

Perlakuan Amonium Nitrat dan Sukrosa untuk Pertumbuhan Eksplan Kedelai secara *In Vitro*

Danie Indra Yama¹, Ellen Rosyelina Sasmita¹, dan Tuti Setyaningrum¹

¹Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta

Abstrak

Perbanyakan kedelai dapat dilakukan dengan kultur jaringan. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi garam amonium nitrat dan konsentrasi sukrosa yang terbaik untuk pertumbuhan eksplan kedelai secara *in vitro*, dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta, mulai Oktober 2012 sampai Februari 2013. Metode adalah percobaan laboratorium dengan rancangan faktorial 4 x 3 disusun dalam Rancangan Acak Lengkap, diulang 3 kali setiap ulangan 5 botol. Faktor pertama konsentrasi amonium nitrat, A₁ : 412,5 mg/l, A₂ : 825 mg/l, A₃ : 1237,5 mg/l, A₄ : 1650 mg/l. Faktor kedua konsentrasi sukrosa, S₁ : 10 g/l, S₂ : 20 g/l, S₃ : 30 g/l. Parameter yang diamati meliputi waktu muncul kalus (hst), perkembangan kalus, warna kalus, persentase hidup kalus (%), bobot segar kalus (gram), bobot kering kalus (gram), kandungan N total (%). Data hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam pada jenjang nyata 5%, untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan diuji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada jenjang nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi perlakuan A3S2 (amonium nitrat 1237,5 mg/l dan sukrosa 20 g/l) memberikan hasil terbaik pada parameter waktu muncul kalus dan kandungan N total.

Kata kunci : amonium nitrat, sukrosa, kedelai

Pendahuluan

Produksi tanaman kedelai lokal diperkirakan terus merosot di tengah lonjakan harga kedelai dunia yang menunjukkan trend kenaikan. Menurut data BPS 2011 pada tahun 2009-2010 produksi kedelai menurun 47.498 ton dan pada tahun 2010-2011 produksi menurun 87.565 ton. Hal ini salah satunya disebabkan petani yang semula menanam kedelai kini beralih dengan budidaya padi, jagung dan tanaman pangan lainnya. Oleh karena itu Indonesia tergantung pada negara lain untuk memenuhi kebutuhan kedelai tersebut. Kedelai banyak manfaatnya, dapat digunakan sebagai bahan makanan seperti tempe, kecap, tauco, susu kedelai, dapat juga digunakan sebagai bahan kosmetik dan obat. Protein pada kedelai berfungsi untuk menurunkan kolesterol, menghambat perkembangan sel-sel kanker, mencegah kerapuhan tulang, dan memperlambat menopause (Koswara, 2006)

Teknologi kultur jaringan merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi kedelai. Pada cara konvensional kendalanya yaitu petani masih menggunakan benih berkualitas rendah, pengendalian hama penyakit tanaman belum memadai, dan kekeringan. Cara kultur jaringan dengan memanipulasi komposisi media

yaitu amonium nitrat dan sukrosa diharapkan mampu memenuhi produksi kedelai di Indonesia.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan metode percobaan laboratorium dengan rancangan faktorial 4 x 3 yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 2 faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama konsentrasi garam amonium nitrat A1 : 412,5 mg/l, A2 : 825 mg/l, A3 : 1237,5 mg/l, A4 : 1650 mg/l. Faktor kedua konsentrasi sukrosa S1: 10 g/l, S2 : 20 g/l, S3 : 30 g/l. Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi benih kedelai varietas Willis, media MS (Murashige dan Skoog), agar-agar, sukrosa, 2,4 D, alkohol 70 % dan 96 %, clorox 10%, bakterisida agrept, aquades steril, dan sabun cuci, botol kultur, beker gelas, petridis, gelas ukur, pipet, tabung erlemeyer, pengaduk kaca, timbangan analitis, pH stik, *autoclave*, kompor, *stirer*, *Laminar Air Flow*, ruang inkubasi, pinset, pisau, skalpel, label, lampu spiritus, botol sprayer, aluminium foil, rak kultur, sarung tangan plastik, plastik wrap, masker, spidol marker dan buku Munsell.

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi alat dengan *autoklaf* dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 45 menit, pembuatan media (memasukan stok makronutrien 50 ml, stok besi 2,5 ml, stok mikronutrien 2,5 ml, stok vitamin 2ml, *mio inositol* 0,05 g kedalam beker gelas yang berisi 500 ml dan digojog, menambahkan sukrosa sesuai dengan perlakuan, memasukkan ZPT 2,4 D 2 ppm, menambahkan aquades sampai volume mencapai 1000 ml, mengukur pH 5,7-5,8, menambahkan agar-agar 8 g/l, memanaskan media sampai mendidih, menuangkan media ke dalam botol kultur dan menutupnya dengan *aluminium foil*, ensterilisasikan di dalam *autoklaf* selama 30 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi, penyiapan eksplan (biji kedelai dihilangkan kulit arinya, direndam dalam bakterisida 10 menit, membilas dengan aquadest, merendam deterjen selama 8 menit, membilas dengan aquadest, memasukkan ke dalam *Laminar Air Flow*, dan mensterilisasi dengan alkohol 70% 5 menit dan clorox 10% selama 8 menit, membilas dengan aquades), penanaman, pemeliharaan dengan penyemprotan dengan alkohol.

Hasil dan Pembahasan

Waktu muncul kalus (hst) dan Kandungan N total (%)

Hasil analisis parameter waktu muncul kalus (hst) dan kandungan N total (%) pada perlakuan konsentrasi garam amonium nitrat dan konsentrasi sukrosa terdapat interaksi antara perlakuan tersebut. Perlakuan A3S2 merupakan perlakuan yang terbaik untuk waktu muncul kalus dan kandungan N total. Hal ini diperkirakan pada konsentrasi tersebut terkandung ion NH_4^+ dan NO_3^- dapat mendukung dalam pembelahan, perpanjangan sel yang lebih cepat dan tekanan osmotik pada media mencapai pada tekanan yang optimal sehingga sel-sel dapat lebih cepat menerima unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan (Ni'mah, dkk., 2012).

Tabel 1. Rerata waktu muncul kalus (hst), rerata kandungan N total (%) pertumbuhan eksplan kedelai.

Perlakuan	Rerata Waktu Muncul Kalus (hst)	Rerata Kandungan N total (%)
A1S1	10,22 a	2,54 c
A1S2	8,67 ab	1,31 f
A1S3	9,11 ab	1,72 e
A2S1	7,78 abc	2,22 d
A2S2	7,11 abc	1,83 e
A2S3	10,00 a	2,14 d
A3S1	6,89 bc	1,55 ef
A3S2	8,44 ab	5,06 a
A3S3	5,67 c	3,18 b
A4S1	7,89 abc	2,64 c
A4S2	7,56 abc	3,17 b
A4S3	9,56 ab	3,04 b
Interaksi AS	+	+

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji jarak berganda Duncan dengan jenjang nyata taraf 5%. Tanda (+) menunjukkan adanya interaksi.

Perkembangan kalus, persentase hidup kalus (%), bobot segar kalus (g), bobot kering kalus (g)

Hasil analisis pada tidak menunjukkan pengaruh nyata pada perlakuan konsentrasi sukrosa, tetapi perlakuan konsentrasi garam amonium nitrat menunjukkan pengaruh nyata pada parameter bobot segar kalus (g) dan bobot kering kalus. Perlakuan amonium nitrat dan sukrosa tidak menunjukkan adanya interaksi. Hal ini diduga amonium nitrat yang diberikan mempengaruhi terhadap bobot segar (g) dan bobot kering kalus (g) sehingga menunjukkan adanya penambahan volume, berat dan jumlah sel pada kalus yang nyata sehingga bobot segar dan bobot kering kalusnya lebih berat.

Semakin tinggi konsentrasi garam amonium nitrat maka kandungan air yang terkandung dalam kalus semakin tinggi juga. Hal ini disebabkan penambahan amonium nitrat membantu menaikkan tekanan turgor sel. Oleh karena itu, peningkatan ion nitrogen dalam jumlah besar akan menaikkan tekanan turgor sel, yang berarti meningkatnya kadar air dalam kalus (Salisbury dan Ross, 1992). Semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka kandungan air pada kalus semakin rendah, yang berarti pula semakin meningkat berat keringnya.

Tabel 2. Perkembangan kalus, persentase hidup kalus (%), bobot segar kalus (g), bobot kering kalus (g) pertumbuhan eksplan kedelai.

Perlakuan	Perkembangan Kalus	Persentase Hidup Kalus (%)	Bobot Segar Kalus (g)	Bobot Kering Kalus (g)
A1 (412,5 mg/l)	5,63 a	84,44 a	0,26 b	0,03 b
A2 (825 mg/l)	5,67 a	88,89 a	0,48 ab	0,04 ab
A3(1237,5 mg/l)	6,19 a	88,89 a	0,70 a	0,06 a
A4 (1650 mg/l)	5,89 a	84,44 a	0,62 a	0,04 ab
S1 (10 g/l)	6,39 p	86,67 p	0,55 p	0,04 p
S2 (20 g/l)	5,36 p	80,00 p	0,52 p	0,04 p
S3 (30 g/l)	5,78 p	93,33 p	0,47 p	0,05 p
Interaksi AS	-	-	-	-

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji jarak berganda Duncan dengan jenjang nyata taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Warna kalus

Pengamatan warna kalus diukur dengan menggunakan *Munsell Chart for Plant Tissues*. Semua kombinasi perlakuan menghasilkan warna yang bervariasi yaitu dari kuning sampai hijau kekuning-kuningan kecuali pada kombinasi perlakuan A2S1 dan A1S2 menghasilkan warna dari kuning kemerah-merahan sampai hijau kekuning-kuningan. Hal ini diperkirakan karena garam amonium nitrat mempengaruhi keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak kandungan klorofil dan kualitas kalus semakin baik dan sehat (Fatmawati, 2008).

Tabel 3. Rerata warna kalus pada perlakuan konsentrasi garam amonium nitrat dan konsentrasi sukrosa.

Konsentrasi Garam Amonium Nitrat	Konsentrasi Sukrosa		
	S1 (10 g/l)	S2 (20 g/l)	S3 (30 g/l)
A1 (412,5 mg/l)	7/6 2,5 Y – 8/2 2,5 GY	6/6 7,5 YR – 8/6 2,5 GY	8/6 2,5 Y – 8/10 2,5 GY
A2 (825 mg/l)	8/6 7,5 YR – 8/8 5 Y	8/6 2,5 Y – 8/6 2,5 GY	7/6 2,5 Y – 8/6 2,5 GY
A3 (1237,5 mg/l)	7/6 2,5 Y – 8/8 2,5 GY	7/8 2,5 Y – 8/4 7,5 GY	8/4 2,5 Y – 8/8 2,5 GY
A4 (1650 mg/l)	8/8 5 Y – 8/8 2,5 GY	8/6 2,5 Y – 8/6 2,5 GY	8/10 2,5 Y – 8/4 2,5 GY

Keterangan : v/c n, v= Value, c= Chroma , n= nilai Hue, H= Hue

Kesimpulan

Terbatas pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Perlakuan konsentrasi garam amonium nitrat menunjukkan pengaruh nyata pada parameter waktu muncul kalus, bobot segar kalus, dan kandungan N total, sedangkan perlakuan konsentrasi sukrosa menunjukkan pengaruh nyata pada parameter kandungan N total.

2. Konsentrasi garam amonium nitrat A3 (1237,5 mg/l) meningkatkan saat muncul kalus, bobot segar kalus, bobot kering kalus dan menghasilkan kandungan N total tertinggi.
3. Konsentrasi sukrosa S2 (20 g/l) meningkatkan waktu muncul kalus dan menghasilkan kandungan N total tertinggi pada kalus kedelai.
4. Kombinasi perlakuan A3S2 (amonium nitrat 1237,5 mg/l dan sukrosa 20 g/l) memberikan hasil terbaik pada parameter waktu muncul kalus dan kandungan N total.

Daftar Pustaka

- Badan Pusat Statistik. 2011. *Tabel Produksi Tanaman Kedelai di Indonesia*. <http://www.bps.go.id/> (12 Mei 2012).
- Fatmawati, A. 2008. *Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia annua L. secara in vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian. UNS Surakarta.
- Koswara, S. 2006. *Isoflavon, Senyawa Multi-Manfaat dalam Kedelai*. ebookpangan (19 Juni 2012).
- Ni'mah, F., E. Ratnasari, dan Lukas. 2012. *Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi Konsentrasi Sukrosa dan Kinetin terhadap Induksi Umbi Mikro Kentang (Solanum tuberosum L) Secara In Vitro*. Universitas Negeri Surabaya.
- Salisbury, F.B dan Ross, C. W. 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. Institute Teknologi Bandung. Bandung