajah Mungkur. Untuk induksi kalus digunakan MS + casein hidrolisat 2 g/l + 2,4-D 2 mg/l. Setelah terbentuk kalus yang embrionik akan dilakukan subkultur pada media regenerasi (4 macam perlakuan formulasi media).

- Benzil adenin 3 mg/l + thidiazuron 0,2 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + thidiazuron 0,5 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,2 mg/l
- Benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,5 mg/l

Pengamatan

Parameter yang diamati ialah penampakan kalus, jumlah tunas, persentase kalus yang “friabel”, persentase kalus yang embrionik, dan persentase kalus yang bertunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus

Dua minggu setelah penanaman eksplan embrio zigotik mulai membengkak kemudian membentuk kalus. Kalus yang dihasilkan secara visual tampak berbeda, antara lain berwarna putih kompak, kuning friable, kuning kompak, dan coklat.

Hasil pengamatan terhadap warna dan penampakan kalus pada berbagai perlakuan yang dicoba didapatkan media yang terbaik untuk pembentukan kalus, yaitu 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l (Tabel 1), pada media tersebut kalus yang dihasilkan berwarna kuning dan friabel, pada minggu ketiga rata-rata diameter kalus mencapai 1 cm, hasil yang sama diperoleh pada penelitian Kunanuvatchaidach *et al.* (1995) pada media yang sama diperoleh kalus dengan struktur yang embriogenik pada kultur berumur 6 minggu.

Untuk menghindari masalah pencoklatan dan menginduksi pembentukan kalus yang embrionik maka kalus yang disubkultur berasal dari formulasi media yang terbaik dalam menginduksi kalus yang friabel dan terlihat pada stadia awal mampu membentuk kalus yang embrionik. Komposisi media yang diuji ialah kombinasi antara auksin dan sitokinin (dengan 2-3 jenis zat pengatur tumbuh yang sama dalam satu macam media) tetapi tanpa penambahan casein hidrolisat.

Dari berbagai komposisi media yang dicoba, semua perlakuan dapat menghasilkan kalus yang embrionik namun persentasenya tidak sama (Tabel 2). Persentase jumlah kalus embrionik tertinggi dicirikan antara lain dengan pembentukan nodul berwarna kuning dihasilkan pada media 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l. Namun demikian, diharapkan kalus yang berasal dari kombinasi 2,4-D dan sitokinin lebih baik responnya dalam pembentukan tunas.

Regenerasi

Tabel 1. Pengaruh beberapa komposisi media pada pembentukan kalus

Varietas	Perlakuan media zpt (mg/l), CH (g/l)	Persentase kalus "friabel" (%)
Cisadane	2,4-D 0,5 + NAA 1 + benzil adenin 1	70
	2,4-D 0,5 + NAA 1 + benzil adenin 1 + zeatin 1	70
	2,4-D 0,5 + casein hidrolisat 2	80
	2,4-D 1 + casein hidrolisat 2	70
	2,4-D 2 + casein hidrolisat 2	85
Bengawan Solo	2,4-D 0,5 + NAA 1 + benzil adenin 1	70
	2,4-D 0,5 + NAA 1 + benzil adenin 1 + zeatin 1	70
	2,4-D 0,5 + casein hidrolisat 2	80
	2,4-D 1 + casein hidrolisat 2	60
	2,4-D 2 + casein hidrolisat 2	90
Gajah Mungkur	2,4-D 2 + casein hidrolisat 2	90

Zpt = zat pengatur tumbuh, CH = casein hidrolisat

Untuk regenerasi tunas, kalus yang berwarna kuning dan friabel disubkultur pada medium untuk regenerasi, yaitu media yang mengandung kombinasi antara auksin (2,4-D, NAA, dan IAA) dengan sitokinin (benzil adenin, zeatin, dan kinetin).

Pada penelitian ini selang waktu pemindahan kalus pada media baru diusahakan tidak lebih 3-4 minggu karena bila terlalu lama kalus akan menjadi coklat dan menurun daya regenerasinya, hal ini terjadi pula pada penelitian Mikami dan Kinoshita (1988). Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa kultur suspensi yang disubkultur dalam waktu lebih lama maka frekuensi regenerasinya menurun secara dramatis dan belum diketahui bagaimana cara memperbaikinya. Zhu *et al.* (1996) melakukan prakultur kalus di dalam media yang mengandung 2-iP dan 2,4-D selama 2 minggu sebelum ditanam pada media regenerasi, ternyata laju regenerasinya menjadi lebih tinggi.

Dari beberapa formulasi media yang dicoba dapat dihasilkan tunas adventif dengan faktor multiplikasi yang cukup tinggi (Tabel 3). Namun demikian, tidak semua kalus dapat bertunas serta ada kalus yang berubah menjadi coklat atau hitam. Dari berbagai kombinasi yang dicoba, pemakaian benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l menghasilkan tunas terbanyak (50%), perlakuan lainnya yang dapat menghasilkan tunas antara lain benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l (40%); benzil adenin 3 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l; dan benzil adenin 0,5

Tabel 2. Pengaruh komposisi media untuk pembentukan kalus embrionik

Media perlakuan	Persentase kalus embrionik (%)	Persentase kalus berwarna coklat (%)
2,4-D 2 mg/l + NAA 1 mg/l + benzil adenin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l	80	20
2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l	90	10
Benzil adenin 0,5 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l	80	20
Benzil adenin 1 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l	80	20
Benzil adenin 3 mg/l + NAA 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l	80	20
Benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l	70	30

Tabel 3. Pengaruh beberapa komposisi media untuk regenerasi tunas varietas Cisadane, minggu keempat

Media regenerasi (mg/l)	Persentase kalus (%)			
	Friabel	Bernodul	Coklat	Bertunas
Benzil adenin 0,5 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	50	50	0	30
Benzil adenin 1 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	70	30	0	20
Benzil adenin 1 + NAA 1 + kinetin 1	60	10	30	0
Benzil adenin 3 + NAA 1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	40	30	30	30
Benzil adenin 3 + IAA 0,1 + zeatin 0,1	70	30	0	40
Benzil adenin 5 + IAA 0,1 + zeatin 0,1	20	80	0	50

mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l (30%).

Komposisi media kultur tersebut di samping dapat menginduksi tunas dapat pula memacu proliferasi sehingga dihasilkan tunas dalam jumlah banyak, demikian pula penelitian Maftuchah *et al.* (2000) untuk mendapatkan formulasi media regenerasi pada varietas Cisadane digunakan kombinasi auksin (IAA) dan sitokinin (benzil adenin).

Untuk penggandaan tunas varietas Cisadane dilakukan penanaman pada media multiplikasi, zat pengatur tumbuh yang diuji ialah benzil adenin (0; 0,5; 1,0; 1,5; dan 2 mg/l). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah tunas yang dihasilkan tidak jauh berbeda antar perlakuan, pada minggu ketiga sudah menghasilkan daun dalam jumlah banyak, yaitu antara 4-5 daun (Tabel 4).

Varietas Bengawan Solo dicoba lebih banyak perlakuan komposisi media karena diharapkan persentase regenerasi akan lebih tinggi. Pada media benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l menghasilkan persentase kalus ber-tunas paling tinggi (45%), hasil yang sama diperoleh pada varietas Cisadane. Perlakuan komposisi media lain yang dapat menghasilkan tunas dengan keberhasilan cukup tinggi (40%), yaitu dari benzil adenin 3 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l (Tabel 5).

Dari percobaan yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa metode

Tabel 4. Pengaruh beberapa taraf konsentrasi benzil adenin pada multiplikasi tunas varietas Cisadane, minggu ketiga

Media perlakuan (mg/l)	Rata-rata jumlah tunas	Rata-rata jumlah daun
Benzil adenin 0,5	1,8	4,0
Benzil adenin 1	2,0	4,9
Benzil adenin 1,5	1,8	4,3
Benzil adenin 2	2,1	5,0

Tabel 5. Pengaruh beberapa komposisi media untuk regenerasi tunas varietas Bengawan Solo, minggu kedelapan

Media perlakuan (mg/l)	Persentase kalus (%)			
	Friabel	Bernodul	Coklat	Bertunas
2,4-D 0,1 + NAA 1 + benzil adenin 1	30	0	70	0
2,4-D 0,5 + NAA 1 + benzil adenin 1 + zeatin 0,1	90	10	10	0
2,4-D 2 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	80	20	0	0
Benzil adenin 0,5 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	60	30	10	30
Benzil adenin 1 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	60	40	0	30
BA 3 + NAA 0,1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	50	40	10	40
Benzil adenin 1 + kinetin 1 + zeatin 0,1	80	20	0	30
Benzil adenin 3 + kinetin 1 + zeatin 0,1	90	10	0	0
Benzil adenin 0,5 + IAA 0,5	100	0	0	0
Benzil adenin 1 + IAA 0,1 + zeatin 0,1	90	10	0	0
Benzil adenin 3 + IAA 0,1 + zeatin 0,1	80	20	0	45
Benzil adenin 5 + IAA 0,1 + zeatin 0,1	90	10	0	0

Tabel 6. Regenerasi tunas varietas Gajah Mungkur pada berbagai komposisi media, minggu ketiga

Media regenerasi (mg/l)	Persentase kalus (%)		
	Friabel	Bernodul	Bertunas
Benzil adenin 3 + IAA 0,1 + zeatin 0,2	10	90	20
Benzil adenin 3 + IAA 0,1 + zeatin 0,5	10	90	0
Benzil adenin 3 + thidiazuron 0,5	70	30	10
Benzil adenin 3 + thidiazuron 0,2	90	10	0

regene-rasi tunas dari ketiga varietas tersebut sudah diketahui, namun belum optimal ka-re-na persentase kalus yang berhasil membentuk tunas masih rendah. Dengan de-mikian, pada penelitian tahun anggaran 2002 akan dilakukan penelitian regenerasi kembali pada media yang terbaik hasil penelitian tahun ini.

Pada penelitian ini di samping dicoba jenis padi sawah juga diteliti jenis padi gogo Gajah Mungkur, jenis padi ini belum diketahui sistem regenerasi yang opti-mum. Untuk induksi kalus digunakan komposisi media yang terbaik dari varietas Cisadane dan Bengawan Solo, yaitu 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l (Tabel 1). Pada media tersebut, kalus tumbuh dengan cepat, serta menghasilkan kalus yang friabel dan embrionik.

Pertumbuhan kalus pada media yang dicoba cukup responsif, pada media benzil adenin 3 mg/l + thidiazuron 0,5 mg/l kalus yang dihasilkan bernodul putih dan beberapa kalus dapat bertunas, namun tunas yang dihasilkan agak kurus apabila dibandingkan tunas pada media benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,2 mg/l. Di samping itu, pada media tersebut sebagian besar kalus yang ter-bentuk bernodul hijau dan persentase kalus yang bertunas lebih banyak (Tabel 6).

Dari penelitian regenerasi tunas pada varietas Gajah Mungkur walaupun baru berumur 3 minggu telah memberikan hasil yang cukup baik. Sebagian besar kalus yang terbentuk sudah menunjukkan nodul yang berwarna kehijauan bakal membentuk tunas.

KESIMPULAN

Media terbaik untuk pembentukan kalus yang berwarna putih atau kuning dan friabel dapat dihasilkan dari media MS + 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 2 g/l.

Pada varietas Cisadane komposisi media yang terbaik untuk regenerasi tunas ialah benzil adenin 5 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Untuk penggandaan tunas pemberian benzil adenin 0,5 mg/l setelah 3 minggu dapat menghasilkan tunas sebanyak 1,8. Pada varietas Bengawan Solo hasil terbaik untuk regenerasi tunas ialah benzil adenin 3 mg/l + NAA 0,1 mg/l + kinetin 1

mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Pada varietas Gajah Mungkur jumlah tunas paling banyak berasal dari media benzil adenin 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,2 mg/l.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Saudara Mujiman, Joko Tamami, Wawan Sukmawan, Saefudin, Sanusi, Tatang, Marnah, dan Wawan Darmawan yang telah membantu dalam pembuatan media, persiapan bahan tanaman, dan penanaman eksplan sehingga penelitian ini selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Chu, Q.R. and T.P. Croughan. 1990.** Genetic of plant regeneration on imature panicle culture of rice. *Crop Science* 30:1194-1197.
- Khanna H.K. and S.K. Raina. 1998.** Genotype x culture media interaction effect on regeneration response of three Indica rice cultivars. *Plant Cell Tissue, and Organ Culture* 52:145-153.
- Kunanuvatchaidach, I.D. Godwin, and S.W. Adkins. 1995.** High efficiency plant regeneration from callus induced on mature *Indica* rice caryopses. *Aust. J. Bot.* 43:337-348.
- Maftuchah, I.H. Slamet-Loedin, dan S.H. Aswidinnor. 2000.** Induksi tunas dari kalus embriogenik padi Cisadane dalam berbagai konsentrasi IAA dan BAP. Makalah Kongres dan Seminar Nasional II PBPI. Yogyakarta, 7-8 November 2000.
- Mikami, T. and T. Kinoshita. 1988.** Genotype effect on callus formation from different explants of rice, *Oryza sativa* L. *Plant Cell Report* 10:35-38.
- Ogawa. 2000.** Improvement of cell culture condition for rice. *JARC* 34(4)215-223.
- Poonsapaya, P., M.W. Nabors, W. Kersi, and M. Vajrabhaya. 1989.** A comparison of methods for callus culture and plant regeneration of RD 25 rice (*Oryza sativa* L.) *in vitro* laboratories. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 16:175-186.
- Zhu, Y., W. Ouyang, Y. Lie, dan Z. Chen. 1996.** The effects of 2-ip and 2,4-D on rice calli differentiation. *Plant Growth Regulation* 19:19-24.