

Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*

Deden Sukmadjaja^{1*} dan Ade Mulyana²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: deden_sukmadjaja@yahoo.com

²Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Banten

Diajukan: 10 Januari 2011; Diterima: 1 Juli 2011

ABSTRACT

Regeneration and Growth Some Varieties of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) through *In Vitro* Culture. Deden Sukmadjaja and Ade Mulyana. The research was conducted at the Laboratory of Tissue Culture The Biology of Cell and Tissue Researcher Group ICABIOGRAD, Bogor from June to November 2009 to studied growth and regenerations response some varieties of sugarcane through *in vitro* culture. The research activities have been carried out in three steps, i.e., callus formation, regeneration of shoots and roots regeneration. The type of explants used in the study was *in vitro* planlet explants of both sugarcane varieties. Seven media formulations were used for the callus induction and regeneration of shoots, while five media formulations were used for the roots regeneration. The results showed that the highest respond for calluses induction was Bulu Lawang varieties at media formulation MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0.4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹ and PS 951 varieties at media formulation MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0.4 mg.l⁻¹. While the highest respond for regeneration of shoots was Bulu Lawang varieties at media formulation MS0 (control MS) dan PS 951 varieties at media formulation MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + kinetin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0.5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0.5 mg.l⁻¹. The highest respond of roots regeneration was Bulu Lawang and PS 951 varieties at media formulation MS + IBA 1 mg.l⁻¹. Acclimatization of plantlets produced were grew successfully about 90-100% in greenhouse.

Keywords: Sugarcane, varieties, growth, regeneration, media formulation.

ABSTRAK

Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*. Deden Sukmadjaja dan Ade Mulyana. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan BB-Biogen Bogor dari bulan Juni sampai November 2009. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari respon pertumbuhan dan regenerasi beberapa varietas tanaman tebu secara *in vitro*. Penelitian terdiri dari tiga tahap yaitu, induksi kalus, regenerasi tunas, dan regenerasi perakaran. Bahan tanaman eksplan yang digunakan adalah biakan dua varietas tanaman tebu hasil kultur jaringan yang diambil bagian meristem apikal. Tujuh formulasi media

digunakan pada tahap induksi kalus dan regenerasi tunas, sedangkan pada tahap regenerasi perakaran digunakan lima formulasi media. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, respon induksi kalus tertinggi adalah varietas Bulu Lawang yang ditanam pada formulasi media MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg/l dan varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹. Sedangkan respon regenerasi tunas tertinggi adalah varietas Bulu Lawang yang ditanam pada formulasi media MS0 (MS kontrol) dan varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + kinetin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹. Respon regenerasi perakaran tertinggi adalah varietas Bulu Lawang dan PS 951 yang ditanam pada formulasi media MS + IBA 1 mg.l⁻¹. Jumlah planlet yang berhasil diaklimatisasi mencapai 90-100%.

Kata kunci: Tebu, varietas, pertumbuhan, regenerasi, formulasi media.

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman penting yang bernilai ekonomi tinggi di berbagai negara, terutama di negara berkembang yang beriklim tropis seperti Indonesia karena kandungan gulanya yang tinggi pada bagian batangnya. Di Indonesia dengan usaha meningkatkan produksi tanaman tebu diharapkan dapat mendorong perekonomian negara dengan penambahan atau penghematan devisa negara. Batang tebu dimanfaatkan terutama sebagai bahan dasar utama dalam industri gula dan bahan baku industri lainnya seperti farmasi, kimia, pakan ternak, pupuk, jamur, dan lain-lain.

Farid (2003) menyatakan bahwa, pengembangan industri gula saat ini tidak hanya berperan penting dalam pertumbuhan perekonomian negara, tetapi juga berkaitan langsung dengan pemenuhan kebutuhan pokok rakyat. Pada tahun 2008, Indonesia berhasil meningkatkan produksi tebu hingga mencapai 2.800.946 ton pada luas areal penanaman tebu nasional 438.957 hektar setelah sebelumnya pada tahun 2003 mengalami penurunan produksi hingga mencapai 1.631.918 ton pada luas penanaman 335.725 hektar (Deptan, 2009). Angka tersebut harus tetap ditingkatkan seiring dengan semakin meningkatnya jumlah penduduk dan

permintaan produk tebu sebagai bahan baku industri. Oleh karena itu, program pengembangan dan peningkatan produktivitas tanaman tebu, termasuk penyediaan bibit dalam skala besar, cepat, dan murah menjadi hal yang sangat perlu dilakukan.

Tebu merupakan tanaman dengan tingkat keagaman varietas yang tinggi, di mana setiap varietas memerlukan kondisi tertentu dalam pengelolaannya. Perbanyak tanaman tebu umumnya dilakukan secara vegetatif melalui setek. Di beberapa negara tropis, 2-3 bagian buku (nodus) batang tebu digunakan sebagai bahan tanaman baru (Jalaja *et al.*, 2008), namun metode tersebut memiliki kekurangan seperti waktu dalam perbanyak lebih lama, membutuhkan tanaman induk dan tenaga yang banyak, kontaminasi patogen yang sulit dihindari, dan ketergantungan musim tanam. Selain itu juga dapat terjadi degenerasi klonal atau peluruhan genetik tanaman yang dapat merugikan.

Aplikasi bidang bioteknologi tanaman melalui teknik kultur jaringan saat ini diyakini sebagai metode yang ampuh dalam mengatasi permasalahan produksi bibit tanaman. Selama kurang lebih tiga puluh tahun terakhir, aplikasi kultur jaringan tanaman semakin meluas penggunaannya terutama dalam menyediakan bibit tanaman secara massal, cepat, murah, dan bebas patogen pada tanaman hortikultura, tanaman pangan, dan tanaman industri (Behera dan Sahoo, 2009).

Teknik kultur jaringan merupakan metode alternatif yang dapat digunakan pada perbanyak tanaman tebu dalam menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat, pertumbuhan seragam, bebas patogen, dan produksi bibit yang tidak tergantung musim (Farid, 2003; Jalaja *et al.*, 2008; Behera dan Sahoo, 2009). Salah satu faktor penentu dari efektifitas aplikasi bidang bioteknologi tersebut adalah efisiensi sistem dan kemampuan regenerasi suatu tanaman (Chengalrayan *et al.*, 2005). Dalam kultur jaringan tanaman, materi tanaman yang diisolasi (protoplas, sel, jaringan, dan organ) diupayakan untuk tumbuh dan membentuk tanaman baru.

Regenerasi tanaman tebu yang berasal dari sel, protoplas, kalus atau organ secara umum telah didapatkan (Falco *et al.*, 1996), namun demikian regenerasi tanaman melalui kultur jaringan biasanya bersifat spesifik yang berarti formulasi media yang dapat digunakan untuk meregenerasikan varietas tanaman tertentu belum tentu dapat digunakan untuk varietas lainnya (Purnamaningsih, 2006).

Keberhasilan regenerasi tanaman tebu secara *in vitro* telah banyak dilaporkan. Kebanyakan dari laporan tersebut menyatakan bahwa produksi kalus dan

keberhasilan regenerasinya tergantung dari genotipe tanaman, sumber eksplan yang digunakan, dan formulasi media untuk meregenerasikannya (Karim *et al.*, 2002; Farid, 2003; Chengalrayan *et al.*, 2005; Khan dan Abdullah, 2006; Gandonou *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2008; Behera dan Sahoo, 2009). Pengetahuan dan penguasaan sistem regenerasi dari tiap-tiap varietas tanaman tebu secara *in vitro* sangat diperlukan karena sangat menentukan dalam program peningkatan produktivitas tanaman tebu melalui kultur jaringan, baik untuk keperluan perbanyak, perbaikan varietas atau transformasi gen. Berdasarkan permasalahan tersebut, maka diperlukan suatu penelitian yang lebih mendalam bagi pengembangan sistem regenerasi tanaman tebu secara *in vitro* yang meliputi (1) induksi kalus, (2) regenerasi tunas, dan (3) regenerasi perakaran. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari regenerasi dan respon pertumbuhan beberapa varietas tanaman tebu secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), dari bulan Juni sampai dengan bulan November 2009.

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jaringan meristem apikal dari planlet tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS 951. Media dasar yang digunakan adalah media Murashige Skoog (1962), sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan di antaranya adalah 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), benzylaminopurine (BAP), kinetin, giberelin (GA_3), naphthaleneacetic acid (NAA), dan indolebutyric acid (IBA) dan bahan organik casein hidrolisat (CH). Sebagai sumber karbon digunakan sukrosa 30 g/l, sedangkan agar "Swallow" 8 g/l diberikan sebagai pematat.

Penelitian ini terdiri dari 4 kegiatan, yaitu (1) induksi kalus (2) regenerasi kalus dan multiplikasi tunas, (3) regenerasi perakaran, dan (4) aklimatisasi. Kegiatan pertama bertujuan memperoleh kalus embriogenik yang mudah diregenerasikan menjadi tunas. Formulasi media yang digunakan adalah (1) MS0/kontrol, (2) MS + 2,4-D 1 mg.l⁻¹, (3) MS + 2,4-D 2 mg.l⁻¹, (4) MS + 2,4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, (5) MS + 2,4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, (6) MS + 2,4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹, dan (7) MS + 2,4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹.

Kegiatan kedua bertujuan untuk meregenerasikan kalus yang diperoleh sehingga membentuk tunas. Kalus yang digunakan adalah kalus yang dihasilkan

dari media induksi kalus terbaik. Formulasi media yang digunakan, yaitu (1) MS0/kontrol, (2) MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, (3) MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, (4) MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, (5) MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, (6) MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, dan (7) MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹. Kalus ditanam pada media regenerasi selama 60 hari masa inkubasi untuk melihat daya multiplikasinya.

Induksi perakaran menggunakan 5 formulasi media, yaitu (1) MS0/kontrol, (2) MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹, (3) MS + NAA 1 mg.l⁻¹, (4) MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹, dan (5) MS + IBA 1 mg.l⁻¹. Apabila eksplan telah membentuk planlet sempurna, maka planlet tersebut diaklimatisasi di rumah kaca. Aklimatisasi dilakukan dengan cara menanam planlet yang masih berupa rumpun dalam polibag berisi tanah + pupuk kompos (1 : 1) dan diberi sungkup plastik transparan. Setelah umur 1-2 minggu, masing-masing anakan dipisahkan dari rumpunnya ke dalam polibag.

Rancangan yang digunakan adalah faktorial dengan rancangan lingkungan acak lengkap dengan 5 ulangan. Faktor yang diuji berupa varietas dan komposisi media. Peubah yang diamati adalah persentase pembentukan waktu inisiasi kalus, persentase kalus terbentuk, diameter kalus, struktur kalus, waktu inisiasi tunas, persentase tunas terbentuk, tinggi/panjang tunas, jumlah tunas, waktu inisiasi akar, persentase akar terbentuk, panjang akar, tinggi planlet, jumlah planlet terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus

Hasil analisis statistik dengan uji DMRT pada taraf 5% menunjukkan perlakuan varietas dan formulasi media induksi kalus berpengaruh nyata terhadap peubah pengamatan waktu inisiasi pembentukan kalus, sedangkan interaksinya berpengaruh tidak nyata (Tabel 1). Respon varietas diduga berkaitan dengan kemampuan sel dan jaringan setiap varietas tanaman tebu dalam merespon inisiasi pembentukan kalus. Sel dan jaringan varietas Bulu Lawang menunjukkan kompetensi dan kemampuan yang lebih cepat dalam membentuk kalus, yaitu 12 hari, sedangkan varietas PS 951 adalah 14 hari.

Formulasi media A₇ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹) memberikan respon paling cepat dalam menginisiasi pembentukan kalus, di mana rata-rata kalus mulai terbentuk pada umur eksplan 11 hari. Formulasi media A₆ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹), A₅ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹) dan A₄ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹) serta A₃ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹) memberikan respon yang sama di mana kalus mulai terbentuk setelah 12 hari. Kalus pada formulasi media A₂ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹) mulai terbentuk setelah 13 hari. Sedangkan respon inisiasi pembentukan kalus paling lama tampak pada formulasi media A₁ (MS0/kontrol), yaitu 22 hari.

Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan formulasi media induksi kalus berpengaruh nyata terhadap peubah pengamatan persentase pembentukan kalus, sedangkan perlakuan varietas dan interaksinya menunjukkan pengaruh yang tidak nyata (Tabel 1). Persentase pembentukan kalus relatif sama pada semua formulasi media perlakuan induksi kalus yang

Tabel 1. Waktu inisiasi dan persentase pembentukan kalus tanaman tebu varietas Bulu Lawang (BL) dan PS 951 pada berbagai formulasi media.

| Media | Inisiasi kalus (hari) | | | Pembentukan kalus (%) | | |
|----------------|-----------------------|-----------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------|
| | Varietas BL | Varietas PS 951 | Rata-rata | Varietas BL | Varietas PS 951 | Rata-rata |
| A ₁ | 21,00 | 24,00 | 22,50 a | 26,67 | 13,33 | 20,00 b |
| A ₂ | 13,80 | 13,20 | 13,50 b | 80,00 | 86,67 | 83,33 a |
| A ₃ | 10,80 | 13,20 | 12,00 bc | 86,67 | 80,00 | 83,33 a |
| A ₄ | 12,00 | 13,20 | 12,60 bc | 73,33 | 100,00 | 86,66 a |
| A ₅ | 10,20 | 13,20 | 11,70 bc | 93,33 | 73,33 | 83,33 a |
| A ₆ | 11,40 | 13,20 | 12,30 bc | 80,00 | 86,67 | 83,33 a |
| A ₇ | 9,60 | 13,20 | 11,40 c | 100,00 | 73,34 | 86,67 a |
| Rata-rata | 12,70 b | 14,70 a | | 77,14 a | 73,33 a | |

A₁ = MS0/kontrol, A₂ = MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹, A₃ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹, A₄ = MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, A₅ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, A₆ = MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2.000 mg.l⁻¹, dan A₇ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2.000 mg.l⁻¹.

Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

mengandung zat pengatur tumbuh 2.4-D dan BAP serta penambahan bahan organik casein hidrolisat (formulasi media A₂-A₇) di mana rata-rata pembentukan kalus berkisar antara 83-86%, kecuali pada perlakuan formulasi media A₁ (MS0/kontrol) yang menghasilkan persentase pembentukan kalus terendah, yaitu 20%.

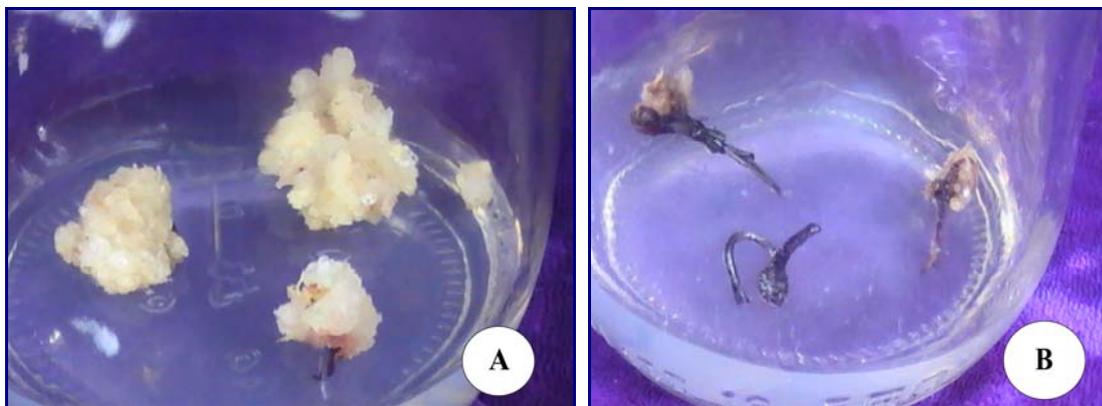
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media dengan formulasi zat pengatur tumbuh 2.4-D 1-2 mg.l⁻¹ dan BAP 0,4 mg.l⁻¹ dengan dan tanpa penambahan casein hidrolisat 2000 mg.l⁻¹ diketahui efektif memberikan respon dalam menginisiasi pembentukan kalus. George *et al.* (2008) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dalam kultur jaringan salah satunya berperan dalam proses pembentukan kalus, sedangkan pemilihan jenis dan konsentrasinya ditentukan oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Banyak peneliti melaporkan bahwa zat pengatur tumbuh yang efektif digunakan untuk menginduksi kalus tanaman tebu adalah 2.4-D (Gandonou *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2008). Selanjutnya Jalaja *et al.* (2008) menyatakan bahwa 2.4-D dengan konsentrasi 1-6 mg.l⁻¹ efektif dalam menginduksi pembentukan kalus tanaman tebu. Rashid *et al.* (2009) berhasil mendapatkan sejumlah kalus tanaman tebu yang optimal dengan formulasi media MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹.

Zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin juga seringkali digunakan dalam induksi kalus tanaman tebu. Teruya (1985) menggunakan media dengan formulasi MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 1 mg.l⁻¹ untuk menghasilkan kalus embriogenik. Kalus embriogenik dicirikan dengan struktur kalus kering, berwarna putih susu atau krem dan berstruktur remah, sedangkan kalus non embriogenik dicirikan dengan struktur kalus kompak, basah, berwarna bening kecokelatan (Gandonou *et al.*, 2005) seperti tampak pada Gambar 1.

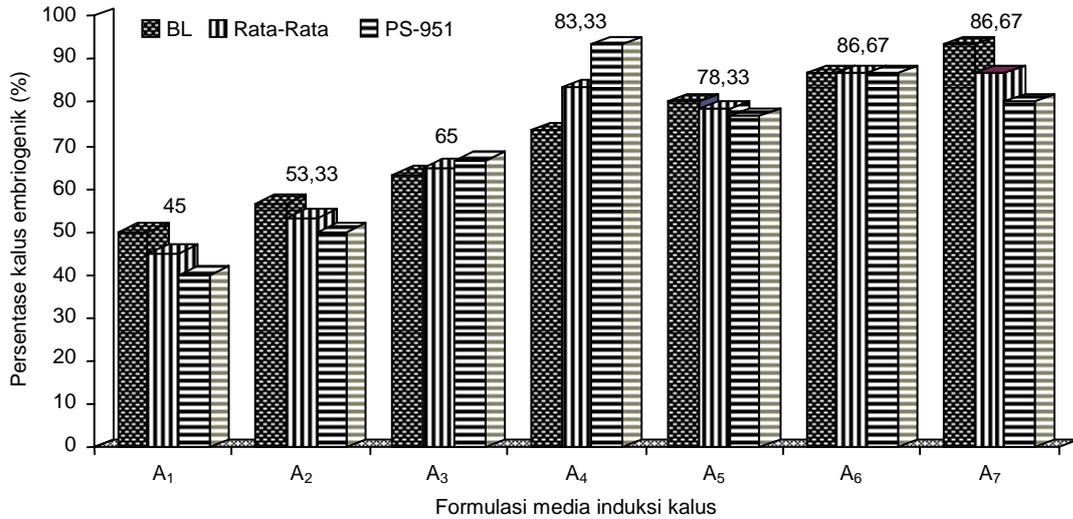
Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan formulasi media induksi kalus berpengaruh nyata terhadap jumlah kalus embriogenik yang terbentuk, sedangkan varietas dan interaksinya menunjukkan pengaruh yang tidak nyata (Gambar 2). Kalus embriogenik terbanyak diperoleh dari formulasi media A₄ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹), A₅ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹), A₆ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹), dan A₇ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹) di mana masing-masing menghasilkan persentase pembentukan kalus sebesar 83, 78, 86, dan 86%. Kalus yang dihasilkan dari formulasi media A₂ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹) dan A₃ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹), yaitu 53 dan 65%. Sedangkan kalus embriogenik paling sedikit dihasilkan dari formulasi media A₁ (MS0/kontrol), yaitu 45%.

Penambahan BAP 0,4 mg.l⁻¹ dan casein hidrolisat 2000 mg.l⁻¹ diketahui dapat meningkatkan jumlah kalus embriogenik. Pembentukan kalus embriogenik salah satunya ditentukan oleh ketersediaan sumber N yang dapat diserap secara cepat oleh tanaman. Casein hidrolisat adalah senyawa asam amino sumber N organik yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Purnamaningsih (2006) menyatakan bahwa penambahan casein hidrolisat pada media yang mengandung auksin dapat meningkatkan pembentukan kalus embriogenik karena senyawa tersebut adalah prekursor pembentukan asam nukleat dan proses seluler lainnya.

Proses perkembangan dan pertumbuhan selanjutnya, pertumbuhan kalus ditunjukkan oleh penambahan ukuran diameter kalus yang dihasilkan masing-masing varietas pada berbagai formulasi media induksi kalus. Kalus awal yang ditanam adalah homogen dengan diameter antara 0,3-0,4 cm. Hasil perhitungan pertambahan rata-rata diameter kalus tanaman tebu umur 15-60 hari disajikan pada Gambar 3.

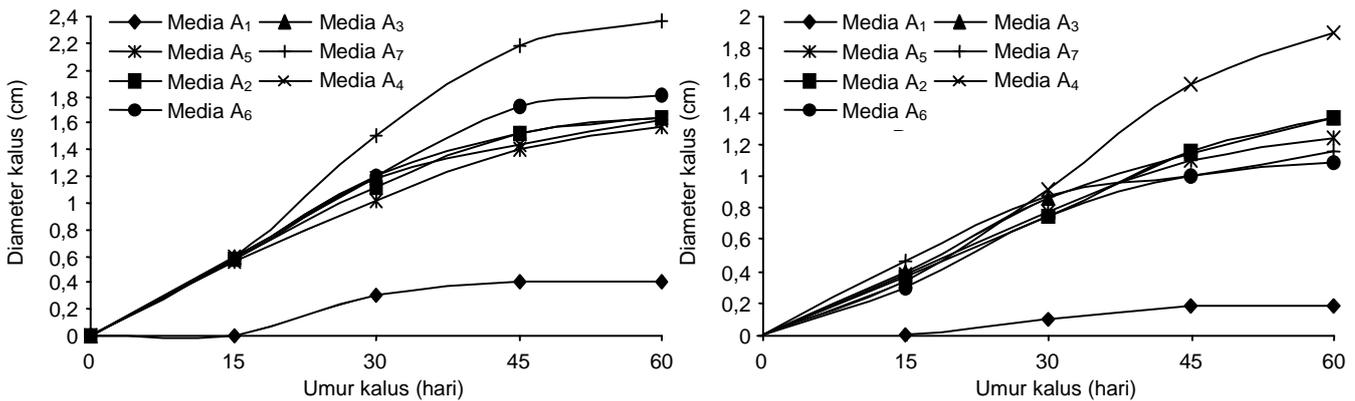


Gambar 1. Kalus tebu embriogenik pada media MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ (A) dan kalus tebu non embriogenik pada media MS0 (B).



A₁ = MS0/kontrol, A₂ = MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹, A₃ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹, A₄ MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, A₅ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹, A₆ = MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹, dan A₇ = MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹.

Gambar 2. Rata-rata persentase kalus embriogenik tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS 951 pada berbagai formulasi media.



Gambar 3. Rata-rata pertumbuhan diameter kalus tanaman tebu varietas Bulu Lawang (kiri) dan PS 951 (kanan) pada umur 15-60 hari.

Pertumbuhan kalus tampak mengikuti pola logaritmik yang menyerupai kurva sigmoid (Gambar 3). Pertumbuhan diawali dengan fase pembelahan sel secara lambat, fase pembelahan dan proliferasi masa sel kalus secara cepat, dan fase di mana proliferasi masa sel kalus bertahap menurun hingga pada akhirnya terjadinya kematian pada sel kalus (George *et al.*, 2008).

Lamanya periode kultur sangat menentukan keberhasilan regenerasi tunas yang berasal dari kalus. Kalus yang terbentuk pada semua perlakuan, sel-selnya berhenti membelah dan akhirnya mengalami kematian setelah berumur lebih dari 60 hari. Hal ini dicirikan dengan berkurangnya kecepatan pertambahan ukuran kalus dan terjadi perubahan warna kalus menjadi coklat atau hitam sehingga kalus tidak dapat

beregenerasi menjadi tunas. George *et al.* (2008) menyatakan bahwa kalus yang telah memasuki fase stasioner lebih sulit diregenerasikan karena periode kultur yang terlalu panjang dapat mengakibatkan penurunan daya regenerasi dan sering terjadi variasi somaklonal. Untuk menghindari hal tersebut, selanjutnya kalus tebu yang diregenerasikan adalah kalus yang berumur 45 hari.

Kompetensi dan respon varietas tebu berbeda-beda terhadap formulasi media induksi kalus. Diameter kalus terbesar pada umur 45 hari diperoleh dari kombinasi perlakuan varietas Bulu Lawang yang ditanam pada formulasi media A₇ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹), yaitu sebesar 2,18 cm dan varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media A₄ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹) dengan

diameter kalus 1,58 cm. George *et al.* (2008) menyatakan bahwa pembentukan dan pertumbuhan kalus sangat dipengaruhi oleh keseimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin yang diberikan serta interaksinya dengan hormon endogen dalam jaringan eksplan. Sel dan jaringan eksplan kedua varietas tebu membutuhkan level zat pengatur tumbuh yang berbeda dalam proses pembentukan kalus. Selain itu Gandonou *et al.* (2005) menyatakan bahwa kapasitas dan respon induksi kalus tanaman tebu tergantung pada kompetensi sel dari genotipe.

Dilihat dari kemampuannya dalam menginduksi pertumbuhan dan perkembangan kalus serta penampakan struktur fisik kalus (embriogenik atau non embriogenik) yang dihasilkan secara umum, maka selanjutnya digunakan media A₇ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹) untuk induksi kalus varietas Bulu Lawang dan media A₄ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹) untuk induksi kalus varietas PS 951.

Regenerasi Tunas

Kalus yang dihasilkan dari perlakuan induksi kalus berbeda-beda sesuai dengan varietas dan formulasi media yang digunakan. Pada tahap regenerasi tunas, kalus yang digunakan adalah kalus embriogenik yang dihasilkan dari kedua varietas pada masing-masing formulasi media terbaik. Hal ini dilakukan berkaitan dengan struktur kalus yang menggambarkan kemampuan dan daya regenerasi kalus dalam membentuk organ tanaman. Biasanya kalus embriogenik mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk organ (tunas, daun, dan akar) daripada kalus yang non embriogenik (Gandonou *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2008).

Perlakuan varietas menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap peubah pengamatan waktu inisiasi pembentukan tunas, sedangkan perlakuan formulasi media dan interaksinya menunjukkan pengaruh yang tidak nyata (Tabel 2). Respon varietas PS 951 lebih cepat dalam menginisiasi pembentukan tunas, yaitu 8-9

hari dibandingkan dengan varietas Bulu Lawang yang membutuhkan waktu 10-11 hari. Cepatnya kalus beregenerasi menjadi tunas lebih menguntungkan karena proses pertumbuhan tunas menjadi lebih awal dan dapat memperpendek masa kultur.

Hasil analisis statistik pada peubah pengamatan persentase pembentukan tunas menunjukkan pengaruh yang tidak nyata pada perlakuan varietas, sedangkan perlakuan formulasi dan interaksinya tampak berpengaruh nyata terhadap persentase pembentukan tunas (Tabel 3). Kombinasi perlakuan varietas Bulu Lawang yang ditanam pada formulasi media B₁ (MS0/kontrol) dan B₂ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹) serta varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media B₅ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹) merupakan kombinasi perlakuan terbaik, di mana masing-masing menghasilkan persentase pembentukan tunas sebesar 88, 84, dan 86%. Kombinasi perlakuan yang menghasilkan persentase pembentukan tunas terendah dihasilkan pada kombinasi perlakuan varietas Bulu Lawang yang ditanam pada formulasi B₇ (MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹) dan varietas PS 951 yang ditanam pada media A₁ (MS0/kontrol), di mana masing-masing menghasilkan persentase tunas 56% dan 52%. Semua kombinasi perlakuan lainnya menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata secara statistik satu sama lain, di mana menghasilkan persentase pembentukan tunas berkisar antara 62-74%. Penampakan biakan tunas dua varietas tebu pada formulasi media regenerasi terbaik disajikan pada Gambar 4.

Proses regenerasi dan pembentukan tunas sangat ditentukan oleh keseimbangan nutrisi dalam formulasi media yang digunakan. Media dasar MS telah banyak dilaporkan efektif digunakan dalam kultur jaringan tanaman tebu (Jalaja *et al.*, 2008). Kandungan mineral media MS cukup tinggi, sehingga dapat mencukupi kebutuhan unsur hara yang diperlukan dalam pertumbuhan tanaman selama dalam kultur (George *et al.*, 2008).

Tabel 2. Waktu (hari) inisiasi tunas tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS 951 pada berbagai formulasi media.

| Varietas | Media | | | | | | | Rata-rata |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| | B ₁ | B ₂ | B ₃ | B ₄ | B ₅ | B ₆ | B ₇ | |
| BL | 9,40 | 10,20 | 11,00 | 10,60 | 9,60 | 9,40 | 11,00 | 10,20 a |
| PS 951 | 8,60 | 8,60 | 9,20 | 9,20 | 8,40 | 8,60 | 9,60 | 8,90 b |
| Rata-rata | 9,00 a | 9,40 a | 10,10 a | 9,90 a | 9,00 a | 9,00 a | 10,30 a | |

B₁ = MS0/kontrol, B₂ = MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₃ = MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₄ = MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₅ = MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, B₆ = MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, dan B₇ = MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹.

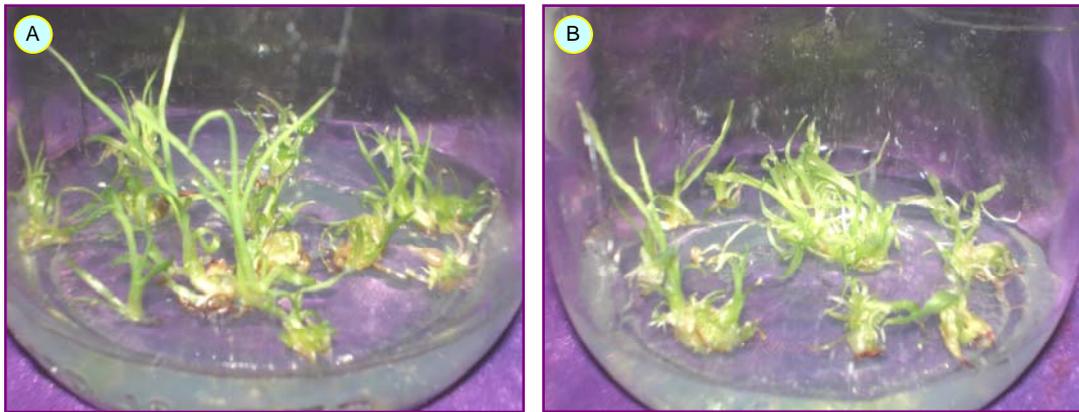
Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 3. Persentase pembentukan dan jumlah tunas tanaman tebu varietas Bulu Lawang (BL) dan PS 951 pada berbagai formulasi media.

| Media | Pembentukan tunas (%) | | Jumlah tunas | |
|----------------|-----------------------|-----------------|--------------|-----------------|
| | Varietas BL | Varietas PS 951 | Varietas BL | Varietas PS 951 |
| B ₁ | 88 a | 52 g | 28.2 a | 9,2 g |
| B ₂ | 84 a | 64 bcdef | 18.6 b | 21,4 b |
| B ₃ | 74 abc | 66 bcd | 15.4 bcd | 19,2 bc |
| B ₄ | 62 de | 66 bcde | 13.2 def | 18,6 bcd |
| B ₅ | 76 ab | 86 a | 18.0 bc | 28,0 a |
| B ₆ | 70 bcd | 74 b | 15.0 cde | 17,8 cde |
| B ₇ | 56 ef | 68 bc | 11.6 fg | 15,0 def |

B₁ = MS0/kontrol, B₂ = MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₃ = MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₄ = MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹, B₅ = MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, B₆ = MS + BAP 2 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹, dan B₇ = MS + BAP 3 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹.

Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.



Gambar 4. Regenerasi tunas tebu varietas Bulu Lawang pada media MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ (A) dan PS 951 pada media MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹ (B).

Pemilihan zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan proses diferensiasi sel dan jaringan tanaman yang dikulturkan. Untuk meningkatkan keberhasilan regenerasi dan pembentukan tunas, zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin (BAP dan kinetin) sering digunakan untuk menstimulasi pembentukan tunas (Ali *et al.*, 2008). Penambahan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin (NAA) dengan konsentrasi rendah (Lakshmanan, 2006) dan Giberelin (Ramanand *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2008; Rashid *et al.*, 2009) juga sering dilakukan untuk mempercepat pembentukan akar dan perpanjangan tunas.

Varietas Bulu Lawang beregenerasi optimal pada media B₁ (MS0/kontrol) dan B₂ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹), sedangkan varietas PS 951 pada formulasi media B₅ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹). Hal ini diduga berkaitan dengan formulasi media yang digunakan pada tahap induksi kalus. Kalus pada varietas Bulu Lawang yang

diregenerasikan adalah kalus embriogenik yang berasal dari formulasi media A₇ (MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹), sedangkan varietas PS 951 adalah kalus embriogenik yang berasal dari formulasi media A₄ (MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹).

Pembentukan tunas tebu pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sitokinin (BAP) yang diberikan dapat menghambat pembentukan tunas pada kedua varietas. Sitokinin dalam kultur jaringan berperan pada proses pembelahan sel dan regenerasi tanaman dengan menstimulasi kalus untuk berdiferensiasi membentuk tunas, tetapi penggunaan dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan keracunan pada jaringan tanaman (Ali *et al.*, 2008). Pada varietas Bulu Lawang, pemberian jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (BAP, kinetin, NAA, dan GA₃) cenderung menghambat diferensiasi dan pembentukan tunas. Penambahan zat pengatur tumbuh BAP masih dapat ditoleransi dalam konsentrasi rendah, yaitu 1 mg.l⁻¹. Respon penambahan kinetin, NAA, dan GA₃ da-

lam konsentrasi rendah tampak lebih efektif meningkatkan persentase pembentukan tunas varietas PS 951.

Varietas yang digunakan mempunyai kemampuan beregenerasi melalui jalur organogenesis, di mana kalus langsung membentuk tunas. Diferensiasi kalus menjadi tunas diawali dengan pembentukan pusat aktivitas meristematik (*meristemoid*) pada kalus yang mengarah pada pembentukan organ (Ali *et al.*, 2008). Berlainan dengan jalur embriogenesis somatik, kalus yang terbentuk selanjutnya membentuk unit yang menyerupai embrio (*embryoid*) yang memiliki dua calon meristem dan selanjutnya akan melewati tahap penderewasaan dan perkecambahan (Zimmerman, 1993; Falco *et al.*, 1996; Purnamaningsih, 2002).

Pertumbuhan, yaitu proses penambahan masa yang meliputi ukuran dan volume yang *irreversible* (Srivastava, 2002). Penambahan tinggi tunas dapat digunakan untuk menggambarkan pola laju pertumbuhan tanaman selama kultur. Rata-rata penambahan tinggi tunas mulai tampak pada umur 14 hari dan terus tumbuh hingga mencapai ketinggian tertentu pada umur 35 hari (Gambar 5). Kebutuhan setiap varietas terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media berbeda-beda pada tahap regenerasi tunas.

Tunas tertinggi pada umur 35 hari diperoleh dari kombinasi perlakuan varietas PS 951 dengan formulasi media B₅ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹), yaitu sebesar 2,98 cm dan kombinasi perlakuan varietas Bulu Lawang dengan media B₁ (MS0/kontrol), yaitu sebesar 2,88 cm. Sedangkan tinggi tunas terendah diperoleh dari kombinasi perlakuan varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media B₁ (MS0/kontrol). Semakin tinggi konsentrasi sitokinin (BAP dan kinetin) cenderung menekan pertumbuhan tinggi tunas pada semua perlakuan. Gaspar *et al.* (1996) menyatakan bahwa penggunaan

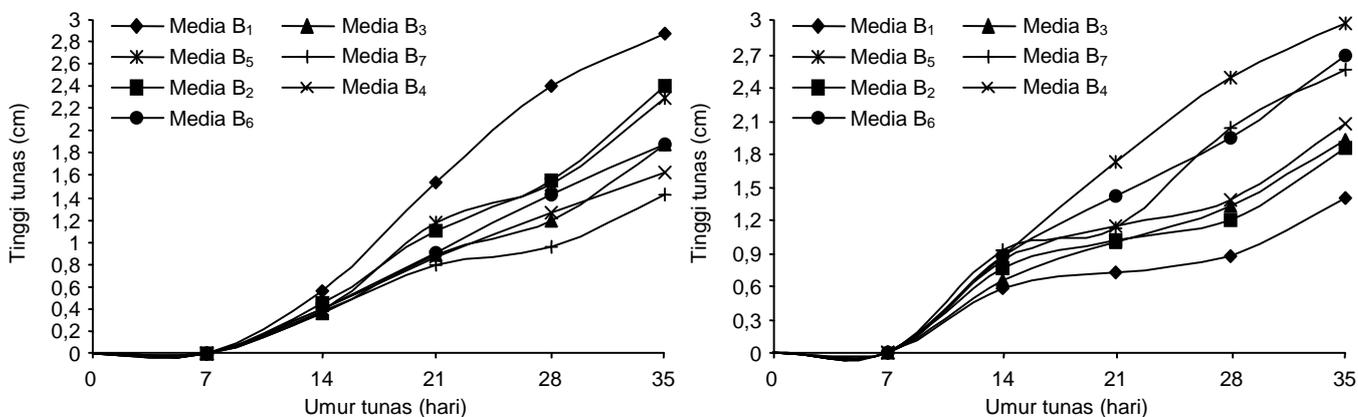
sitokinin dalam kultur jaringan seringkali dapat juga menstimulasi biosintesis senyawa etilen yang dapat menghambat pertumbuhan. Selanjutnya George *et al.* (2008) menyatakan bahwa penggunaan sitokinin dengan konsentrasi tinggi dapat menghasilkan tunas yang pendek akibat gagalnya sel dalam proses pemanjangan. Penggunaan auksin (NAA) diduga memberikan pengaruh antagonis terhadap sitokinin yang dapat menghambat pembelahan dan pemanjangan sel dan pemberian GA₃ dapat menghambat pembentukan *meristemoid* (Gaspar *et al.*, 1996).

Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat interaksi yang nyata pada perlakuan varietas dan formulasi media terhadap rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan pada tahap regenerasi tunas (Tabel 3). Rata-rata jumlah tunas terbanyak dihasilkan dari kombinasi perlakuan varietas Bulu Lawang yang ditanam pada media B₁ (MS0/kontrol), yaitu 28 tunas dan perlakuan varietas PS 951 yang ditanam pada formulasi media B₅ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹), yaitu 28 tunas. Sedangkan rata-rata jumlah tunas terendah diperoleh dari kombinasi perlakuan varietas PS 951 pada formulasi media B₁ (MS0/kontrol), yaitu 9 tunas. Pertumbuhan tanaman terjadi akibat adanya penambahan jumlah dan spesialisasi sel untuk membentuk organ baru.

Dilihat dari proses regenerasi dan pertumbuhan tunas yang dihasilkan secara umum, dapat digunakan formulasi media B₁ (MS0/kontrol) pada regenerasi tunas varietas Bulu Lawang dan formulasi media B₅ (MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + Kin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹) pada regenerasi tunas varietas PS 951.

Regenerasi Perakaran

Tunas yang dihasilkan dari perlakuan regenerasi tunas berbeda-beda sesuai varietas dan formulasi media yang digunakan. Pada tahap regenerasi perakaran,



Gambar 5. Rata-rata tinggi tunas tebu varietas Bulu Lawang (kiri) dan PS 951 (kanan) pada berbagai formulasi media hingga umur 35 hari.

tunas yang digunakan adalah kelompok tunas yang terdiri dari 3-4 tunas dengan ukuran $2,7 \pm 0,2$ cm yang dihasilkan dari kedua varietas pada masing-masing formulasi media terbaik. Induksi perakaran dimaksudkan untuk mendapatkan planlet tanaman tebu.

Perlakuan formulasi media berpengaruh nyata terhadap waktu inisiasi pembentukan akar, sedangkan perlakuan varietas dan interaksinya berpengaruh tidak nyata terhadap peubah pengamatan waktu inisiasi pembentukan akar (Tabel 4). Tunas yang ditanam pada formulasi media C₅ (MS + IBA 1 mg.l⁻¹) menunjukkan pembentukan akar paling cepat, yaitu 5 hari, sedangkan tunas yang ditanam pada formulasi media C₂ (MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹), C₃ (MS + NAA 1 mg.l⁻¹) dan C₄ (MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹) mulai membentuk akar pada waktu yang relatif sama antara 7-8 hari. Inisiasi pembentukan akar paling lambat ditunjukkan oleh tunas yang ditanam pada formulasi media C₁ (MS0/kontrol) yaitu 12 hari. Penggunaan zat pengatur tumbuh auksin (NAA dan IBA) diketahui efektif dalam mempercepat inisiasi pembentukan perakaran tanaman tebu.

Perlakuan formulasi media perakaran juga berpengaruh nyata terhadap peubah pengamatan persentase pembentukan akar, sedang perlakuan varietas dan interaksinya menunjukkan pengaruh yang tidak nyata (Tabel 4). Penampilan tunas yang telah berakar (planlet) ditunjukkan pada Gambar 6.

Rata-rata persentase pembentukan akar paling banyak dihasilkan dari tunas yang ditanam pada formulasi media C₅ (MS + IBA 1 mg.l⁻¹), yaitu sebesar 90%, tidak berbeda nyata dengan tunas yang ditanam pada formulasi media C₃ (MS + NAA 1 mg.l⁻¹), sebesar 82%. Tunas yang ditanam pada formulasi media C₄ (MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹) dan C₂ (MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹) masing-masing menghasilkan persentase pembentukan akar yang tidak berbeda, yaitu 76 dan 70%. Sedangkan rata-rata persentase pembentukan akar paling sedikit dihasilkan oleh tunas yang ditanam pada formulasi media C₁ (MS0/kontrol), yaitu sebesar 54%.

Formulasi media induksi perakaran yang mengandung auksin sangat menentukan keberhasilan pembentukan akar tanaman tebu. Auksin secara alami

Tabel 4. Waktu inisiasi dan persentase pembentukan akar tanaman tebu varietas Bulu Lawang (BL) dan PS 951 pada berbagai formulasi media.

| Media | Inisiasi kalus (hari) | | Rata-rata | Pembentukan kalus (%) | | Rata-rata |
|----------------|-----------------------|-----------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------|
| | Varietas BL | Varietas PS 951 | | Varietas BL | Varietas PS 951 | |
| C ₁ | 12,40 | 12,20 | 12,30 a | 48,00 | 60,00 | 54,00 c |
| C ₂ | 8,20 | 8,40 | 8,30 b | 68,00 | 72,00 | 70,00 b |
| C ₃ | 7,60 | 7,60 | 7,60 b | 80,00 | 84,00 | 82,00 ab |
| C ₄ | 7,40 | 7,40 | 7,40 b | 76,00 | 76,00 | 76,00 b |
| C ₅ | 5,80 | 5,20 | 5,50 c | 92,00 | 88,00 | 90,00 a |
| Rata-rata | 8,28 a | 8,16 a | | 72,80 a | 76,00 a | |

C₁ = MS0/kontrol, C₂ = MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹, C₃ = MS + NAA 1 mg.l⁻¹, C₄ = MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹, dan C₅ = MS + IBA 1 mg.l⁻¹.

Angka-angka pada kolom yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.



Gambar 6. Planlet tanaman tebu pada berbagai formulasi media induksi perakaran umur 28 hari. C₁ = MS0/kontrol; C₂ = MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹; C₃ = MS + NAA 1 mg.l⁻¹; C₄ = MS + IBA 0,5mg.l⁻¹; C₅ = MS + IBA 1 mg.l⁻¹

disintesis pada jaringan apikal meristem yang kemudian ditransportasikan secara basipetal ke bagian bawah untuk memacu pembentukan dan pertumbuhan akar (Davies *et al.*, 2004). Dalam kultur jaringan auksin diberikan salah satunya untuk memacu pembentukan dan pertumbuhan perakaran (George *et al.*, 2008). Khan *et al.*, (2008) menyatakan bahwa NAA 0,5-3,0 mg.l⁻¹ dan IBA 0,5-2,0 mg.l⁻¹ efektif dalam pembentukan akar tanaman tebu. Hasil penelitian sejalan dengan Rashid *et al.* (2009) di mana pembentukan akar tanaman tebu paling baik dihasilkan dari formulasi media MS + IBA 1 mg.l⁻¹.

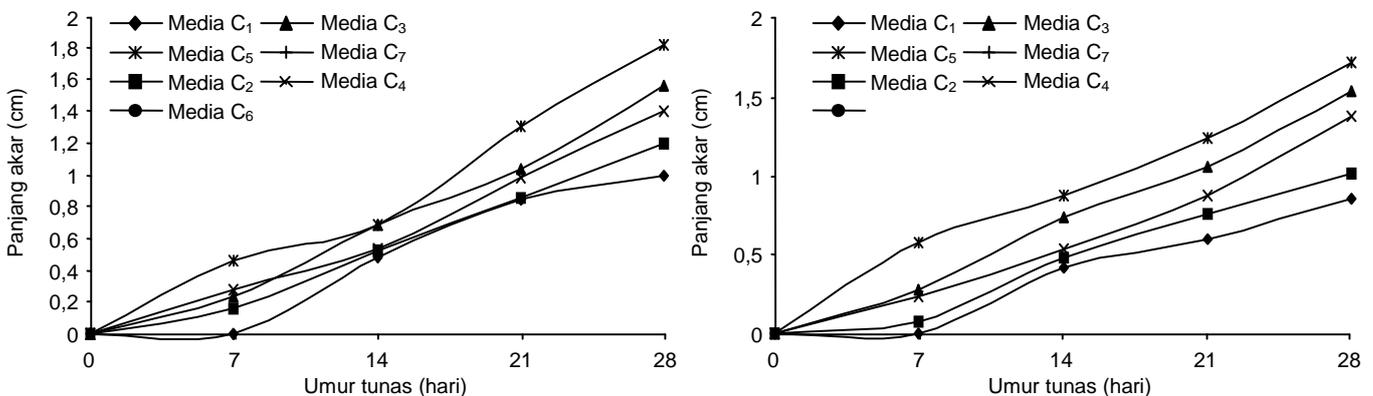
Pertumbuhan apikal tanaman secara umum menghasilkan pertumbuhan apikal tunas (ke atas) dan apikal akar (ke bawah). Rata-rata pertumbuhan akar dua varietas tebu pada lima formulasi media mulai tampak pada hari ketujuh dan terus tumbuh hingga mencapai panjang tertentu pada hari ke-28 (Gambar 7).

Akar paling panjang dihasilkan pada formulasi media C₅ (MS + IBA 1 mg.l⁻¹) dengan rata-rata panjang 1,77 cm pada umur 28 hari. Panjang akar yang dihasilkan dari formulasi media C₃ (MS + NAA 1 mg.l⁻¹) dan C₄ (MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹) tidak berbeda secara statistik

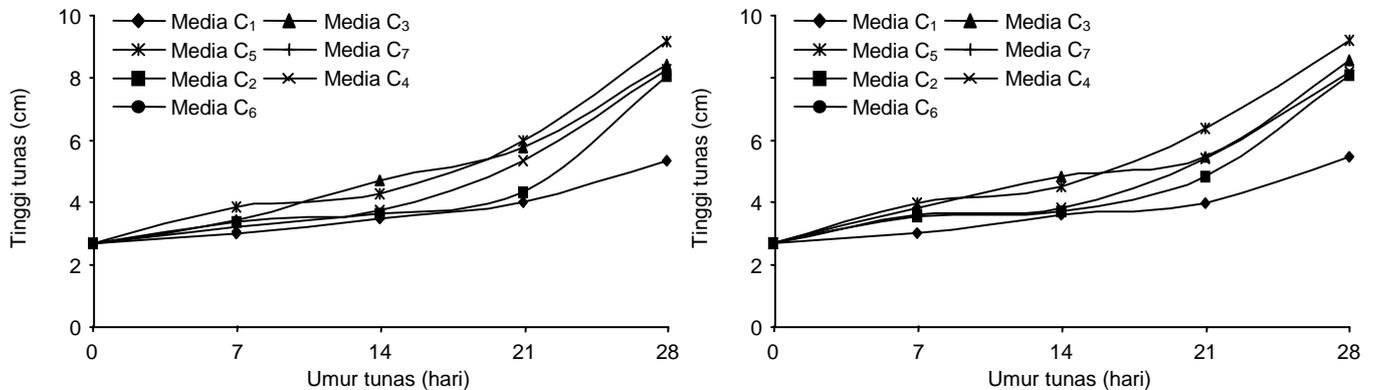
dengan rata-rata panjang akar 1,55 dan 1,39 cm, sedangkan rata-rata panjang akar terpendek dihasilkan dari formulasi media C₁ (MS0/kontrol) dan C₂ (MS + NAA 0,5 mg/l) dengan panjang akar masing-masing 0,93 dan 1,11 cm pada umur 28 hari. Sejalan dengan Rashid *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa formulasi media MS + IBA 1 mg.l⁻¹ merupakan formulasi media dengan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimum untuk pemanjangan akar tanaman tebu.

Auksin pada tingkat seluler berperan pada perbesaran dan pembelahan sel. Pembesaran sel terjadi akibat aktivitas auksin yang menginduksi peregangan dan perluasan dinding sel dengan menaikkan tekanan turgor sel. Pembelahan sel terjadi akibat aktivitas auksin yang bersinergi dengan sitokinin dalam menstimulasi pembelahan sel (Davies *et al.*, 2004). Auksin juga menstimulasi pertumbuhan pada apikal meristem tunas yang menyebabkan dominansi apikal (Srivastava, 2002).

Pertambahan tinggi planlet mulai tampak pada hari ketujuh dan terus tumbuh hingga mencapai ketinggian tertentu pada umur 28 hari (Gambar 8). Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan formulasi



Gambar 7. Rata-rata pertumbuhan akar tanaman tebu varietas Bulu Lawang (kiri) dan PS 951 (kanan).



Gambar 8. Rata-rata pertumbuhan tinggi planlet tebu varietas Bulu Lawang (kiri) dan PS 951 (kanan) pada berbagai formulasi media perakaran.

media berpengaruh nyata terhadap peubah pengamatan tinggi planlet pada umur 7, 14, 21, dan 28 hari. Perlakuan varietas hanya berpengaruh pada ukuran planlet umur 7 hari, di mana rata-rata tinggi planlet varietas PS 951 adalah 3,56 cm, lebih tinggi daripada varietas Bulu Lawang dengan rata-rata tinggi planlet 3,37 cm. Tidak terdapat interaksi antara perlakuan formulasi media dan varietas terhadap peubah pengamatan tinggi planlet.

Formulasi media C_5 (MS + IBA 1 mg.l⁻¹) menghasilkan planlet dengan ukuran tertinggi, yaitu 9,21 cm. Formulasi media C_3 (MS + NAA 1 mg.l⁻¹) dan C_4 (MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹) menghasilkan planlet yang berukuran sama, yaitu 8,55 dan 8,16 cm, sedangkan formulasi media C_2 (MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹) menghasilkan planlet yang berukuran 8,05 cm. Planlet dengan ukuran terkecil dihasilkan dari formulasi media C_1 (MS0/kontrol), yaitu 5,39 cm.

Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan varietas berpengaruh nyata, sedangkan perlakuan formulasi media dan interaksinya menunjukkan pengaruh tidak nyata terhadap peubah pengamatan jumlah

planlet yang dihasilkan (Tabel 5). Varietas PS 951 menghasilkan jumlah planlet lebih banyak, yaitu 19 planlet, sedangkan varietas Bulu Lawang menghasilkan 17 planlet. Varietas PS 951 mempunyai respon yang lebih baik, di mana planlet yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan varietas Bulu Lawang. Secara umum, penelitian ini telah berhasil memperoleh kombinasi varietas dan formulasi media yang optimal untuk pertumbuhan dan regenerasi tanaman tebu.

Ukuran planlet akan menentukan keberhasilan proses aklimatisasi. Planlet yang diaklimatisasi harus beradaptasi pada kondisi lingkungan luar. Biasanya planlet yang berukuran lebih besar mampu beradaptasi lebih baik pada lingkungan luar. Planlet tanaman tebu yang telah mencapai ukuran 8-10 cm selanjutnya diaklimatisasi di rumah kaca. Hasil aklimatisasi di kamar kaca, dengan cara menanam planlet yang masih berupa rumpun dalam polibag berisi tanah + pupuk kompos (1 : 1) dan diberi sungkup plastik transparan, menghasilkan persentase pertumbuhan yang tinggi, sekitar 90-100% (Gambar 9). Khan *et al.* (2008) mendapatkan planlet tanaman tebu yang berhasil diakli-

Tabel 5. Jumlah planlet tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS-951 pada berbagai formulasi media.

| Varietas | Media | | | | | Rata-rata |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| | C ₁ | C ₂ | C ₃ | C ₄ | C ₅ | |
| BL | 14,40 | 17,00 | 18,20 | 16,80 | 19,20 | 17,12 b |
| PS 951 | 17,60 | 18,80 | 20,20 | 20,60 | 21,80 | 19,80 a |
| Rata-rata | 16,00 a | 17,90 a | 19,20 a | 18,70 a | 20,50 a | |

C₁ = MS0/kontrol, C₂ = MS + NAA 0,5 mg.l⁻¹, C₃ = MS + NAA 1 mg.l⁻¹, C₄ = MS + IBA 0,5 mg.l⁻¹, dan C₅ = MS + IBA 1 mg.l⁻¹.

Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.



Gambar 9. Tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS 951 yang telah berhasil diaklimatisasi umur 6 minggu setelah aklimatisasi.

matisasi dengan ukuran 8-10 cm. Bibit tebu hasil aklimatisasi planlet (generasi nol atau G0) akan menunjukkan ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan perbanyakannya secara konvensional (setek). Umumnya bibit akan kembali mempunyai ukuran yang normal setelah generasi ke-2 (G2).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa regenerasi dan pertumbuhan tanaman tebu secara *in vitro* dipengaruhi antara lain oleh jenis atau varietas dan komposisi media tumbuh yang digunakan. Induksi kalus tanaman tebu varietas Bulu Lawang dapat dilakukan dengan formulasi media MS + 2.4-D 2 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹ + CH 2000 mg.l⁻¹ dan varietas PS 951 dapat dilakukan dengan formulasi media MS + 2.4-D 1 mg.l⁻¹ + BAP 0,4 mg.l⁻¹. Regenerasi tunas tanaman tebu varietas Bulu Lawang dapat dilakukan dengan formulasi media MS (1962) tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dan varietas PS 951 dengan formulasi media MS + BAP 1 mg.l⁻¹ + kinetin 1 mg.l⁻¹ + NAA 0,5 mg.l⁻¹ + GA₃ 0,5 mg.l⁻¹. Induksi perakaran tanaman tebu varietas Bulu Lawang dan PS 951 dapat dilakukan dengan formulasi media MS + IBA 1 mg.l⁻¹. Jumlah planlet hasil induksi perakaran yang berhasil diaklimatisasi berkisar antara 80-100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A., S. Naz, F.A. Siddiqui, and J. Iqbal. 2008. Rapid clonal multiplication of sugarcane (*Saccharum officinarum*) through callusgenesis and organogenesis. Pak. J. Bot., 4(11):123-138.
- Behera, K.K. and S. Sahoo. 2009. Rapid *in vitro* micro propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) through callus culture. Nature Science 7(4):1-10.
- Chengalrayan, K., A. Abouzid, and M. Gallo-Meagher. 2005. *In vitro* regeneration of plant from sugarcane seed-derived callus. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 41:477-482.
- Davies, P.J. 2004. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action 3rd Edition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. 750 p.
- Deptan. 2009. Luas areal, produksi dan produktifitas tebu nasional. <http://database.deptan.go.id/bdsp/newdata.asp>. [25 Mei 2009].
- Falco, M.C., B.M.J. Mendes, A.T. Neto, and B.A. da Gloria. 1996. Histological characterization of *in vitro* regeneration of *Saccharum* sp., R. Bras. Fisiol. Veg. 8(2):93-97.
- Farid, M.B. 2003. Perbanyakannya tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi IBA dan BAP. J. Sains dan Teknologi 3(3):103-109.
- Gandonou, Ch., T. Errabii, J. Abrinii, M. Idaomari, F. Chibi, and N.S. Senhaji. 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharum* sp.). African J. Biotechnol. 4(11):1250-1255.
- Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D.M. Reid, and T.A. Thorpe. 1996. Plant hormones and growth regulator in plant tissue culture. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 32:272-289.
- George, F.E., M.A. Hall, and Geert-Jan De Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition Volume 1. The Background. Springer Publisher. Dordrecht, Netherlands. 501 p.
- Jalaja, N.C., D. Neelamathi, and T.V. Sreenivasan. 2008. Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the Pacific. FAO, APCoAB and APAARI. p. i-x + 46.
- Karim, M.Z., R. Alam, R. Baksha, S.K. Paul, M.A. Hossian, and A.B.M.M. Rahman. 2002. *In vitro* clonal propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum*) variety Isd 31. Pakistan J. Biol. Sci. 5(6):659-661.
- Khan, I.A. and K. Abdullah. 2006. Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: Histological Studies. Pak. J. Bot. 38(3):631-636.
- Khan, S. Ali, H. Rashid, M.F. Chaudhary, Z. Chaudhary, and A. Afroz. 2008. Rapid micropropagation of three elite sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties by shoot tip culture. African J. Biotechnol. 7(13):2174-2174.
- Lakshmanan, Prakash, R.J. Geijskes, L. Wang, A. Elliott, C.P.L. Grof, N. Berding, and G.R. Smith. 2006. Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids) leaf culture. Plant Cell Rep. 25:1007-1015.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures. Physiol. Plant. 15:473-97.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. Bul. Agrobio 5(2):51-58.
- Purnamaningsih, R. 2006. Induksi kalus dan optimasi regenerasi empat varietas padi melalui kultur *in vitro*. J. AgroBiogen 2(2):74-80.
- Ramanand, N. Kureel, N. Subhanand, M. Lal, and S.B. Singh. 2006. Plantlet regeneration through leaf callus culture in sugarcane. Sugar Tech. 8(1):85-87.
- Rashid, H., S.A. Khan, M. Zia, M.F. Chaudhary, Z. Hanif, and Z. Chaudhary. 2009. Callus induction and regeneration in elite sugarcane cultivar HSF-240. Pak. J. Bot. 41(4):1645-1649.
- Srivastava, L.M. 2002. Plant Growth and Development: Hormones and Environment. Academic Press. Elsevier Science. USA. 772 p.

Teruya, H. 1985. Studies on callus induction and differentiation of plantlet by tissue culture in sugarcane. Bull. Okinawa Agric. Exp. Sta. No. 10.

Zimmerman, J.L. 1993. Somatic embryogenesis: A model for early development in higher plants. *Plant Cell*. 5:1411-1423.
