

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sejarah, Morfologi dan Sistematika Tanaman Padi

Berdasarkan sejarahnya, padi termasuk dalam marga *Oryza* yang mempunyai ±25 jenis yang tersebar di daerah tropik dan subtropik seperti di Asia, Afrika, Amerika dan Australia. Dewasa ini tanaman padi banyak ditanam di daerah dataran rendah. Tanaman padi yang cocok hidup di daerah tropis adalah padi indica, sedangkan padi yang cocok hidup di daerah subtropis adalah padi Japonica (Aak, 1995).

Padi (*Oryza sativa* L) merupakan salah satu tanaman budidaya terpenting dalam peradaban manusia. Padi sudah dikenal sebagai tanaman pangan sejak jaman prasejarah. Pada saat ini produksi padi dunia menempati urutan ketiga dari semua serealia setelah jagung dan gandum (Purnamaningsih, 2006).

Padi termasuk dalam keluarga padi-padian atau *Poaceae* (Graminae). Padi termasuk terna semusim, berakar serabut, batang sangat pendek, struktur serupa batang terbentuk dari rangkaian pelepah daun yang saling menopang, daun sempurna dengan pelepah tegak, daun berbentuk lanset, warna hijau muda hingga hijau tua, berurat daun sejajar, tertutupi oleh rambut yang pendek dan jarang, bunga tersusun majemuk, tipe malai bercabang, satuan bunga disebut floret, yang terletak pada satu spikelet yang duduk pada panikula, buah tipe bulir atau kariopsis yang tidak dapat dibedakan mana buah dan bijinya, bentuk hampir bulat hingga lonjong, ukuran 3 mm hingga 15 mm, tertutup oleh palea dan lemma yang

dalam bahasa sehari-hari disebut sekam, struktur dominan adalah endospermium yang dimakan orang (Aak, 1995).

Padi termasuk tanaman semusim atau tanaman berumur pendek, kurang dari satu tahun dan hanya sekali berproduksi, setelah berproduksi akan mati atau dimatikan. Menurut Aak (1995), tanaman padi dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu :

1. Bagian Vegetatif

- a. Akar, merupakan bagian tanaman yang berfungsi untuk menyerap air dan zat makanan dari dalam tanah, kemudian diangkut ke bagian atas tanaman. Akar tanaman padi dapat dibedakan menjadi akar tunggang, akar serabut, akar rambut dan akar tajuk. Gambar akar padi dapat dilihat pada Gambar 1.



a

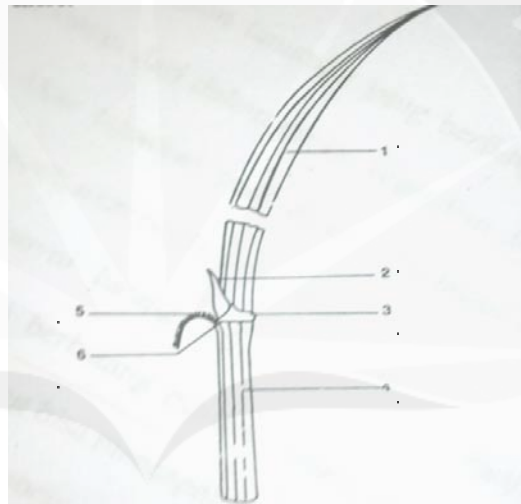
Gambar 1. Tanaman Padi (Sumber: Aak, 1995).
Keterangan a: Akar Padi

- b. Batang, padi mempunyai batang yang beruas-ruas. Padi Ciherang mempunyai batang yang tingginya berkisar antara 107-115 cm dan warna batangnya hijau
- c. Anakan, tanaman padi akan membentuk rumpun dengan anakannya, biasanya anakan akan tumbuh pada dasar batang. Pembentukan anakan

terjadi secara bersusun yaitu anakan pertama, kedua, ketiga dan seterusnya.

Padi Ciherang mempunyai anakan produktif sekitar 14-17 batang.

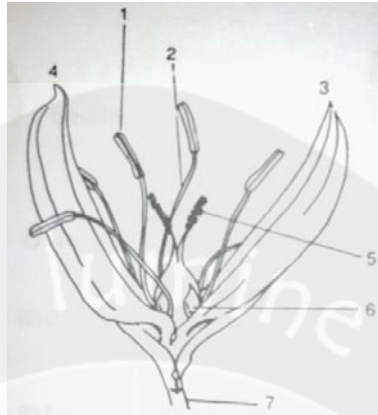
- d. Daun, ciri khas daun padi adalah sisik dan telinga daun. Daun padi Ciherang dibagi menjadi beberapa bagian yakni helaian daun, pelepah daun, dan lidah daun. Daun berwarna hijau, muka daun sebelah bawah kasar, posisi daun tegak dan daun benderanya tegak. Gambar daun padi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Daun padi dan bagian-bagiannya (Sumber : Aak, 1995).
Keterangan : 1. Helaian daun, 2. Sisik daun, 3. Leher daun,
4. Pelepah daun 5. Telinga daun, 6. Dasar helaian daun

2. Bagian Generatif

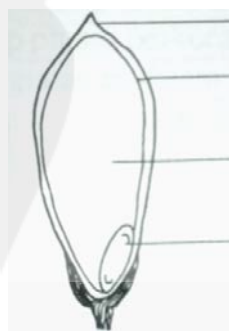
- a. Malai, merupakan sekumpulan bunga padi (*Spikelet*) yang keluar dari buku paling atas. Bulir padi terletak pada cabang pertama dan kedua. Panjang malai tergantung pada varietas padi yang ditanam dan cara menanamnya. Malai dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Malai Padi (Sumber : Aak, 1995)

Keterangan : 1. Kepala Sari, 2. Tangkai Sari,
3. Palea 4. Lemma 5. Kepala Putik,
6. Lodicula, 7. Tangkai Bunga

- b. Buah padi (Gabah), merupakan *ovary* yang sudah masak, bersatu dengan *palea*. Buah ini adalah hasil penyerbukan dan pembuahan yang mempunyai bagian-bagian seperti embrio (lembaga), *endosperm*, dan bekatul. Bentuk gabah padi Ciherang adalah panjang ramping dan warna gabah kuning bersih. Gabah yang sudah dibersihkan kulitnya disebut dengan beras. Beras mengandung berbagai zat makanan yang penting untuk tubuh, antara lain : karbohidrat, protein, lemak, serat kasar, abu, dan vitamin. Gambar buah padi beserta bagian-bagiannya dapat dilihat pada Gambar 4.



a

b

c

d

Gambar 4. Buah padi dan bagian-bagiannya (Sumber: Aak, 1995).

Keterangan : a. Sekam, b. Bekatul, c. Endosperm, dan d. Embrio

B. Tanaman Padi Ciherang

Menurut Balai Besar Penelitian Padi Bogor (2008), padi Ciherang mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut, padi Ciherang termasuk golongan indica, umur tanam berkisar antara 116-125 hari, bentuk tanaman tegak, tinggi 107-115 cm, mempunyai anakan produktif sebanyak 14-17 batang, warna batang hijau, warna daun hijau, muka daun kasar pada sebelah bawah, posisi daun tegak, daun bendera tegak, bentuk gabah panjang ramping, warna gabah kuning bersih, tingkat kerontokan dan kerebahan sedang dan tekstur nasi pulen. Biji padi Ciherang mempunyai kadar amilosa 23% dan memiliki bobot 27-28 gr per 1000 butirnya. Karakter khusus butir beras Ciherang berbentuk panjang dan tidak berbau wangi, berbeda dengan Beras Organik Pandan Wangi. Rata-rata produksi padi Ciherang mencapai 6,0 ton/Ha.

Padi Ciherang mempunyai ketahanan terhadap wereng coklat biotipe 2 dan 3 dan bakteri hawar daun strain III dan IV. Selain itu, beras padi Ciherang mempunyai karakteristik yang berbeda dengan beras organik varietas lain. Dalam budidayanya, Beras Ciherang dikenal karena mempunyai daya tahan yang lebih kuat terhadap hama daripada beras organik varietas lain. Padi Ciherang dapat dilihat pada Gambar 5. Berdasarkan berat kering, kandungan protein beras varietas Ciherang 10,3%, lemak 0,72%, dan karbohidrat 87,6%. Tiap 100 g beras Ciherang mengandung energi 401,9 kalori, vitamin B1 0,30 mg, vitamin B2 0,13 mg, vitamin B3 0,56 mg, vitamin B6 0,12 mg, asam folat 29,9 mikrogram, besi 4,6 ppm, dan seng 23 ppm. Vitamin B1 (tiamin) berperan sebagai ko-enzim dalam metabolisme karbohidrat (Balai Besar Penelitian Padi Subang, 2011).

Kedudukan tanaman padi dalam taksonomi (sistematika) tumbuhan menurut van Steenis (1992) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Bangsa	: Monokotil
Famili	: Graminaeae
Marga	: Oryza
Jenis	: <i>Oryza sativa</i> L. cv. Ciherang



Gambar 5. Tanaman Padi cv. Ciherang (Balai Besar Penelitian Padi Bogor (2008)

C. Budidaya Jaringan dan Manfaatnya

Kultur jaringan (kultur *in vitro*) merupakan metode perbanyakan vegetatif yang menggunakan suatu jaringan tanaman yang cukup kecil untuk dikembangkan di dalam suatu medium tertentu sehingga bisa menghasilkan bibit anakan dalam jumlah yang relatif banyak (Majnu, 1975).

Teknik kultur jaringan *in vitro* ini didasarkan pada sifat totipotensi yang dikemukakan oleh Schwan and Schleiden. Totipotensi merupakan kemampuan suatu sel yang diambil dari bagian manapun apabila ditumbuhkan pada medium yang sesuai dapat tumbuh menjadi satu tanaman utuh yang sempurna. Pada

medium yang sesuai, setiap satu jaringan akan dihasilkan beratus-ratus tunas kecil yang dapat tumbuh normal menjadi tanaman biasa (Sunarjono, 2002).

Menurut Dixon dan Gonzales (1985), perbanyak bibit melalui kultur *in vitro* mempunyai beberapa kegunaan seperti memperpendek siklus *breeding*, melestarikan tanaman langka, tanaman bisa terhindar dari virus dan bakteri pathogen, dan dapat menghasilkan metabolit sekunder.

D. Eksplan kultur *in vitro*

Eksplan merupakan bagian tanaman (dapat berupa sel, jaringan atau organ) yang dapat digunakan sebagai bahan inokulum awal yang ditanam dalam medium kultur *in vitro*. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan merupakan bagian yang mempunyai sel aktif membelah, berasal dari tanaman induk yang sehat dan berkualitas tinggi. Meskipun pada prinsipnya semua sel tanaman dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya eksplan dipilih dari bagian tanaman yang masih muda, yaitu daun muda, ujung akar, ujung batang, keping biji atau tunas (Ambarwati, 1992).

Menurut George dan Sherrington (1984), ukuran eksplan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan eksplan *in vitro*. Apabila eksplan terlalu kecil menyebabkan ketahanan eksplan yang kurang baik dalam kultur dan apabila eksplan terlalu besar, akan mudah terkontaminasi oleh mikroorganismenya.

Menurut Santosa dan Nursandi (2003), bahan yang umum digunakan untuk kultur jaringan adalah :

1. Sel, biasanya ditanam dalam bentuk suspensi dengan kepadatan tertentu.

2. Protoplas, biasanya dalam bentuk suspensi dengan kepadatan yang telah ditentukan. Mesofil daun, teras batang dan kalus merupakan bagian yang umum digunakan sebagai sumber protoplas.
3. Jaringan meristem, jaringan tanaman yang terdapat pada daerah-daerah pertumbuhan. Ciri jaringan ini adalah tersusun oleh sekelompok sel yang aktif membelah, sehingga belum ada spesialisasi bentuk dan fungsi dari sel-sel penyusunnya.
4. Kalus, merupakan massa sel yang bersifat meristematis dan belum terdeferensiasi. Kalus umumnya berwarna krem pucat atau putih, berbutir halus, remah dan bersifat hidup.
5. Organ, paling umum digunakan meliputi akar, batang, daun, biji, tunas, embrio, anther, kepala sari dan lain-lain.

E. Medium Kultur Jaringan

Medium kultur *in vitro* ada beberapa macam yaitu MS (*Murashige and Skoog*), VW (*Vacin and Went*), WPM (*Wood Plant Medium*), Medium Gamborg dan N6 (*Nitcsh and Nitsch*). Medium yang biasa digunakan untuk kultur *in vitro* adalah medium *Murashige and Skoog* (medium MS). Medium MS adalah medium umum yang biasa digunakan untuk kultur *in vitro* padi. Medium MS terdiri dari unsur makro dan mikro yang menunjang pertumbuhan tanaman. Selain itu juga terdapat bahan tambahan seperti vitamin dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Medium MS layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Gunawan, 1987). Komposisi medium MS standar dapat dilihat pada Lampiran 1.

F. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (hormon) merupakan faktor yang paling penting dalam meningkatkan perkembangan budidaya jaringan (Wareing dan Philips, 1976). Pada konsentrasi yang rendah hormon bisa mengatur proses fisiologi tumbuhan, karena dapat mempengaruhi asam nukleat. Pengaruh hormon terhadap asam nukleat dapat mempengaruhi sintesis protein dan pengaturan aktivitas enzim pada tumbuhan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Sitokinin dan auksin merupakan dua kelompok hormon tanaman. Secara umum auksin mempunyai efek merangsang pemanjangan sel terutama sel batang dan koleoptil. Auksin dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan tunas. Hormon yang termasuk kelompok auksin adalah Indol Asam Asetat (IAA), Indol Asam Butirat (IBA), Naftalene Asam Asetat (NAA), dan 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4 D) sedangkan sitokinin merupakan hormon yang mampu merangsang pembentukan tunas (Audus, 1972).

Menurut Gardner dkk. (1991), pada bagian meristem apikal tumbuhan mengandung hormon golongan sitokinin dalam konsentrasi tinggi. Hormon yang biasa digunakan untuk induksi kalus adalah hormon golongan auksin seperti 2,4D dan NAA sedangkan hormon untuk regenerasi tunas adalah kombinasi hormon golongan auksin dan sitokinin seperti NAA+BA dan NAA+Kinetin.

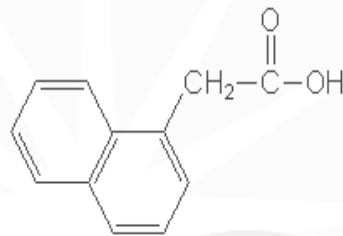
G. Zat Pengatur Tumbuh Untuk Induksi Kalus

a. Hormon NAA (Naftalene Asam Asetat)

Auksin merupakan hormon yang diproduksi secara alamiah dalam tubuh tanaman (Katuuk, 1989). Auksin banyak digunakan dalam kerja mikropropagasi

dan bekerja sama dengan medium (nutrien) untuk memelihara pertumbuhan kalus, suspensi sel atau organ (seperti meristem, tunas dan ujung akar) dan mengatur morfogenesis terutama dengan sitokinin. NAA (Naftalene Asam Asetat) merupakan salah satu jenis hormon auksin yang sangat lambat diuraikan oleh tumbuhan, tetapi stabil pada pemanasan autoklaf (Wattimena, 1992).

NAA merupakan jenis auksin sintetik yang tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti halnya IAA, NAA dapat diberikan pada medium kultur dengan konsentrasi rendah, berkisar antara 0,1-2mg/l. Struktur kimia dari hormon NAA dapat dilihat pada Gambar 6.



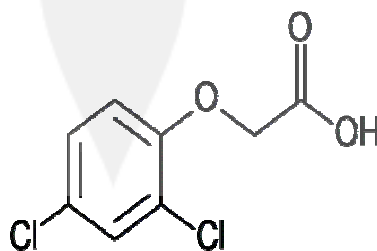
Gambar 6. Struktur kimia Hormon Naftalene Asam Asetat
(Sumber : Abidin, 1985).

Berdasarkan penelitian Hutami dkk. (1999), menunjukkan bahwa penggunaan auksin dengan konsentrasi tinggi (10-40mg/l) memberikan hasil yang baik untuk perkembangan kalus embriogenik tanaman kedelai. Penelitian Liu (2002), menghasilkan bahwa kombinasi 0,5 mg/l NAA dan 2 mg/l BA memberikan efek terbaik untuk diferensiasi embrio padi *Grain Straw Dual Use Rice* (GSDUR) sehingga dapat membentuk kalus sebesar 10,51 gr. Pembentukan kalus pada biji *Oryza sativa* cv. Swat-II yang ditanam pada media MS dengan penambahan NAA sebanyak 0,5 mg/l dan 2,4 D 1 mg/l menghasilkan kalus embriogenik dan kompak (Bano dkk., 2005).

b. Hormon 2,4 D (2,4-diklorofenoksiasetat).

Hormon 2,4 D merupakan golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus embriogenik pada sereal dan berperan untuk memacu hipermetilasi pada DNA agar pembelahan sel selalu dalam fase mitosis sehingga pembentukan kalus menjadi optimal (Menneses dkk., 2005). Berdasarkan penelitian pendahuluan di Puslitbangtan Bogor (2008), kisaran konsentrasi hormon 2,4D antara 0,5-2 mg/l cocok untuk menginduksi pembentukan kalus. Pada beberapa kultivar padi penambahan 2,4 D saja dalam media mampu menginduksi kalus.

Menurut Bhaskaran dan Smith, (1990), Penambahan hormon sitokinin tidak diperlukan untuk induksi kalus karena pada beberapa kultivar padi sudah mempunyai kandungan sitokinin yang cukup di dalam eksplannya. Konsentrasi 2,4 D yang paling baik untuk pembentukan kalus yaitu 2 mg/l pada medium MS (Sikder dkk., 2006). Hormon 2,4 D mempunyai sifat yang stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan oleh sel atau saat pemanasan pada proses sterilisasi, lebih tersedia, lebih murah dan paling efektif memacu pembentukan kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Struktur kimia hormon 2,4 D dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Kimia Hormon 2,4 D (Sumber : Abidin, 1985).

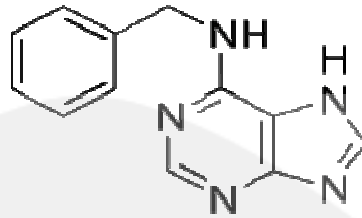
H. Zat Pengatur Tumbuh Untuk Regenerasi Tunas

a. Hormon BA (Benzil Adenin)

Benzil adenin merupakan salah satu kelompok hormon sitokinin. Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan adanya aktivitas sitokinin. Benzil adenin bersama 2,4-D dan NAA dibutuhkan untuk mendapatkan pembentukkan tunas yang baik (Bhojwani dan Razdan, 1996). Berdasarkan penelitian Purnamaningsih (2006), penambahan hormon BA 5 mg/l pada medium MS dapat menghasilkan daya regenerasi tunas padi Taipei 309 sebesar 76-79%.

Menurut Hirano dan Kohno (1990), efek penambahan BA 0,2 mg/l pada medium MS untuk regenerasi tunas *Zizania palustris* L. dapat menghasilkan persentase regenerasi tunas sebesar 56%. Menurut Purnamaningsih (2006), penambahan BA 2 mg/l dan NAA 0,5 mg/l menghasilkan rata-rata jumlah tunas 8,5 dan rata-rata jumlah akar tertinggi 12,8.

Formulasi medium terbaik untuk regenerasi tunas dari kalus biji padi cv. Fatmawati adalah menggunakan BA 2 mg/l (Lestari dan Yunita, 2008). Formulasi medium ini dapat memacu pembentukan tunas dari kalus padi sebesar 60%. Penambahan zeatin pada medium menyebabkan tunas sudah bisa menghasilkan akar sehingga dapat langsung diaklimatisasi. Regenerasi tunas *Alocasia* (Araceae) pada perlakuan BA 0,5 ppm dapat menghasilkan tunas baru sebanyak 7,8 tunas (Thao dan Ozaky, 2003). Struktur kimia hormon BA dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Kimia hormon Benzil Adenin
(Sumber : Abidin, 1985).

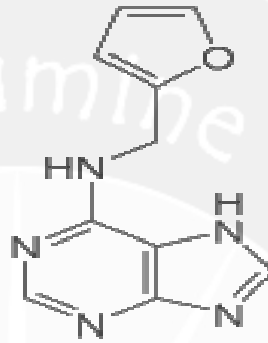
Penelitian Sikder dkk. (2006), menunjukkan bahwa kombinasi 0,5 mg/l NAA dan 5 mg/l BA menghasilkan efek regenerasi tertinggi sebesar 100%, rata-rata pertumbuhan tunas 14 pada regenerasi padi *Aromatic Rice* per kultur sebesar $5,55 \pm 1,44$ dengan tinggi rata-rata tunas (cm) $1,85 \pm 0,14$.

b. Hormon Kinetin

Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (6-amino purin). Adenin merupakan bentuk dasar yang sangat menentukan aktivitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan ikatan rangkap dalam rantai tersebut, akan meningkatkan aktivitas zat pengatur tumbuh ini (Abidin, 1985). Penelitian Marassi dkk. (1996), menemukan bahwa respon pertumbuhan tunas terbaik pada medium MS dengan kombinasi 0,1 atau 1 mg/l NAA dan 1,5 atau 2 mg/l kinetin.

Kinetin merupakan salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel. Struktur kimia hormon kinetin dapat dilihat pada Gambar 9. Menurut George dan Sherrington (1984), bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Hal ini didukung oleh pernyataan Wattimena (1992), bahwa sitokinin menyebabkan peningkatan pembelahan sel yaitu dalam proses sitokinesis terutama saat sintesis

RNA dan sintesis protein. Menurut Gunawan (1987), golongan sitokinin yang sering ditambahkan pada medium MS adalah kinetin, zeatin dan benzilaminopurin (BAP).



Gambar 9. Struktur kimia hormon kinetin (Sumber : Abidin 1985).

Kinetin dan BAP bersifat tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah. Penelitian dengan perlakuan kinetin 1 mg/l mampu mendorong pembentukan kalus pada tanaman *Cattleya sp* dengan eksplan berupa daun muda (Santoso dan Nursandi, 2003). Pada *Nephrolepis exaltata* digunakan kinetin 2 mg/l. Liu (2002), melakukan penelitian pada *Sacharum officinarum* dengan penambahan kinetin 1 mg/l dan menghasilkan pertumbuhan tunas sebesar 45%.

I. Kalus

Kalus adalah suatu kumpulan sel *amorphous* yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Penelitian pembentukan kalus pada jaringan terluka pertama kali dilakukan oleh Sinnott pada tahun 1960. Pembentukan kalus pada jaringan luka dipacu oleh zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin endogen (Dodds dan Roberts, 1983). Secara *in vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikroorganisme seperti *Agrobacterium tumefaciens*, gigitan atau tusukan

serangga dan nematoda. Kalus juga dapat terbentuk sebagai akibat stress (George dan Sherrington, 1984). Kalus yang diakibatkan oleh hasil dari infeksi bakteri *Agrobacterium tumefaciens* disebut tumor.

Sel-sel penyusun kalus berupa sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kultur jaringan, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril, di dalam medium yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin. Organ tersebut dapat berupa kambium vaskular, parenkim cadangan makanan, perisikel, kotiledon, mesofil daun, dan jaringan provaskular (George dan Sherrington, 1984).

Kalus mempunyai pertumbuhan yang abnormal dan berpotensi untuk berkembang menjadi akar, tunas, dan embrioid yang dapat membentuk *plantlet* (George dan Sherrington, 1984). Beberapa kalus ada yang mengalami pembentukan lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Namun ada kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi fragmen-fragmen yang kecil, kalus yang demikian dikenal dengan kalus remah (*friable*).

Warna kalus tergantung dari jenis sumber eksplan itu diambil, seperti warna kekuning-kuningan, putih, hijau, atau kuning kejingga-jinggaan. Kemampuan pembentuk kalus dari jaringan tergantung dari umur fisiologis dari jaringan pada waktu diisolasi, musim pada waktu bahan tanaman diisolasi, bagian tanaman yang dipakai dan jenis tanaman (George dan Sherrington, 1984).

J. Tunas

Tunas merupakan bagian tumbuhan yang tumbuh dari kecambah atau kuncup yang berada di atas permukaan tanah atau medium. Tunas terdiri dari

batang, ditambah dengan daun muda, calon bunga, atau calon buah. Dalam istilah fisiologi tumbuhan, tunas juga berarti semua bagian tumbuhan yang bukan akar, yaitu bagian tumbuhan yang cenderung memiliki geotropisme negatif (atau heliotropisme positif) (Tjitrosoepomo, 2004).

K. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Induksi Kalus dan Regenerasi Tunas

Keberhasilan kultur *in vitro* tanaman dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu :

1. Eksplan

Eksplan biasanya diambil dari bagian tumbuhan yang mempunyai sel yang aktif membelah, berasal dari tanaman induk yang sehat dan berkualitas tinggi. Bagian tanaman yang sering dipilih menjadi eksplan adalah bagian tanaman yang masih muda seperti daun muda, ujung akar, ujung batang, keping biji atau tunas (Ambarwati, 1992).

2. Medium tanam

Medium yang digunakan harus sesuai dengan nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman. Pada dasarnya komposisi media untuk kultur *in vitro* tanaman minimal terdiri dari bahan padat, bahan makanan (nutrisi) dan bahan pelengkap (Zat Pengatur Tumbuh) (Soecipto, 1994).

3. Kondisi lingkungan

Lingkungan tumbuh yang sesuai dengan kondisi tanaman seperti suhu lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan antara 20-25^oC. Kelembaban udara berkisar antara 80-99%. Kelembaban relatif di dalam ruang kultur

sekitar 70% namun kebutuhan kelembaban di dalam wadah kultur mendekati 90%.

4. Sterilitas Ruang Penabur dan Inkubasi

Ruang penabur dan inkubasi harus dijaga dalam keadaan steril supaya tidak menyebabkan terjadinya kontaminasi baik oleh bakteri maupun jamur. Ruang tersebut harus disemprot dengan alkohol secara rutin sebelum digunakan. Selain disterilkan secara kimia ruang penabur juga harus disterilkan dengan lampu UV supaya mikroorganisme yang terdapat didalamnya bisa musnah (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

5. Sterilitas Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan dipakai harus disterilkan dulu menggunakan autoklaf maupun oven. Hal ini dilakukan guna menghindari kemungkinan sumber kontaminan yang ada pada alat yang akan digunakan untuk kultur *in vitro* (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

L. Hipotesis

1. Kombinasi hormon NAA 0,5 mg/L dan 2,4D 2 mg/L merupakan kombinasi optimal untuk menginduksi pembentukan kalus biji *Oryza sativa* L. cv. Ciherang.
2. Kombinasi hormon NAA 0,5 mg/L dan 2,4D 2 mg/L memberikan pengaruh terbaik bagi morfologi kalus dari biji *Oryza sativa* L. cv. Ciherang yaitu berwarna kuning dan bertekstur remah
3. Kombinasi hormon 0,5 mg/L NAA + 2 mg/L BA dan 1 mg/L NAA + 2 mg/L kinetin merupakan kombinasi paling optimal untuk memacu regenerasi tunas dari kalus biji *Oryza sativa* L. cv. Ciherang.
4. Kombinasi hormon 0,5 mg/L NAA + 2 mg/L BA dan 1 mg/L NAA + 2 mg/L kinetin memberikan pengaruh terbaik bagi morfologi hasil regenerasi kalus *Oryza sativa* L. cv. Ciherang yaitu berwarna hijau, segar, lebih cepat membentuk daun dan akar.