

**PEMANFAATAN MEDIA ALAMI PUPUK DAUN TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS TIGA
VARIETAS KEDELAI (SOYBEAN)
SECARA IN VITRO**

***The Used of Natural Leaf Fertilizer Medium on Callus Growth of Three Soy Bean
Varieties By In Vitro***

Endah Wahyurini

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta
Jl. SWK (Lingkar Utara) 104 Condongcatur, Depok, Sleman, Yogyakarta 55283
Alamat e-mail : endahwahyurini@yahoo.com

ABSTRACT

The government program to improve productivity and Soybean production to achieve self sufficiency on 2010. To achieved self sufficiency Soybean the most amount, short time, and the same genotype is by tissue culture technique. Macro and micro nutrition in the medium tissue culture is important to growing callus. The experiment was conducted at the Biotechnology Laboratory, Agrotechnology of UPN "Veteran" Yogyakarta from Juni to September 2010. The experiment with two factors was arranged in Randomized Completely Design. One Factor is concentration natural leaf fertilizer medium were : 1 mg/l, 2 mg/l and 3 mg/l. Two Factor is varieties soy bean were : Detam, Edamame, and Mallika. Data were subjected to an analysis of variance followed by Duncan's New Multiple Range Test at 5% significance level. The objectivity results that the treatment of 1 mg/l natural leaf fertilizer the most time of callus emerge (days). Soy Bean Varieties Mallika respon explant to time of callus emerge (days), growth procentage and dry weight. The combination treatment 2 mg/l natural leaf fertilizer P2K3 increased, fresh weight callus.

Keyword : natural leaf fertilizer, varieties soybean, invitro

PENDAHULUAN

Kedelai (Soybean) merupakan tanaman pangan yang memiliki nilai gizi yang tinggi dan termasuk 10 komoditas unggulan tanaman pangan disamping komoditas padi dan jagung. Pada beberapa tahun terakhir, produksi kedelai masih berkisar pada angka 600-700 ribu ton per tahun, sementara kebutuhan telah mencapai 2,0 juta ton. Setiap tahun Indonesia harus mengimpor kedelai sebesar 45%, jagung 10% (1,2 juta ton), kacang tanah 15%, garam 50%, susu 70%, gula 30%, dan daging sapi sebesar 25% dari kebutuhan nasional. (Beritabumi, Jumat 18 Oktober 2007).

Rendahnya produksi nasional kedelai, disamping karena luas areal pertanaman yang masih terbatas atau menurun, juga karena produktifitas per satuan luas masih rendah. Hal ini disebabkan oleh penggunaan benih yang bermutu rendah dan oleh adanya serangan penyakit (Anonim, 2010). Selain itu juga adanya bencana alam, musim penghujan dan kemarau yang berkepanjangan menyebabkan menurunnya produktivitas kedelai. Kendala pengembangan kedelai yaitu penyediaan bibit bermutu yang sangat terbatas. Hal ini dapat diatasi dengan perbanyak kedelai secara *in vitro*

atau kultur jaringan. Teknologi ini mempunyai beberapa manfaat antara lain dapat menyediakan bibit secara seragam dan mempunyai sifat yang sama dengan induk yang superior dan bibit mempunyai kesehatan yang sama (Gunawan, 1988).

Teori dasar dari kultur jaringan adalah totipotensi dari Scleiden dan Schwan, di mana dikatakan bahwa setiap sel hidup mempunyai kemampuan untuk berproduksi, membentuk organ, dan berkembang menjadi individu baru yang sempurna/utuh jika ditumbuhkan pada media dan lingkungan yang sesuai (Murashige dan Skoog, 1962 cit Wahyurini, 2008). Kultur jaringan telah terbukti dapat menyediakan bibit berbagai tanaman yang akan dieksploitasi secara luas terutama pada tanaman semusim (berdinding lunak). Melalui kultur *in vitro* tanaman dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan, karena faktor perbanyakannya yang tinggi.

Dalam Kultur *in vitro* menurut Yusnita (2003) keberhasilan dalam penggunaan metode Kultur *in vitro*, sangat bergantung pada media yang digunakan. Secara umum kebutuhan kebanyakan tanaman hampir sama, tetapi secara khusus hal tersebut berbeda. Kesamaannya yaitu tanaman memerlukan vitamin, karbohidrat, asam amino, zat pengatur tumbuh, zat pematid, serta hara makro dan mikro. Pada umumnya media yang sering digunakan untuk kultur *in vitro* pada tanaman pangan adalah media MS. Untuk menyiasati mahalnnya zat kimia, pada saat ini telah berkembang teknologi alternative yaitu penggunaan medium dengan komposisi pupuk daun. Penggunaan medium pupuk daun telah dilakukan seperti : pengamatan perkecambahn seratus jenis anggrek alam konservasi Kebun Raya Bogor secara *in vitro* (Mursidawati dan Handini, 2008), perlakuan pupuk daun Bayfoaln 2 ml/l dapat meningkatkan pertumbuhan kalus paprika (Susetiyono, 2003). Akan tetapi untuk konsentrasi dan jenis pupuk yang digunakan setiap tanaman berbeda beda dan masih belum diketahui secara detail.

Kedelai yang biasanya dibudidayakan diantaranya adalah kedelai putih (bijinya bisa berwarna kuning, agak putih, atau hijau) dan kedelai hitam (berbiji hitam). Genotipe kedelai yang mampu tumbuh, berkembang baik membentuk kalus sangat dipengaruhi oleh komposisi media kultur yang tepat. Maka dari itu perlu dilakukan penelitian tentang "Pemanfaatan media alami pupuk daun terhadap pertumbuhan eksplan tiga varietas kedelai secara *In Vitro*" Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi media alami pupuk daun dan varietas mana yang paling baik pertumbuhan eksplan serta adakah interaksi antara konsentrasi media alami pupuk daun dengan varietas kedelai secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Bioteknologi Tanaman Jurusan Agroteknologi, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta pada bulan Juni sampai September 2010. Bahan yang digunakan antara lain : benih kedelai varietas Detam, Edamame, dan Mallika, polybag, media pasir, pupuk kandang, media MS (Murashige dan Skoog), agar, sukrosa, 2,4 D, desinfektan agrimycin, benlate, alkohol 96%, bayclin 50%, akuades steril, aluminium foil, kertas saring, sarung tangan dan detergen. Alat yang digunakan antara lain : botol kultur, gelas ukur, cawan petri, pH stik, Laminair Air Flow (LAF), disintect set, lampu bunsen dan autoklaf.

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak lengkap 2 faktor, dengan 3 ulangan. Faktor I adalah konsentrasi pupuk daun dengan tiga aras yaitu : 1 mg/l, 2 mg/l dan 3 mg/l. Faktor ke II yaitu varietas kedelai terdiri 3 aras yaitu Detam, Edamame, dan Mallika. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam pada jenjang nyata 5% dan diuji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada jenjang nyata taraf 5% untuk rerata yang berbeda nyata.

Pelaksanaan penelitian diawali dengan sterilisasi alat dalam autoklaf pada suhu 1210 C, tekanan 15 lb selama 10 menit, dan pembuatan media pupuk daun sesuai perlakuan disterilisasi pada autoklaf selama 15 menit. Mengecambahkan biji kedelai dalam botol steril yang diberi kapas yang telah

dibasahi akuades. Setelah perkecambahan berumur 4 hari, kotiledon bisa diambil sebagai bahan tanam kultur jaringan. Eksplan yang dipergunakan adalah eksplan kotiledon dari tanaman kedelai

Sterilisasi kotiledon dengan clorox 5% di gojok selama ±3 menit di dalam LAF. Menyayat bagian atas kotiledon di dalam cawan petri dengan menggunakan pisau blade dibantu dengan pinset yang telah disterilkan. Memasukkan kotiledon yang telah dilukai kedalam botol kultur yang telah berisi media steril dan ditutup kembali dengan aluminium foil. Botol kultur yang berisi eksplan diletakkan dalam rak-rak diruang inkubator bersuhu 230°C. Selanjutnya pemeliharaan meliputi, penyemprotan ruang inkubasi dengan alkohol 70% dan menyingkirkan eksplan yang terkontaminasi.

Parameter pengamatan meliputi : hari munculnya kalus, prosentase tumbuh, bobot basah dan bobot kering tanaman. Hari munculnya kalus diamati setiap hari untuk mengetahui respon kotiledon membentuk kalus. Sedangkan pengamatan prosentase tumbuh, bobot basah dan bobot kering diamati pada akhir penelitian atau minggu ke 10 setelah tanam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis hari munculnya kalus menunjukkan perlakuan pupuk daun dan varietas kedelai berpengaruh nyata. Tidak terdapat interaksi antara kedua perlakuan. Nilai rerata hari munculnya kalus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata hari munculnya kalus (hari)

Perlakuan	P1 (1 mg/l)	P2 (2 mg/l)	P3 (3 mg/l)	Rata rata
K1 (Dotam)	12,78	9,25	13,75	11,93 b
K2 (Edamame)	11,75	9,50	12,50	11,25 b
K3 (Mallika)	8,5	9,25	9,75	9,17 a
rata-rata	11,01 q	9,33 p	12,00 q	(-)

Keterangan: Rerata yang diikuti dengan huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan pupuk daun 2 mg/l (P2) nyata lebih cepat munculnya kalus dibandingkan perlakuan lainnya. Pemberian pupuk daun yang mengandung unsur N dapat merangsang pembentukan kalus. Unsur N merupakan penyusun asam amino digunakan untuk penyusun protein yang pada tubuh tanaman merupakan bahan untuk membentuk sel (Susetyono, 2003). Pada perlakuan kedelai varietas Mallika nyata lebih cepat munculnya kalus dibandingkan perlakuan varietas lainnya. Bahan eksplan kedelai Mallika berupa cotiledon yang berisi cadangan makanan dan mempunyai kemampuan sel untuk menerima unsur hara. Pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain: keadaan eksplan meliputi macam jaringan, umur tanaman asalnya; faktor lingkungan meliputi suhu, kelembaban, polusi udara, teknik pelaksanaannya dalam laboratorium, komposisi sukrosa dalam media dan pH media. Oleh karena itu faktor-faktor tersebut harus diperhatikan untuk pertumbuhan kalus (Santosa, U dan Fatimah, N, 2004).

Hasil analisis pada parameter prosentase tumbuh menunjukkan perlakuan varietas kedelai berpengaruh nyata, tetapi tidak berpengaruh nyata pada perlakuan konsentrasi pupuk daun. Prosentase tumbuh pada semua konsentrasi pupuk daun (Tabel 2) relatif sama, artinya kandungan unsur hara yang terdapat dalam media pupuk daun tidak berpengaruh nyata karena jumlah unsur

hara yang tersedia belum memadai untuk perkembangan eksplan kedelai (Damayanti, 2000). Pertumbuhan eksplan kedelai varietas Mallika menunjukkan prosentase tumbuh nyata lebih banyak dibandingkan varietas lainnya (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena pada eksplan kotiledon Mallika terdapat banyak cadangan makanan yang menyebabkan eksplan tersebut berkembang lebih cepat dibandingkan yang lainnya. Kotiledon merupakan organ cadangan makanan pada biji sekelompok tumbuhan, sekaligus organ fotosintetik pertama yang dimiliki oleh tumbuhan yang baru saja berkecambah. Menurut Sriyanti cit, Ursila (2004) tiga kunci keberhasilan dalam pembentukan kalus ialah adanya jaringan hidup yang steril, medium yang mempunyai nutrisi optimum dan lingkungan kultur yang cocok.

Tabel 2. Rerata prosentase tumbuh (%)

Perlakuan	P1 (1 mg/l)	P2 (2 mg/l)	P3 (3 mg/l)	Rata rata
K1 (Detam)	93,33	93,33	98,33	95,10 b
K2 (Edamame)	100	96,67	98,33	98,33 b
K3 (Mallika)	100	98,33	100	99,44 a
rata-rata	97,77 p	96,11 p	98,89 p	(-)

Keterangan: Rerata yang diikuti dengan huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi

Hasil analisis pada parameter bobot basah menunjukkan terdapat interaksi antara perlakuan konsentrasi pupuk daun dengan varietas kedelai (Tabel 3). Kombinasi perlakuan kedelai varietas Mallika dengan pemberian pupuk daun 2 mg/l nyata (P2K3) nyata meningkatkan bobot basah eksplan dibandingkan perlakuan lain. Pemberian pupuk daun 2 mg/l pada cotiledon kedelai Mallika mampu memberikan unsur hara yang sesuai pada cotiledon kedelai Mallika. Peningkatan biomassa eksplan kedelai Mallika merupakan hasil dari proses penyerapan unsur hara. Hal ini dapat dimungkinkan bahwa dengan kondisi Nitrogen yang cukup maka proses pembentukan protein untuk melakukan pembelahan sel maupun morfogenesis sel menjadi lebih aktif (Gunawan, 1988).

Tabel 3. Rerata bobot basah (g)

Perlakuan	P1 (1 mg/l)	P2 (2 mg/l)	P3 (3 mg/l)	Rata rata
K1 (Detam)	1,58 f	2,08 d	1,88 e	1,85
K2 (Edamame)	1,76 f	2,34 c	1,89 e	2,00
K3 (Mallika)	2,28 c	2,79 a	2,63 b	2,57
rata-rata	1,87	2,40	2,13	(+)

Keterangan: Rerata yang diikuti dengan huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. Tanda (+) menunjukkan ada interaksi

2. Kedelai varietas Mallika menunjukkan pertumbuhan kalus yang paling baik pada parameter hari munculnya kalus, prosentase tumbuh dan bobot kering.
3. Kombinasi perlakuan media alami pupuk daun 2 mg/l pada kedelai Mallika (P2K3) dapat meningkatkan bobot basah kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Balitkab. Kajian Pengembangan dan Inovasi Teknologi Kedelai Terkini Menuju Swasembada Tahun 2014. Seminar Nasional Kedelai : Malang 29 Juni .
- Anonim. 2010. Beritabumi. <http://www.beritabumi.go.id>. Diunduh 18 Oktober 2007.
- Damayanti, R.T. 2000. Induksi Kalus Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) pada Berbagai Macam Media Tumbuh (tidak dipublikasikan) Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England.
- Gunawan, L. W. 1988. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi ITB Bogor. Departemen Jenderal Pendidikan dan Kebudayaan. Hal 78-79.
- Mursidawati dan Handini. 2008. Pengaruh Penggunaan berbagai Pupuk Daun sebagai Media Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium* | Sp secara *In vitro* . http://www.dams_orchids.go.id. Diunduh 15 Juni 2010.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. Wards Worth Publishing Company. California. Hal: 74-270.
- Santoso, U dan Fatimah, U. 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Septiana, E. 2010. Respon Berbagai Konsentrasi Sukrosa terhadap Pertumbuhan Eksplan Tanaman Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Varietas Mallika secara *in-vitro*. UPN "Veteran" Yogyakarta. Laporan Penelitian tidak dipublikasikan.
- Susetyono, A. 2003. Pengaruh Konsentrasi Pupuk daun dan Sukrosa terhadap Pertumbuhan Eksplan Paprika (tidak dipublikasikan) Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta.
- Ursila, P. 2004. Pengaruh Konsentrasi NAA pada Media MS terhadap Pertumbuhan Kalus Melon (*Cucumis melo* L.) Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Yogyakarta laporan penelitian tidak dipublikasikan
- Wahyurita, E. 2008. Pengaruh Sukrosa dalam Peningkatan Potensi Benih Jagung Manis Melalui Kultur embrio. Prosiding Seminar Nasional Perbenihan dan Kelembagaan Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta: 10-11 Nopember 2008. Hal 18.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien. Agromedia Persada: Jakarta.