



**PEMBENTUKAN TUNAS DARI KALUS TANAMAN TEBU  
(*Saccharum Officinarum* L.) AKIBAT PEMBERIAN  
ASAM AMINO (GLISIN, SISTEIN DAN ARGININ)**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Dwi Fitriani**  
**NIM 101510501141**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**PEMBENTUKAN TUNAS DARI KALUS TANAMAN TEBU  
(*Saccharum Officinarum* L.) AKIBAT PEMBERIAN  
ASAM AMINO (GLISIN, SISTEIN DAN ARGININ)**

*Callus Formation Shoots From Sugar Cane Plant (*Saccharum Officinarum* L.)  
Effect Giving Amino Acid (*Glisin, Sistein And Arginin*)*

**SKRIPSI**

**Diajukan Guna Melengkapi Tugas Akhir Dan Memenuhi Salah  
Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) Dan  
Mencapai Gelar Sarjana Pertanian**

**Oleh :  
Dwi Fitriani  
NIM 101510501141**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## **PERSEMBAHAN**

Dengan segala kerendahan hati dan puji syukur yang tak terhingga pada Allah SWT, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Sowiyah, Ayahanda Suyitno dan Suami Tercinta Angga Ponda Romadhon, yang telah mendoakan dan memberi kasih sayang serta pengorbanan selama ini, serta Bapak Imam Maliki dan Ibu Siti Kalimah juga Saudara-saudaraku Mas Akhmad Khoiri, Iis Agustia ningsih, Nina Amalia, dan Fikri Khoirandi, yang telah memberikan semangat dan dukungannya.
2. Guru-guru sejak Sekolah Dasar sampai Perguruan Tinggi terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

*Allah tidak akan merubah nasib suatu kaum jika bukan kaum itu sendiri yang merubahnya*  
(Al Ayat)

*“Tuhan Menaruhmu di tempat yang sekarang, bukan karena kebetulan. Orang yang hebat tidak dihasilkan melalui Kemudahan, kesenangan, dan kenyamanan. Mereka dibentuk melalui kesukaran, tantangan, dan air mata”*  
(Kata Bijak)

*Bermimpilah yang sebesar-besarnya, tapi bersegeralah untuk mengerjakan sekecil-kecilnya kebaikan yang terdekat*  
(Mario Teguh)

*“Innamal ‘amalubinniati”*  
*Segala sesuatu diawali dengan niat, niat yang baik*  
(Al Ayat)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Fitriani

NIM : 101510501141

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: ” **Pembentukan Tunas Dari Kalus Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum L.*) Akibat Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin)**” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Penelitian ini dibiayai oleh Ketua Penelitian Skim Strategis Nasional DP2M tahun Anggaran 2014 – 2015 dengan peneliti utama Dr. Ir. Miswar, M.Si.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 04 Juni 2015

Yang menyatakan,

Dwi Fitriani

NIM 101510501141

**SKRIPSI**

**PEMBENTUKAN TUNAS DARI KALUS TANAMAN TEBU  
(*Saccharum Officinarum L.*) AKIBAT PEMBERIAN  
ASAM AMINO (GLISIN, SISTEIN DAN ARGININ)**

**Oleh :**

**Dwi Fitriani**

**NIM 101510501141**

**Pembimbing :**

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M.Si.**

**NIP. 196410191990021002**

**Dosen Pembimbing Anggota : Ummi Sholikhah, SP., M**

**NIP. 197811302008122001**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul ” Pembentukan Tunas Dari Kalus Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) Akibat Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin” telah diuji dan disahkan pada :

Hari :  
Tanggal :  
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji  
Penguji I,

**Dr. Ir. Miswar, M. Si.**  
**NIP. 196410191990021002**

Penguji II,

Penguji III,

**Ummi Sholikhah, SP., MP.**  
**NIP. 197811302008122001**

**Ir. Didik Pudji Restanto. MS., Ph.D.**  
**NIP. 196504261994031001**

Mengesahkan  
Dekan,

**Dr. Ir. Jani Januar, M.T.**  
**NIP. 19590102 198802 1 002**

## RINGKASAN

**Pembentukan Tunas Dari Kalus Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum L.*) Akibat Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin).** Dwi Fitriani. 101510501141. 2015. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Tanaman tebu tergolong tanaman perdu dengan nama latin *Saccharum officinarum*. Salah satu komoditas yang cukup strategis dan memegang peranan penting di sektor pertanian khususnya sub sektor perkebunan dalam perekonomian nasional adalah komoditas gula. Dalam hal ini teknik secara konvensional kurang efektif untuk mendapatkan bibit yang diharapkan. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknologi harapan yang telah banyak diketahui terbukti dapat memberikan keberhasilan. Melalui kultur jaringan tanaman tebu dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan karena didalam kultur jaringan sendiri memiliki faktor perbanyakan yang tinggi. Penambahan komponen pemicu pertumbuhan pada media tumbuh seperti asam amino telah menunjukkan pengaruh yang signifikan pada kultur jaringan pada banyak spesies (Asharo, dkk., 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian asam amino terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum L.*) dan untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi yang berbeda dan optimal dalam usaha pengembangan sistem regenerasi paling efisien.

Penelitian dilaksanakan di dalam Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Agronomi, Universitas Jember menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan masing – masing 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan diuji lanjut menggunakan metode *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian tiga macam asam amino dengan konsentrasi yang berbeda berdasarkan hasil yang diperoleh berbeda nyata terhadap parameter pengamatan jumlah tunas, jumlah tunas perkalus, rata-rata panjang tunas, dan tidak berbeda nyata pada parameter pengamatan persentase tunas terbentuk baik awal maupun akhir dan rata-rata jumlah akar. Glisin merupakan asam amino paling baik di banding dengan perlakuan kontrol dan asam amino yang lain. Sedangkan, konsentrasi asam amino paling baik adalah dengan menggunakan 0,25 mM.

*Kata kunci : Tanaman tebu, kultur jaringan, asam amino.*

## SUMMARY

**Callus Formation Shoots From Sugar Cane Plant (*Saccharum Officinarum* L.) Effect Giving Amino Acid (Glisin, Sistein Dan Arginin).** Dwi Fitriani. 101510501141. Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture, University of Jember

*Sugarcane classified as herbaceous plant with the Latin name *Saccharum officinarum* L. One of commodity that is quite straregis and plays an important role in the agricultural sector, particularly the plantation sub-sector in the national economy is a commodity sugar . In this case the conventional technique is less effective to get the seeds to be expected. Tissue culture techniques is one technology that has been widely known expectation proven to deliver success. Through the sugar cane plant tissue culture can be reproduced at any time as needed for tissue culture in itself has a multiplication factor that triggers the hight component. Increase growth in growing media such as amino acids has shown a significant effect on tissue culture in many species (Asharo, et al., 2013 ). This study aims to determine the effect of amino acids on the formation of shoots from callus sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) and to determine the effect of different concentrations and optimal development efforts in most efficient regeneration system.*

*Research conducted at the Laboratory of Plant Tissue Culture, Department of Agronomy, University of Jember using completely randomized design (CRD) with 10 treatments each 3 replications. Data were analyzed by using ANOVA and further tested using Duncan Multiple Range Test (DMRT) level of 5%.*

*The results showed that the treatment doses of three kinds of amino acids with different concentrations based on results obtained are significantly different to the parameter observation of the number of buds, shoots number of callus, the average length of shoots, and were not significantly different in parameter observation of the percentage of buds formed either early or late and the average number of roots. Amino acid glycine is the best compared to the control and other amino acids whereas, the contration of amino acids are best is to use a 0,25 mM.*

**Keywords:** *sugarcane plants, tissue culture, amino acids.*

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sholawat serta salam semoga tetap tercurah kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pembentukan Tunas Dari Kalus Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) Akibat Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dibiayai oleh Ketua Penelitian Skim Strategis Nasional DP2M tahun Anggaran 2014 – 2015 dengan peneliti utama Dr. Ir. Miswar, M.Si.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik berupa motivasi, nasehat, tenaga, pikiran, materi, dan saran maupun kritik yang membangun. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Jani Januar, M.T., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember dan Ir. Hari Purnomo, M.Si.,Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Miswar, M. Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing penulis dan memberikan saran untuk menyusun skripsi yang baik;
3. Ummi Sholikhah, SP., MP. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah mendukung dan memotivasi penulis untuk menyusun skripsi yang baik.
4. Ir. Didik Pudji Restanto. MS., Ph.D. selaku Dosen Penguji sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, masukan dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Ketua Penelitian Skim Strategis Nasional DP2M tahun Anggaran 2014 – 2015 atas nama Dr. Ir. Miswar, M. Si yang telah mendanai penelitian ini;
6. Bapak Budi K. dan seluruh Bapak dan Ibu dosen beserta staf karyawan di lingkungan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

7. Ibunda Sowiyah dan Ayahanda Suyitno, terimakasih yang tak terhingga ananda ucapkan atas doa, dukungan, kasih sayang, kerja keras, kesabaran dan pengorbanan selama ini;
8. Suami Tercinta Angga Pondra Romadhon, yang telah mendoakan dan memberi kasih sayang serta pengorbanan selama ini, serta Bapak Imam Maliki dan Ibu Siti Kalimah juga Saudara-saudara tersayang Mas Akhmad Khoiri, Iis Agustia ningsih, Nina Amalia, dan Fikri Khoirandi, yang telah memberikan semangat dan dukungannya.
9. Sahabat-sahabatku tersayang Pret Frendi, Pret Nuriyah, Mbeng Rista, Mbak rara (Nely), mami Arini, Tete Fransiska, Ria Nath, Arek Rezz, Zizi dan D'Acid lainnya, dan teman seperjuangan magang, serta kerabat KKN 98 yang tidak dapat disebutkan satu - per satu, terimakasih untuk semua cerita dan kenangan bersama, baik canda tawa maupun keluh kesah.
10. Teman-teman seperjuangan baik di Laboratorium Kultur Jaringan maupun di Laboratorium Pemuliaan Tanaman baik kakak tingkat ataupun adik tingkat juga kerabat dari FKIP Biologi Universitas Jember dan Shenda si gadis kecil yang telah membantu memberikan motivasi, saran, semangat dan dukungannya dalam penyusunan skripsi ini;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dalam penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan tambahan pengetahuan terutama di bidang pertanian.

Jember, 04 Juni 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN SAMPUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>iError! Bookmark not defined.</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Tanaman Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.) .....	4
2.2 Varietas Tebu Bululawang (BL).....	5
2.3 Kultur In-vitro.....	6
2.4 Kultur In-vitro Tanaman Tebu.....	8
2.5 Penambahan Asam Amino Pada Kultur <i>in vitro</i> Tanaman Tebu .....	9
2.6 Hipotesis Penelitian .....	11
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>12</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12

3.2	Bahan dan Alat .....	12
3.3	Rancangan Percobaan .....	12
3.4	Pelaksanaan Penelitian.....	13
3.4.1	Sterilisasi Alat .....	13
3.4.2	Persiapan Eksplan .....	13
3.4.3	Pembuatan Medium.....	13
3.4.4	Penanaman Eksplan Pada Medium Kultur Jaringan .....	14
3.5	Parameter Pengamatan .....	15
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>17</b>
4.1	Hasil.....	17
4.2	Pembahasan .....	29
<b>BAB 5.</b>	<b>PENUTUP.....</b>	<b>39</b>
5.1	Kesimpulan.....	39
5.2	Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>40</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>44</b>

**DAFTAR TABEL**

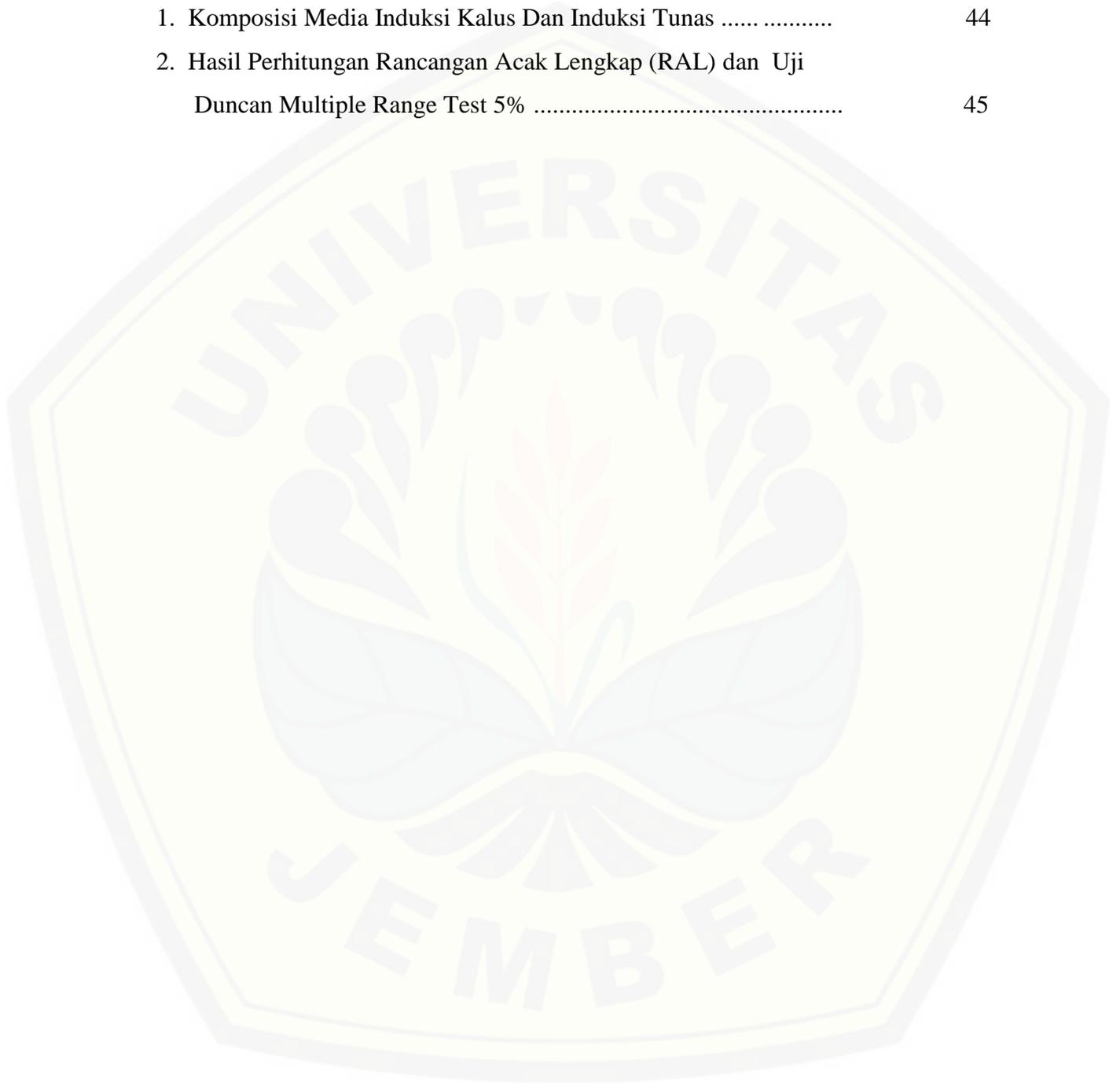
<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4. 1 Rangkuman Nilai F-Hitung Pada Parameter Yang Diuji Dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) .....	19
4. 2 Karakter Awal Muncul Tunas Dihitung Berdasarkan Hari Setelah Tanam .....	21
4. 3 Karakter Perkembangan Tunas Tebu .....	26
4. 4 Karakter Warna Tunas Tebu Berdasarkan Munsell Color Chart.....	27

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2. 1 Reaksi Pembentukan Homosistein dan Methionin Dari Sistein .....	10
4. 1 Bahan Tanam Eksplan yang digunakan dalam Percobaan .....	17
4. 2 Rata-rata Jumlah Tunas Tebu Yang Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Asam Amino Dengan Konsentrasi Berbeda .....	18
4. 3 Rata Persentase Tunas Terbentuk Tebu Akibat Pemberian Beberapa macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda .....	22
4. 4 Rata Jumlah Tunas Perkalus Tebu Akibat Pemberian Beberapa macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda .....	22
4. 5 Rata Panjang Tunas Tebu Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda .....	23
4. 6 Rata Jumlah Akar Tebu Akibat Pemberian Beberapa macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda .....	25
4. 7 Tunas Mulai Awal Muncul Sampai Akhir Penanaman .....	31
4. 8 Kontaminan Jamur Dan Bakteri.....	33
4. 9 Akar Dilihat Dari Samping .....	36
4. 10 Warna Tunas Pada Perlakuan Glisin .....	38

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Komposisi Media Induksi Kalus Dan Induksi Tunas .....	44
2. Hasil Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Duncan Multiple Range Test 5% .....	45



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman tebu tergolong tanaman perdu dengan nama latin *Saccharum officinarum*. Di Indonesia Tebu merupakan tanaman penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi sebagai bahan utama penghasil gula pasir. Tebu (*Saccharum officinarum*) dimanfaatkan sebagai bahan baku utama dalam industri gula. Program swasembada gula nasional menargetkan produksi gula 5,7 juta ton pada tahun 2014. Salah satu upaya yang harus dilakukan untuk mencapai target tersebut adalah rehabilitasi tanaman tebu dan penataan varietasnya, agar produktivitas tebu dan produksi gula senantiasa dapat dioptimalkan, maka varietas tebu unggul juga selalu diganti secara periodik dengan varietas yang baru (Asharo, *dkk*, 2013).

Salah satu komoditas yang cukup strategis dan memegang peranan penting di sektor pertanian khususnya sub sektor perkebunan dalam perekonomian nasional adalah komoditas gula (Sugiyanto, 2007). Varietas tebu unggul merupakan salah satu faktor penentu produktivitas gula nasional. Karakter varietas tebu unggul yang menjadi dasar pemilihan adalah potensi hasil tinggi, tipe kemasakan, kesesuaian terhadap fisik lahan, tahan terhadap organisme pengganggu tanaman tertentu serta yang paling penting merupakan tebu adaptif yang cocok di kembangkan di masing-masing daerah. Di Indonesia terdapat beberapa varietas tebu unggulan yang dirilis oleh P3GI, diantara kurang lebih 70 varietas. Bululawang merupakan salah satu varietas unggulan yang banyak dikembangkan di Indonesia. Varietas bululawang merupakan hasil pemutihan varietas yang ditemukan pertama kali di wilayah kecamatan Bululawang, Malang Selatan.

Dalam usaha mempercepat pencapaian hasil melalui areal pertanaman tebu memerlukan bibit dalam jumlah yang banyak, sehingga diperlukan pengadaan bibit tebu dengan skala besar dan cepat. Dalam hal ini teknik secara konvensional kurang efektif untuk mendapatkan bibit yang diharapkan. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknologi harapan yang telah banyak diketahui terbukti

dapat memberikan keberhasilan. Melalui kultur jaringan tanaman tebu dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan karena didalam kultur jaringan sendiri memiliki faktor perbanyakan yang tinggi. Penambahan komponen pemicu pertumbuhan pada media tumbuh seperti asam amino telah menunjukkan pengaruh yang signifikan pada kultur jaringan pada banyak spesies (Asharo, *dkk.*, 2013). Asam amino telah digunakan sebagai sumber nitrogen organik dalam kultur in vitro dari beberapa spesies seperti alfalfa, jagung, sorgum, nanas, beras dan monokotil lain untuk meningkatkan embriogenesis somatik dan regenerasi (Skokut *et al.*, 1985; Claparols *et al.*, 1993; Rao *et al.*, 1995; Hamasaki *et al.*, 2005; Grewel *et al.*, 2006 dalam Asad, *et al.*, 2009). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh tiga macam asam amino (glisilin, sistein dan arginin) terhadap pertumbuhan tunas tebu dari eksplan kalus.

Media kultur merupakan salah satu penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan (Gamborg and Phillips, 1995; Yusnita, 2003). Media kultur jaringan umumnya terdiri dari unsur-unsur seperti makronutrien, mikronutrient, zat pengatur tumbuh dan asam amino. Asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki berbagai fungsi pada tumbuhan diantaranya sebagai pendukung, mengangkut substansi lain, pengkoordinasi aktifitas organisme, perespon sel terhadap rangsangan, pergerakan, perlindungan terhadap penyakit, mempercepat reaksi-reaksi kimiawi secara selektif (Rasullah, *dkk.*, 2013). Selain itu, asam amino dapat meningkatkan perkembangan yang sinkron (*synchronous development*) menjadi torpedo dan kotiledon (Purnmaningsih, 2005). Pada penelitian ini digunakan asam amino arginin, sistein, dan glisin dengan 4 taraf konsentrasi. Sehingga nantinya akan diketahui pengaruh ketiga macam asam amino tersebut, kemudian dengan perbedaan konsentrasi akan diketahui konsentrasi paling efektif untuk pembentukan tunas tanaman tebu.

### 1.2 Rumusan Masalah

Pemberian asam amino dengan konsentrasi berbeda akan memberikan pengaruh terhadap hasil pertumbuhan tanaman tebu di dalam kultur jaringan, sehingga dalam hal ini memberikan rumusan masalah, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh ketiga macam asam amino terhadap pertumbuhan tanaman tebu pada kultur jaringan.
2. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi asam amino terhadap pertumbuhan tunas dari eksplan kalus tanaman tebu.

### 1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini antarlain;

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian asam amino terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu (*sacchrum officinarum L.*).
2. Untuk menegetahui pengaruh pemberian konsentrasi yang berbeda dan paling optimal dalam usaha perngembangan sistem regenerasi yang paling efisien.

### 1.4 Manfaat

1. Dalam bidang ilmu, adanya penelitian ini dapat menggambarkan tentang penanaman dan perbanyakkan tanaman tebu di dalam kultur *in vitro* dengan memberikan pemeliharaan lebih intensif serta ditambah dengan adanya perlakuan konsentrasi beberapa macam asam amino.
2. Dalam bidang pertanian, adanya penelitian ini dapat mengidentifikasi pengaruh pemberian konsentrasi beberapa macam asam amino terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

*Saccharum officinarum* atau tanaman tebu adalah tanaman yang bernilai ekonomis cukup tinggi, karena tanaman ini merupakan bahan baku utama dalam pembuatan gula. Tanaman tebu mengandung nira yang dapat diolah dalam perindustrian sebagai kristal-kristal gula. Industri gula di Indonesia semakin berkembang pesat, hal ini dikarenakan gula berperan penting dalam pemenuhan kebutuhan pokok masyarakat dan dapat menciptakan lapangan pekerjaan bagi masyarakat. Selain itu, industri gula dapat meningkatkan pertumbuhan perekonomian rakyat melalui ekspor produk gula yang menghasilkan penambahan devisa Negara (Rasullah, *dkk.*, 2013).

Manickavasagam *et al.* (2004) dalam Miswar, *et al.* (2007), menyatakan bahwa Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis untuk kepentingan industri gula dan kertas serta pakan ternak. Ploidi yang tinggi (*high ploidy*), fertilitas yang rendah (*low fertility*), genom yang besar (*large genome*) dan interaksi dengan lingkungan yang kompleks menyebabkan pemuliaan secara konvensional untuk memperbaiki genetik tebu sulit dilakukan (Gallo-Meagher and Irvine, 1996). Perkembangan yang pesat dalam bidang biologi molekuler dan transformasi genetik memungkinkan untuk mengidentifikasi, mengisolasi, dan memindahkan gen yang dikehendaki ke dalam tanaman tebu.

Gula merupakan komoditi penting bagi Indonesia. Selain sebagai salah satu bahan makanan pokok, gula juga merupakan sumber kalori bagi masyarakat selain beras, jagung dan umbi-umbian. Sebagai bahan pemanis utama, gula digunakan pula sebagai bahan baku pada industri makanan dan minuman. Keberadaan pemanis buatan dan pemanis lainnya sampai saat ini belum sepenuhnya bisa menggantikan keberadaan gula pasir. Karenanya gula menjadi semakin penting perannya pada kebutuhan pangan masyarakat (Dachliani, 2006). Kebutuhan akan gula dalam negeri masih belum terpenuhi oleh produksi gula dalam negeri. Hal ini disebabkan oleh rendahnya produksi gula per hektar,

terbatasnya areal pertanaman tebu, varietas unggul tebu yang beradaptasi khusus masih terbatas, dan serangan hama dan patogen tanaman (Yunus, 2000).

Berdasarkan hasil taksasi Dewan Gula Indonesia menunjukkan bahwa perhitungan produksi gula nasional tahun 2007 sekitar 2.350 juta ton, atau meningkat 43.000 ton dari produksi gula tahun 2006, yang hanya 2.307 juta ton. Sebelumnya produksi gula tahun ini diperkirakan turun 10-15%. Untuk mengatasi kemungkinan itu, Departemen Pertanian memperluas areal tanam tebu dari 396.000 Ha pada tahun 2006 menjadi 410.000 Ha di tahun 2007. Namun, dampak kemarau panjang di akhir tahun 2006 mengakibatkan turunnya perkiraan rendemen dari 7,78% menjadi 7,63%, dengan demikian target produksi gula sebesar 2,66 juta ton tidak tercapai. Selama ini pabrik gula mengandalkan pasok bahan baku tebu rakyat, sehingga terjadi ketidakpastian pasokan bahan mentah bagi pabrik gula. Kurangnya bahan baku tersebut, maka perlu solusi untuk memperbanyak bibit dalam jumlah yang besar dan pertumbuhan yang seragam dalam waktu yang singkat dengan metode perbanyak in vitro. Metode ini dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak, waktu yang relative singkat, dan bibit yang dihasilkan bebas penyakit (Remita, *dkk.*, 2023).

## 2.2 Varietas Tebu Bululawang (BL)

Irawan dan Edi (2012) dalam Ningrum, *dkk* (2014) menyatakan bahwa salah satu faktor yang ikut menentukan keberhasilan penanaman adalah ketersediaan bibit berkualitas. Bibit berkualitas ditandai oleh kemampuannya beradaptasi dengan lingkungan baru, dapat tumbuh dengan baik jika ditanam di lapangan, sehat, dan seragam. Bibit unggul berasal dari varietas yang unggul. Varietas tebu unggul memiliki karakteristik yaitu potensi hasil tinggi, tipe kemasakan, kesesuaian terhadap fisik lahan, tahan terhadap organisme pengganggu tanaman tertentu serta yang paling penting merupakan tebu adaptif.

Varietas Bululawang merupakan hasil pemutihan varietas yang ditemukan pertama kali di wilayah Kecamatan Bululawang, Malang Selatan. Melalui Surat Keputusan Menteri Pertanian tahun 2004, maka varietas ini dilepas resmi untuk

digunakan sebagai benih bina. BL lebih cocok pada lahan-lahan ringan (geluhan/liat berpasir) dengan sistem drainase yang baik dan pemupukan N yang cukup. Varietas BL memiliki potensi hasil cukup tinggi, hasil tebu mencapai 94,3 ton/ha dengan rendemen 7,51% dan hablur gula mencapai kurang lebih 6,90 ton/ha (P3GI, 2004).

### 2.3 Kultur In-vitro

Kultur jaringan termasuk teknik mutakhir untuk memperbanyak tanaman. Dengan teknik ini, hampir semua bagian tanaman bisa ditumbuhkan menjadi sosok tanaman yang utuh sehingga perbanyak tanaman bisa dilakukan lebih efisien. Sayangnya, teknik ini belum populer dilakukan karena terbatasnya informasi. Buku ini dihadirkan untuk mengatasi keterbatasan itu. Di dalamnya dibahas cara melakukan kultur jaringan yang tepat dan sederhana, termasuk kendala yang sering dihadapi dan cara menanggulangnya (Yusnita, 2011).

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyak tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyak tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyak tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Ritonga, 2004).

Teknik Kultur jaringan Tanaman merupakan salah satu teknik pengembangbiakan tanaman yang dianggap masih relatif baru, meskipun sebenarnya sejak tahun 1883 teori dasar yang merupakan pondasi melakukan kultur jaringan atau teori totipotensi sel telah dinyatakan oleh Sachwann dan Schleiden. Teori totipotensi sel menyebutkan setiap sel dapat bereplikasi secara otomatis dan dapat diregenerasikan membentuk tanaman lengkap. Kultur jaringan itu sendiri pertama kali dicobakan pada tahun 1902 oleh Haberlandt (Abbas, B., 2012).

Kultur in vitro meliputi tahap-tahap penanaman eksplan, induksi kalus, proliferasi kalus, induksi tunas, induksi akar, hardening in vitro, dan aklimatisasi yang kemudian diperoleh tanaman yang siap di - tanam di lapang. Setiap tahapan mulai dari induksi kalus hingga pembentukan akar mungkin membutuhkan media kultur dengan zat pengatur tumbuh yang berbeda-beda baik jenis maupun konsentrasinya (Mayang, *dkk.*, 2011).

Wu, *et al.* (1987) dalam Zesari, *dkk* (2010) mengatakan bahwa keberhasilan pada tahapan ini tergantung pada faktor dari dalam maupun faktor dari luar diantaranya faktor dari luar adalah nutrisi media (dasar atau tambahan). Keberhasilan pengembangan dan aplikasi kultur jaringan pada banyak tanaman dengan berbagai tujuan sangat dipengaruhi oleh medium kultur dan tingkat kesesuaiannya dengan eksplan yang ditanam (George et al. 2008). Berbagai jenis medium dasar seperti medium Anderson's Rhododendron (AR; Anderson 1980), Chee & Pool (C2D; Chee & Pool 1987), Chu (N6; Chu 1978), DKW/Juglans (Driver & Kuniyaki 1984), Gamborg (B5; Gamborg et al. 1968), Kao & Michayluk (KM; Kao & Michayluk 1975), Knudson (K; Knudson 1946), Linsmaier & Skoog (LS; Linsmaier & Skoog 1965), Morel (M; Morel 1964), Murashige & Skoog (MS; Murashige & Skoog 1962), serta Nitsch & Nitsch (NN; Nitsch & Nitsch 1969) berhasil dikembangkan dan diaplikasikan pada kultur jaringan berbagai tanaman. Di antara berbagai jenis medium dasar tersebut, medium Murashige & Skoog (MS) (1962) merupakan salah satu jenis medium kultur jaringan yang memiliki tingkat kesesuaian tinggi pada beberapa jenis eksplan (George et al. 2008). Medium dasar tersebut dan beberapa modifikasinya juga berhasil diaplikasikan dalam kultur jaringan Anthurium untuk berbagai tujuan, baik untuk induksi pembentukan kalus, embrio, maupun regenerasinya (Kuehnle et al. 1992, Matsumoto et al. 1996, Hamidah *et al.* 1997). *Yang dikutip dalam Winarto, 2013.*

Pada umumnya komposisi utama media tanam kultur jaringan, terdiri dari hormon (zat pengatur tumbuh) dan sejumlah unsur yang biasanya terdapat di dalam tanah yang dikelompokkan ke dalam unsur makro, unsur mikro. Hasil yang lebih baik akan dapat kita peroleh bila, kedalam media tersebut, ditambahkan

vitamin, asam amino, dan hormon, bahan pematat media (agar), glukosa dalam bentuk gula maupun sukrosa, air destilata (akuades), dan bahan organik tambahan (Sepdian Luri A., 2009).

Jenis dan komposisi media sangat mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup pada media tersebut, sedangkan zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin endogen yang terdapat pada eksplan berpengaruh terhadap besarnya penyerapan zat makanan yang tersedia dalam media kultur sehingga eksplan dapat bertahan hidup lebih lama. Bila pertumbuhan eksplan baik maka dapat meningkatkan daya tahan hidup eksplan. Media dalam kultur jaringan tanaman umumnya terdiri dari komponen-komponen sebagai berikut: hara makro, hara mikro, vitamin, asam amino atau suplemen nitrogen lainnya, gula, bahan organik kompleks, bahan pematat (agar), dan zat pengatur tumbuh (hormon) (Anonim. 2011).

#### **2.4 Kultur In-vitro Tanaman Tebu**

Salah satu faktor penting yang mendukung program pertanian adalah pengadaan bibit bermutu, seragam dan diperoleh dalam jumlah yang banyak. Kebutuhan tersebut sulit dipenuhi apabila pengadaan bibit dilakukan secara konvensional. Untuk mengantisipasi hal tersebut, dapat ditempuh cara perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Kultur jaringan telah terbukti dapat menyediakan bibit berbagai tanaman yang akan dieksploitasi secara luas terutama pada tanaman semusim (*berdinding lu-nak*). Melalui kultur in vitro tanaman dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan, karena faktor perbanyakannya tinggi (Purnamaningsih, 2002).

Perbanyak tebu untuk memperoleh bibit yang unggul dapat dilakukan budidaya secara kultur jaringan (*in vitro*). Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuh kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi kultur yang aseptik secara in vitro. Perbanyak secara kultur jaringan akan menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu, kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang

unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit (Rasullah, *dkk.*, 2013).

Kegiatan ini memerlukan benih tebu dalam jumlah besar dan tidak bisa dipenuhi secara konvensional. Syarat iklim spesifik untuk pembungaan dan pembenihan berkesinambungan dengan panjangnya siklus hidup menjadi kendala untuk menerapkan persilangan secara konvensional serta perbanyakan bibit tebu. Rentang waktu yang lama ini juga berpotensi terjadi akumulasi penyakit sistemik yang dapat menurunkan potensi produktivitasnya. Bagaimanapun, penerapan bioteknologi tanaman sangat berpotensi dalam mengatasi berbagai masalah tersebut salah satunya melalui aplikasi teknik kultur jaringan yang merupakan solusi optimalisasi perbanyakan bibit tebu varietas unggul dalam waktu singkat dan mampu dikontrol (Asharo, *dkk.*, 2013).

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 perbanyakan, perbaikan varietas atau transformasi gen (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011).

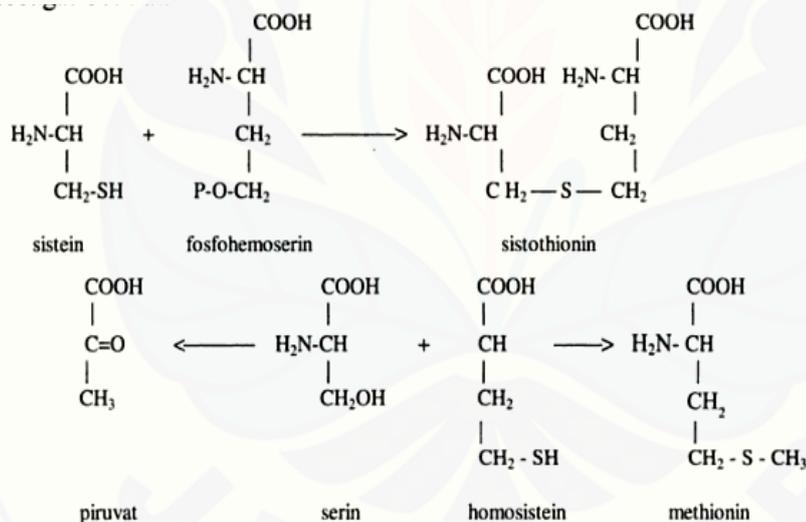
## **2.5 Penambahan Asam Amino Pada Kultur *in vitro* Tanaman Tebu**

Protein tersusun atas satuan yang berupa asam amino. Jumlah asam amino yang umum terdapat pada jasad hidup ada 20 macam. Satu asam amino terdiri atas satu gugus amino, satu gugus karboksil, satu atom hidrogen, dan satu rantai samping yang terikat pada atom karbon. Susunan tetrahedral keempat gugus tersebut menentukan aktivitas optik asam amino sehingga ada dua bentuk isomer yaitu L-isomer dan D-isomer. Hanya bentuk L-isomer yang menyusun protein.

Perbedaan utama antara asam amino satu dengan asam amino yang lain terletak pada gugus sampingnya. Asam amino yang paling sederhana strukturnya adalah glisin yang hanya mempunyai satu asam hidrogen pada gugus sampingnya (Yuwono, 2002). Sedangkan, sistein adalah asam amino non esensial yang mengandung sulfur yang disintesis dari metionin. Dalam kondisi ada oksigen, dua molekul sistein dioksidasi menjadi sistin. Gangguan metabolisme sistein/sistin yang paling umum adalah sistinuria dan sistinosis (Bechman, *dkk*, 1999). Tanaman umumnya menyerap sulfur dalam bentuk  $\text{SO}_4^-$  dari tanah oleh akar. Sulfur juga diserap oleh tanaman dalam bentuk  $\text{SO}_2$  dari udara lewat daun. Sulfat yang diserap tanaman direduksi menjadi  $-\text{S}$  bentuk reduksi dengan reaksi sebagai berikut :



Reaksi pembentukan homosistein dan methionin dari sistein digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2.1. Reaksi Pembentukan Homosistein dan Methionin Dari Sistein (Yuwono dan Rosmarkam, 2002).

Penambahan komponen pemicu pertumbuhan pada media tumbuh seperti asam amino telah menunjukkan pengaruh yang signifikan pada kultur jaringan pada banyak spesies 2 Keutamaan (Asharo, *dkk*, 2013). Faktor lain penunjang keberhasilan kultur jaringan tanaman adalah komposisi media tanam. Komposisi media kultur jaringan umumnya meliputi unsur makronutrien, mikronutrien, zat

pengatur tumbuh, dan asam amino. Asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki berbagai fungsi pada tumbuhan diantaranya sebagai pendukung, mengangkut substansi lain, pengkoordinasi aktifitas organisme, perespon sel terhadap rangsangan, pergerakan, perlindungan terhadap penyakit, mempercepat reaksi-reaksi kimiawi secara selektif. Arginin termasuk dalam asam amino esensial, sedangkan glutamin termasuk dalam asam amino non esensial, yang berarti dapat dibentuk oleh tubuh atau organ serta dibentuk dalam jumlah terbatas, sehingga masih diperlukan penambahan dari luar. Arginin adalah asam amino yang banyak dilaporkan berpengaruh baik dalam menginduksi tunas adventif. Tunas yang terbentuk lebih hijau dan terlihat lebih segar dibandingkan tanpa arginin. Penguningan pada eksplan dapat ditekan dengan penambahan arginin pada media. telah membuktikan dalam penelitiannya bahwa jumlah tunas dan daun eksplan meningkat 6 kali lebih pada medium dengan penambahan arginin konsentrasi 30 ppm hingga 50 ppm (Rasullah, *dkk.*, 2013).

#### **2.6 Hipotesis Penelitian**

1. Pemberian macam asam aminoberpengaruh terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu (*sacchrum officinarum L.*) di dalam kultur jaringan.
2. Konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu (*sacchrum officinarum L.*).

### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2014 sampai dengan bulan Januari 2015 di dalam Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Agronomi, Universitas Jember.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Percobaan ini menggunakan Tebu Varietas Bululawang (BL) untuk menginduksi kalus dengan menggunakan eksplan daun tebu yang masih menggulung yang didapat dari Perkebunan PTPN PG Semboro. Sedangkan, untuk bahan lain yang digunakan yaitu;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , Aquades, detergen, alkohol, klorox dan agar. Untuk alat yang digunakan yaitu; Beaker gelas, Timbagan, pH meter, Stirrer, petridish steril, pisau skalpel, laminar, pembakar bunsen dan Botol. Komposisi media yang digunakan untuk pembentukan tunas dari kalus adalah MS ditambah NAA (0,5 ppm), BAP (1,0 ppm) dan Asam Amino sesuai dengan perlakuan.

#### **3.3 Rancangan Percobaan**

Rancangan percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan masing – masing 3 kali ulangan, yaitu:

1. Kontrol atau tanpa perlakuan
2. Glisin dengan konsentrasi 0,25 mM
3. Glisin dengan konsentrasi 0,5 mM
4. Glisin dengan konsentrasi 0,75 mM
5. Sistein dengan konsentrasi 0,25 mM
6. Sistein dengan konsentrasi 0,5 mM
7. Sistein dengan konsentrasi 0,75 mM
8. Arginin dengan konsentrasi 0,25 mM
9. Arginin dengan konsentrasi 0,5 mM
10. Arginin dengan konsentrasi 0,75 mM

Data dianalisis menggunakan ANOVA dan diuji lanjut menggunakan jarak berganda Duncan dengan taraf 5% atau DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan meliputi botol kultur, *scalpel*, *petridish*, dan pinset dicuci dengan menggunakan sabun cuci, di bilas, kemudian dikeringkan. Alat yang telah kering di bungkus dengan plastik tebal transparan, kemudian di sterilisasi dengan *autoclaf* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 Psi selama kurang lebih 45 menit.

#### 3.4.2 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman tebu varietas BL, bagian yang di ambil adalah bagian dasar daun tebu yang masih menggulung (*spindle leaf*) dengan diameter kurang lebih 0,5 – 0,7 cm. Eksplan tersebut kemudian dipotong – potong dengan panjang kurang lebih 0,3 – 0,5 cm, setelah itu dikaluskan pada media pengkalusan.

#### 3.4.3 Pembuatan Medium

Pembuatan media dalam penelitian ini menggunakan 2 macam media yaitu media untuk induksi kalus dan media untuk pertunasan.

##### a) Media Induksi Kalus

Pembuatan media dilakukan dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan kemudian dimasukkan kedalam labu erlenmeyer atau botol media. Pada media pengkalusan digunakan MS 2,4-D 3 ppm dengan penambahan 3% selulosa, 10% air kelapa, 3% glukosa. Bahan-bahan tersebut dimasukkan dilarutkan dengan aquadest sampai volume larutan mencapai 250 ml (jika media yang dibuat ¼ l). Kemudian dimasukkan kedalam beaker glass dan diaduk dengan menggunakan *magnetick stirrer*. Larutan dikondisikan pada pH 5,7-5,8. Jika pH terlalu rendah

dapat ditambahkan NaOH, namun jika pH terlalu tinggi dapat ditambahkan dengan HCl. Kemudian larutan ditambahkan agar sebanyak 0,8% dari media yang akan dibuat. Selanjutnya larutan diaduk dengan *magnetik stirrer* dan dididihkan dengan menggunakan *hot plate*. Setelah larutan mendidih, kemudian dituangkan ke botol kultur kurang lebih 25 ml setiap botolnya. Botol ditutup dengan menggunakan plastik PP 0,3 mm dan diikat dengan karet, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121<sup>0</sup>C pada tekanan 1,5 kg/cm<sup>3</sup> selama 45 menit. Selanjutnya botol ditempatkan pada rak-rak kultur hingga didapatkan kalus kurang lebih 3-4 minggu.

b) Media Induksi Tunas

Tahap selanjutnya setelah mendapatkan kalus yaitu induksi tunas atau pertunasan. Pada media induksi tunas, komposisi media MS ditambah NAA (0,5 ppm), BAP (1,0 ppm) dan Asam Amino, yaitu; arginin, sistein, dan glisin dengan masing – masing konsentrasi yang berbeda mulai dari 0; 0,25; 0,5 dan 0,75 mM. Penanaman kalus dilakukan sebanyak 3 potongan dalam setiap botolnya. Semua media kultur ditempatkan dalam kondisi ruang dengan pH pada media diatur hingga 5,7-5,8. Media di pelihara dan diamati selama kurang lebih 4 minggu hingga mendapatkan tunas.

3.4. 4 Penanaman Eksplan Pada Medium Kultur Jaringan

Setelah pembuatan medium selesai maka dilakukan penanaman eksplan ke dalam medium. Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* secara aseptis. Sebelum eksplan ditanam dalam medium maka diperlukan sterilisasi alat dan sterilisasi eksplan. Sterilisasi alat dilakukan dengan cara semua alat yang digunakan untuk penanaman dicelupkan pada alkohol 70% kemudian dibakar diatas bunsen. Sterilisasi eksplan sendiri dilakukan dengan cara yang sama yakni potongan dari daun tebu yang menggulung (*spindel leaf*) dicelupkan kedalam alkohol 70 % kemudian dilewatkan diatas api bunsen. Selanjutnya eksplan dimasukkan kedalam botol kultur yang telah berisi media. Eksplan diinkubasi dibawah cahaya lampu flourescane 1000 lux dengan pencahayaan 16 jam per hari pada suhu 21<sup>0</sup>C dan diamati hingga kurang lebih 2 bulan.

### 3.5 Parameter Pengamatan

Eksplan yang telah diinokulasi diamati berdasarkan parameter pengamatan. Parameter pengamatan pada penelitian ini mulai dari munculnya tunas, perkembangan tunas, warna tunas, jumlah tunas, prosentase tunas terbentuk, dan jumlah tunas per kalus.

a. Muncul tunas

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat muncul tunas pertama kali yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam). Terbentuknya tunas ditandai dengan adanya tonjolan berwarna putih kehijauan ( $\pm 2$  mm) pada permukaan eksplan.

b. Perkembangan tunas

Perkembangan tunas diamati dengan cara melihat kalus dengan beberapa ciri atau karakter kalus yaitu; hanya tumbuh tunas, hanya tumbuh akar, atau tumbuh tunas dan akar.

c. Warna tunas

Pengamatan warna tunas dilakukan pada akhir pengamatan dengan mengamati secara langsung dan dibandingkan dengan warna Munsell. Penentuan warna tunas ditetapkan berdasarkan tanda plus :

- + : putih
- ++ : kuning
- +++ : hijau kuning
- ++++ : hijau

d. Jumlah tunas

Jumlah tunas diamati pada akhir pengamatan, dilakukan dengan menghitung jumlah tunas yang muncul dari permukaan eksplan.

e. Persentase tunas yang terbentuk

Persentase tunas yang terbentuk diamati dengan cara jumlah kalus yang tumbuh tunas dibandingkan dengan jumlah kalus yang ditanam kemudian dikalikan 100%.

f. Jumlah tunas per kalus

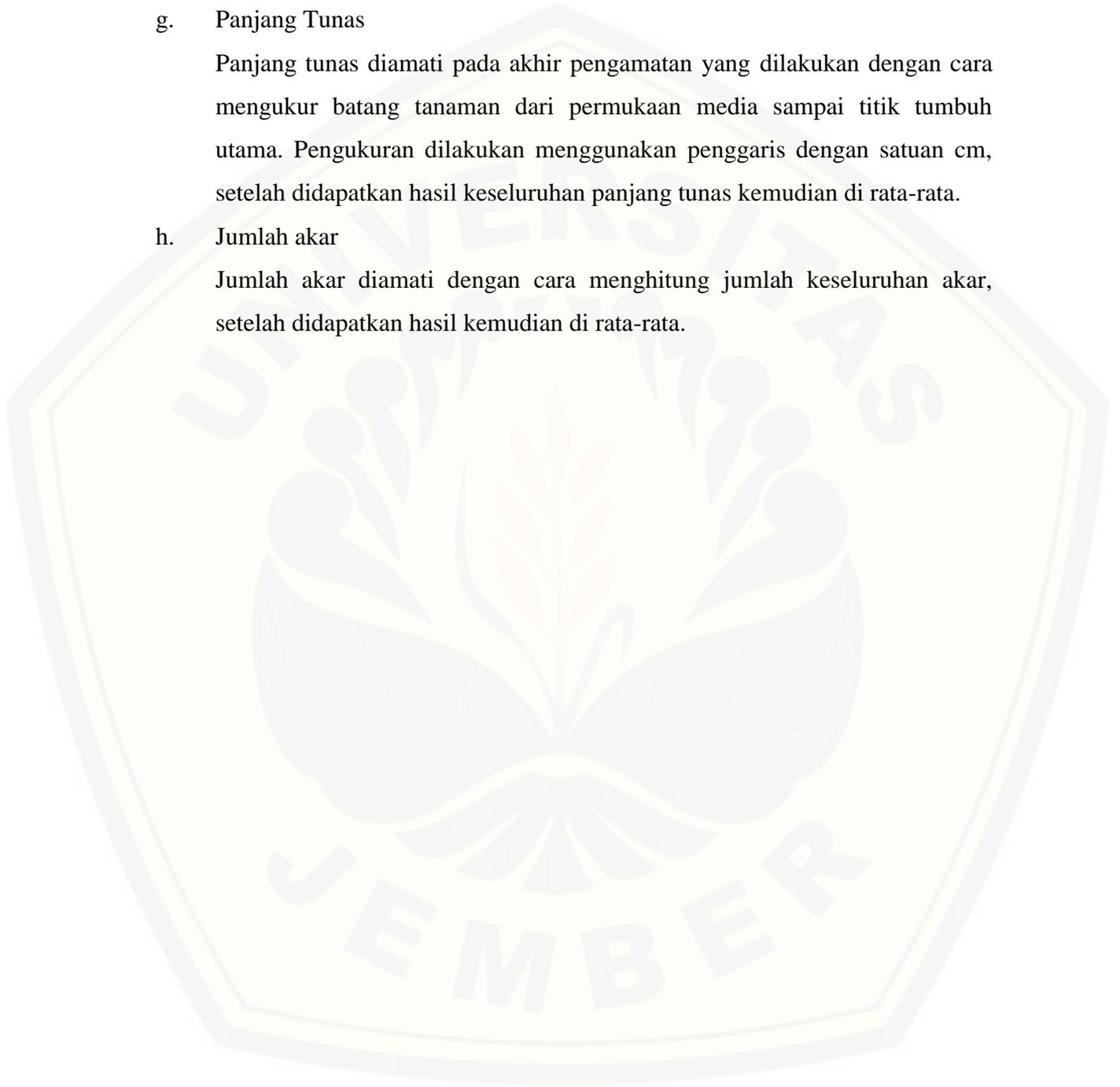
Jumlah tunas perkalus diamati dengan cara menghitung jumlah tunas yang tumbuh pada setiap kalus yang ditanam.

g. Panjang Tunas

Panjang tunas diamati pada akhir pengamatan yang dilakukan dengan cara mengukur batang tanaman dari permukaan media sampai titik tumbuh utama. Pengukuran dilakukan menggunakan penggaris dengan satuan cm, setelah didapatkan hasil keseluruhan panjang tunas kemudian di rata-rata.

h. Jumlah akar

Jumlah akar diamati dengan cara menghitung jumlah keseluruhan akar, setelah didapatkan hasil kemudian di rata-rata.



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Percobaan ini diawali dengan melakukan uji pendahuluan, dimaksudkan untuk mendapatkan bahan tanam atau eksplan berupa kalus melalui tahap sterilisasi yang dilanjutkan dengan inokulasi hingga mendapatkan eksplan selama kurang lebih 3-4 minggu. Eksplan yang digunakan berasal dari tabu varietas BL (Bululawang), diperoleh dari PTPN XI (Persero) PG. Semboro. Pembentukan kalus dilakukan dengan menggunakan bagian dasar daun tebu yang masih menggulung (*spindle leaf*) dengan diameter kurang lebih 0,5 – 0,7 cm kemudian dipotong dengan ketebalan 3-4 mm di dalam Laboratorium Kultur Jaringan (*Tissue Culture*) Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Batang tebu yang digunakan sebagai bahan tanam yaitu pada bagian pucuk yang merupakan bagian meristem. Jaringan meristem merupakan jaringan muda yang terdiri dari sekelompok sel – sel tumbuhan yang aktif membelah sehingga mudah mendapatkan bahan eksplan lebih cepat. Bagian pucuk yang sudah didapatkan kemudian disterilisasi dalam laboratorium kultur jaringan pada LAF. Sebelum masuk LAF batang pucuk tersebut terlebih dahulu disemprot dengan alkohol 70 % kemudian di rendam dalam larutan alkohol 70% dengan memakai pinset baru kemudian dibakar menggunakan api bunsen secara merata keseluruhan bagian, pekerjaan tersebut diulang sampai 3 kali. Setelah itu mengupas pelepah batang dengan hati-hati menggunakan pisau *scalpel* sampai terlihat jaringan meristem, baru kemudian dipotong kecil – kecil dengan ukuran 3-4 mm pada petridis steril yang berisi aluminium foil. Setelah dipotong kemudian ditanam pada media penumbuh kalus dengan memberi jarak antar potongan agar tidak terlalu rapat, setiap petridish berisi kurang lebih 15, kemudian petridish ditutup dengan melapisi plastik Wrappada pinggiran tutup. Setelah itu ditempatkan pada rak dalam ruang inkubator dengan dipasang kain hitam seluas kotak pada rak untuk mendapatkan suasana gelap, inkubasi dilakukan sampai mendapatkan kalus sebagai bahan tanam atau eksplan selama kurang lebih 3-4 minggu.

Berikut merupakan gambar bahan tanam (eksplan) yang di gunakan dalam percobaan:



4.1 a) Batang Tebu dari Lapang ; b) Eksplan Bagian Pucuk Tebu; c) *Spindle leaf* Berdiameter 0,5-0,7 cm; d) Potongan Kecil berukuran 3-4 mm dari *Spindle leaf* ; e) Eksplan yang telah mengkalus.

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan di dapatkan hasil perhitungan analisis varians (ANOVA), maka dapat dilihat pada tabel berikut;

Tabel 4.1 Rangkuman Nilai F-Hitung Pada Parameter Yang Diuji Dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

No	Karakter Pengamatan	F-Hitung	F-Tabel	
			0,05	0,01
1	Jumlah Tunas	2,42 *		
2	Persentase tunas Terbentuk			
	Awal	1,08 <sup>ns</sup>		
	Akhir	0,92 <sup>ns</sup>	2,39	3,46
3	Jumlah Tunas per kalus	2,40 *		
4	Rata-rata Panjang Tunas	2,49 *		
5	Rata-rata Jumlah Akar	1,10 <sup>ns</sup>		

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat nyata

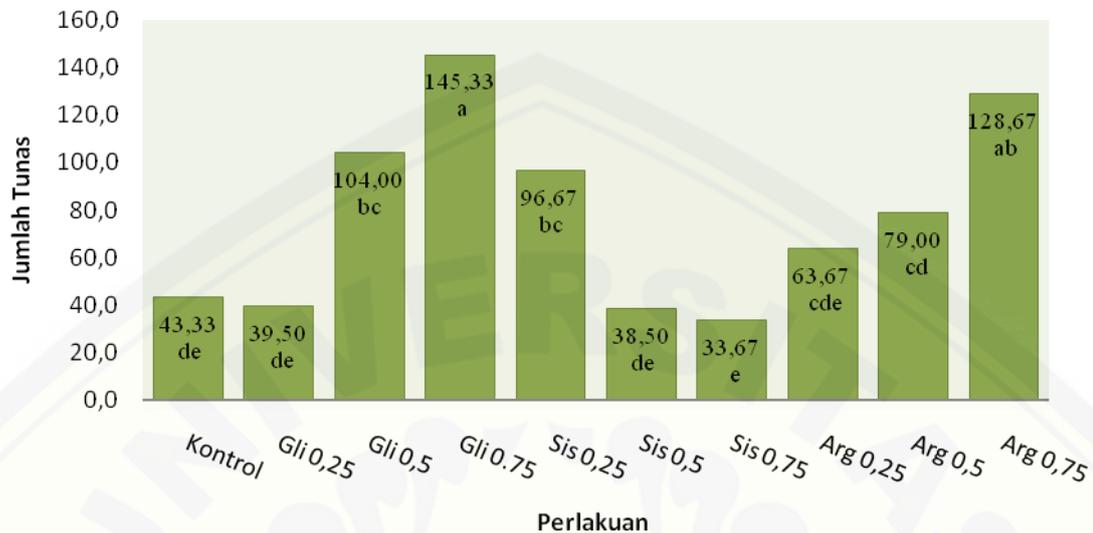
\* = Berbeda nyata

ns = Berbeda Tidak nyata

Berdasarkan tabel tersebut (Tabel 4.1) dengan menggunakan analisis ragam menunjukkan hasil yang berbeda, tiga karakter pengamatan menunjukkan hasil yang berbeda nyata yakni pada jumlah tunas, jumlah tunas per kalus dan rata-rata panjang tunas. Sedangkan, pada karakter pengamatan persentase tunas terbentuk baik awal maupun akhir dan juga pada rata – rata jumlah akar menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Jumlah tunas dihitung pada akhir pengamatan, tunas yang muncul dari permukaan eksplan di biarkan tumbuh satu per satu sampai semua tumbuh tunas dapat dilihat baik tunas maupun akarnya dengan jelas kurang lebih 3 bulan. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan jumlah tunas pada setiap perlakuan memiliki beda yang cukup banyak. Kemudian, setelah dilakukan analisis varian perlakuan asam amino dengan konsentrasi yang berbeda di dapatkan hasil yang berbeda nyata terhadap karakter jumlah tunas. Pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa perlakuan Glisin 0,75 mM memiliki jumlah rata-rata tunas paling tinggi dibanding yang lain dan memiliki beda yang cukup banyak dengan angka 145,53. Sedangkan paling rendah pada perlakuan sistein 0,75 mM dengan angka 33, 67, rata-rata dengan jumlah sedikit juga dimiliki oleh perlakuan Glisin 0, 25 mM dan

Sistein 0,5 mM berturut-turut yakni 39,5 dan 38,5, jumlah tersebut lebih rendah di banding dengan perlakuan kontrol yang memiliki rata-rata 43,33.



Gambar 4.2 Rata – Rata Jumlah Tunas Tebu Yang Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

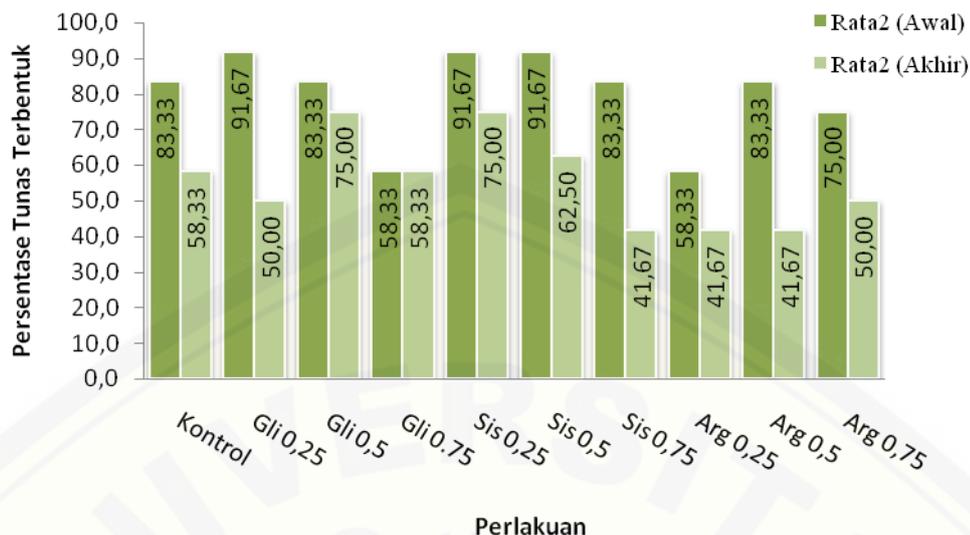
Untuk parameter awal muncul tunas sendiri dihitung berdasarkan hari setelah tanam, pada percobaan tunas muncul paling cepat 3 hari setelah tanam pada semua perlakuan. Warna merah pada angka tabel 4.2 dimaksudkan tunas setelah muncul mengalami gangguan dan kemudian mati. Hal tersebut dikarenakan tunas setelah muncul namun beberapa hari kemudian mengalami browning lalu mati, selain itu juga dikarenakan terkena kontaminasi baik oleh bakteri ataupun jamur dan kurang berhati-hati ketika melakukan subkultur. Sedangkan angka nol (0) menunjukkan kalus tidak mampu tumbuh menjadi tunas. Perlakuan Glisin menunjukkan paling baik seperti yang terlihat pada Tabel 4.2, awal muncul paling cepat dan paling banyak terdapat pada semua perlakuan glisin. Pada perlakuan glisin 0,5 ulangan 2 semua tunas muncul 3 hari setelah tanam, meskipun terdapat 1 yang mati. Karakter awal muncul tunas paling lama yaitu 43 hari setelah tanam seperti yang di tunjukkan pad perlakuan kontrol ulangan 3 Tanaman 3(T3) dan pada Arginin 0,75 mM ulangan 1 T4. Pada perlakuan glisin untuk semua ulangan pertumbuhan paling lama 15 hst, hal tersebut juga sama terjadi pada perlakuan dengan konsentrasi glisin 0,75 mM , sistein 0,25 mM, dan arginin 0,5 mM. Pada perlakuan glisin 0,5 mM dan sistein

0,75 mM awal muncul tunas sama –sama paling lama 28 hst, sedangkan pada sistein konsentrasi 0,5 mM muncul 39 hst, perlakuan arginin 0,25 mM paling lama 38 hst.

Tabel 4. 2 Parameter Awal Muncul Tunas Dihitung Berdasarkan Hari Setelah Tanam (HST)

		Asam amino									
Ulangan	Kontrol	Gli	Gli	Gli	Sis	Sis	Sis	Arg	Arg	Arg	
		0,25	0,5	0,75	0,25	0,5	0,75	0,25	0,5	0,75	
<b>1</b>	T1	0	15	15	15	9	0	15	0	15	14
	T2	0	15	3	15	9	15	15	0	0	14
	T3	14	3	3	0	0	15	15	15	15	14
	T4	3	15	15	3	15	9	0	0	15	43
<b>2</b>	T1	39	9	0	0	15	39	3	38	9	15
	T2	15	15	3	9	9	9	3	9	9	0
	T3	14	15	3	9	9	9	15	9	15	15
	T4	15	9	3	0	9	15	0	9	15	0
<b>3</b>	T1	21	9	0	0	15	9	9	0	15	0
	T2	14	9	28	15	9	9	9	16	3	15
	T3	43	0	15	15	9	15	9	0	0	15
	T4	14	9	3	0	9	39	28	37	15	3

Parameter persentase tunas terbentuk dihitung ketika awal muncul tunas dan di akhir pengamatan. Berdasarkan analisis varian (Anova) di dapatkan hasil bahwa perlakuan asam amino dengan konsentrasi yang berbeda tidak berbeda nyata terhadap karakter persentase tunas yang terbentuk baik pada awal muncul tunas maupun akhir pengamatan. Pada gambar 4.3 rata – rata persentase tunas yang terbentuk paling tinggi pada tiga perlakuan, yakni perlakuan glisin 0,25 mM, sistein 0,25 dan sisten 0,5 mM sebesar 91,67%, sedangkan paling rendah terdapat pada perlakuan glisin 0,75 mM dan arginin 0,25 mM yaitu sebesar 58,33%.



Gambar 4.3 Rata- Rata Persentase Tunas Tebu Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

Parameter persentase tunas terbentuk (akhir) dihitung tunas yang terbentuk dan mampu tumbuh berkembang sampai akhir pengamatan. Gambar 4.3 menunjukkan bahwa rata-rata persentase tunas paling tinggi pada 2 perlakuan yaitu glisin 0,5 mM dan sistein 0,25 mM dengan persentase yang sama sebesar 75% . Sedangkan, pada tiga perlakuan menunjukkan angka yang sama dan paling rendah yaitu perlakuan sistein 0,75 mM; arginin 0,25 mM dan arginin 0,5 mM dengan angka 42%.



Gambar 4. 4 Rata – Rata Jumlah Tunas Per Kalus Tebu Yang Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

Pada percobaan yang dilakukan juga di amati jumlah tunas per kalus, hal tersebut untuk mengetahui bagaimana asam amino dapat berpengaruh terhadap jumlah tunas yang di hasilkan. Pengamatan tersebut dilakukan dengan cara dihitung dalam setiap kalus dapat menghasilkan jumlah tunas berapa banyak. Dari hasil analisis varian perlakuan asam amino dengan konsentrasi yang berbeda di dapatkan hail berbeda nyata terhadap karakter jumlah tunas per kalus. Berdasarkan gambar 4.4 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tunas per kalus paling tinggi pada perlakuan arginin 0,75 mM yakni sebesar 64,33. Hasil yang juga cukup tinggi berada di bawah rata-rata arginin 0,75 yaitu oleh glisin 0,75 mM sebesar 56,11, sementara perlakuan lain memiliki rata-rata dibawah kisaran 50. Sedangkan rata-rata jumlah tunas perkalus paling rendah pada perlakuan glisin 0,25 mM yakni sebesar 8,78 dan rata-rata terbut berda di bawah perlakuan kontrol yakni sebesar 17,50.

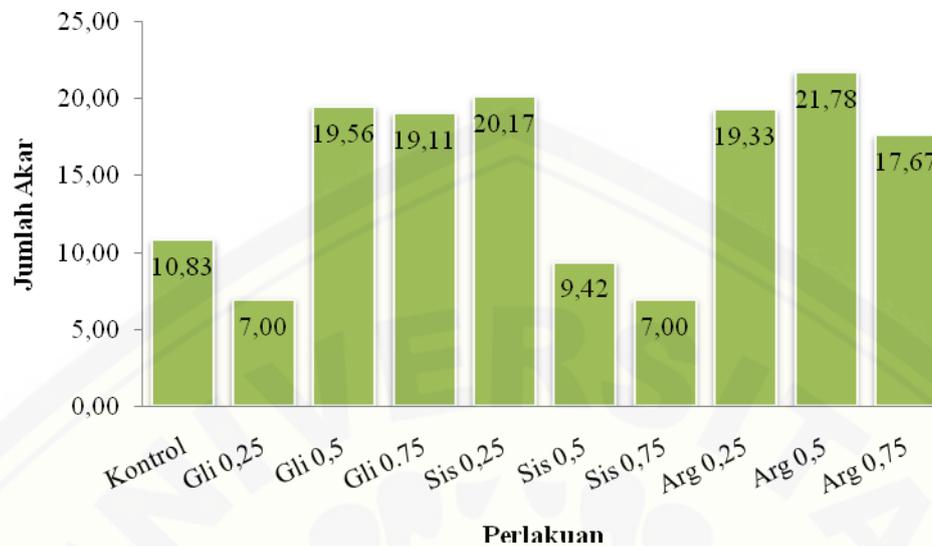


Gambar 4. 5 Rata-Rata Panjang Tunas Tebu Yang Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

Pengamatan panjang tunas dilakukan dengan menggunakan penggaris satuan cm, panjang tunas yang dihitung adalah tunas yang tertinggi diantara rumpun tunas yang terbentuk pada satu eksplan. Berdasarkan analisis varian perlakuan asam amino dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh berbeda nyata terhadap karakter panjang tunas. Pada data hasil pengamatan menunjukkan

rata-rata panjang tunas paling tinggi pada perlakuan sistein 0,25 mM dengan angka 19,17 cm kemudian diikuti di bawahnya oleh perlakuan glisin 0,25 mM dan glisin dengan angka yang sama yaitu 16,60 cm kemudian seterusnya rata-rata panjang tunas semakin rendah berturut – turut yakni arginin 0,75 sebesar 10,83cm, sistein 0,5 mM sebesar 10,75 cm, arginin 0,5 mM sebesar 10,67 cm, glisin 0,5 mM yakni 10,37 cm, arginin 0,25 mM sebesar 8,53 cm, kontrol sebesar 7,70 kemudian hingga paling rendah yaitu perlakuan sistein 0,75 mM dengan rata-rata 4,03 cm, seperti yang tertera pada gambar 4.5.

Pada percobaan yang dilakukan kalus yang tumbuh tunas juga tumbuh akar walaupun terdapat satu yang tidak berakar. Namun jumlah akar tidak sebanyak tunas yang tumbuh, akar yang tumbuh tidak sebanding dengan tunas yang ada dan setelah dilakukn analisis varian perlakuan asam amino dengan konsentrasi yang berbeda hasilnya menunjukkan tidak berbeda nyata terhadap karakter jumlah akar. Pada Gambar 4. 6 menunjukkan bahwa rata- rata jumlah akar paling tinggi pada perlakuan Arginin 0,5 dengan angka yakni 21,78 dan diikuti oleh beberapa perlakuan yang lebih rendah sistein 0,25 mM; Glisin 0,5 mM; Arginin 0,25mM; Glisin 0,75 mM; Arginin 0,75 mM dengan angka berturut-turut yakni 20,17; 19,56; 19,33; 19,11; 17,67, kemudian 4 perlakuan yang memiliki rentang rata-rata jumlah akar cukup banyak yakni perlakuan paling rendah sistein 0,75 mM dan Glisin 0,25 mM dengan angka sma yakni 7,00 dan diatasnya kontrol dan sistein 0,5 mM dengan angka yakni 10,83 dan 9,42.



Gambar 4. 6 Rata –Rata Jumlah Akar Tebu Yang Terbentuk Akibat Pemberian Beberapa Macam Asam Amino Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan tidak semua tunas yang tumbuh memiliki parameter yang sama, ada yang tumbuh tunas dan akar ada pula yang hanya tumbuh tunas saja. Seperti yang telah di jelaskan juga sebelumnya, tidak semua kalus yang membentuk tunas hidup dan berkembang dan hanya sedikit yang mengalami gangguan. Pada Tabel 4.3 menunjukkan tunas yang terbentuk rata – rata tumbuh tunas dan akar, hanya satu yang tumbuh tunas saja yaitu terdapat pada perlakuan sistein dengan konsentrasi 0,75 mM ulangan 3.

Tabel 4. 3 Perkembangan Tunas Tebu

No	Perlakuan (mM)	Ulangan 1				Ulangan 2				Ulangan 3			
		Tanaman Ke-				Tanaman Ke-				Tanaman Ke-			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Kontrol	-	-	**	**	-	**	**	-	-	**	**	**
2	Glisin 0,25	-	**	**	**	-	-	-	-	**	**	-	**
3	Glisin 0,5	-	**	**	**	-	**	**	**	-	**	**	**
4	Glisin 0,75	**	**	-	**	-	**	**	-	-	**	**	-
5	Sistein 0,25	**	**	-	-	**	-	**	**	**	-	**	**
6	Sistein 0,5	-	-	-	-	**	**	**	**	-	-	**	-
7	Sistein 0,75	**	-	**	-	-	**	**	-	-	-	*	**
8	Arginin 0,25	-	-	**	-	-	**	**	-	-	**	-	**
9	Arginin 0,5	**	-	-	**	-	-	-	**	**	**	-	**
10	Arginin 0,75	-	-	**	**	**	-	**	-	-	-	**	**

Keterangan : \* = Tunas saja

\*\* = Tunas + akar

- = Mati

Berdasarkan pengamatan secara visual terhadap warna tunas yang dilakukan pada akhir pengamatan, semua tunas memiliki karakter warna yang sama yaitu GY (green yellow). Dari karakter tersebut tidak semua warna tunas sama namun berbeda tingkat dan nilai juga chroma. Tingkatan tersebut mulai dari 2,5 GY, 5 GY sampai 7,5 GY, dimana 2,5 GY cenderung hijau kekuningan sedangkan 7,5 GY hijau kekuningan yang lebih ke hijauan. Karakter warna tunas tersebut dapat dilihat lebih jelas pada tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Warna Tunas Tebu Berdasarkan Munsell Color Chart

No	Perlakuan	Ulangan 1				Ulangan 2				Ulangan 3			
		Tanaman Ke-				Tanaman Ke-				Tanaman Ke-			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Kontrol	-	-	IIIa	IIa, IIIb	-	IIIa	Ia	-	-	IIc	IIc	IIc
2	Glysin 0,25 mM	-	Ii, If	Ih	If	-	-	-	-	Id, Ig	Id, Ig	-	Id, Ig
3	Glysin 0,5 mM	-	III d, Ii	III d	III d, IIc	-	I c, Ii	Ii	Ic, Ii	-	Ii, Ig	Ie, Ii	Ie
4	Glysin 0,75 mM	I i, I f	Ie	-	Ii, If	-	Ic	Ic	-	-	If, Ic	If, Ii	-
5	Cystein 0,25 mM	II g	IIg	-	-	II i, Ib	-	II i	II i	II f	-	II f	III h
6	Cystein 0,5 mM	-	-	-	-	II d	II d	II d	II d	-	-	III c	-
7	Cystein 0,75 mM	I e	-	II b	-	-	Ie	Ie	-	-	-	II a	II a
8	Arginin 0,25 mM	-	-	III a	-	-	II e, II a	II e, II a	-	-	III b	-	III b
9	Arginin 0,5 mM	II h	-	-	II g	-	-	-	II i	II c, II b	II j	-	II j, II c
10	Arginin 0,75 mM	-	-	III b	III h	I i, I c	-	Ii, Ig			-	II a, II i	III h

Keterangan Tabel 4. 4 Warna Tunas Tebu Berdasarkan Munsell Color Chart

<b>I (2,5 GY)</b>	<b>II (5 GY)</b>	<b>III (7,5 GY)</b>
2,5 GY 8/6 : a 	5 GY 7/6 : a 	7,5 GY 5/6 :a 
2,5 GY 8/4 : b 	5 GY 6/10 :b 	7,5 GY 5/4 : b 
2,5 GY 7/10 : c 	5 GY 6/6 : c 	7,5 GY 4/6 : c 
2,5 GY 7/8 : d 	5 GY 6/4 : d 	7,5 GY 4/2 : d 
2,5 GY 6/10 : e 	5 GY 5/10 :e 	
2,5 GY 6/8 : f 	5 GY 5/8 : f 	
2,5 GY 5/8 : g 	5 GY 5/6 : g 	
	5 GY 5/4 : h 	
	5 GY 4/8 : i 	
	5 GY 4/4 : j 	

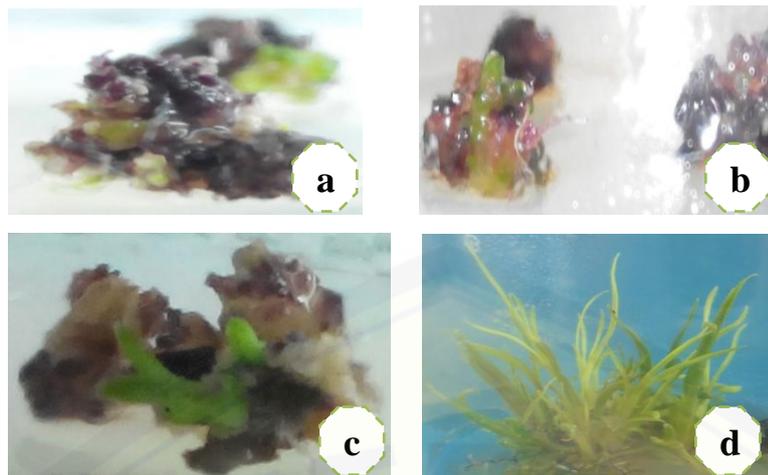
#### 4.2 Pembahasan

Salah satu faktor keberhasilan perkembangbiakan di dalam kultur jaringan ialah komposisi media tanam. Komposisi media tanam terdiri dari beberapa macam unsur sebagai penyedia hara bagi tanaman yang dikulturkan. Asam amino merupakan salah satu unsur yang terdapat pada komposisi media tanam, unsur ini merupakan sumber yang cepat diserap tanaman. Asam amino dalam hal ini juga memiliki peran sebagai aktivator fitohormon dan zat pertumbuhan. Dalam percobaan yang dilakukan menggunakan tiga macam asam amino dengan konsentrasi yang berbeda yakni glisin, sistein, dan arginin dengan konsentrasi berturut-turut 0,25 mM; 0,5 mM; 0,75 mM dan kontrol.

Terbentuknya tunas menunjukkan keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi pada kultur jaringan, semakin cepat tunas muncul maka semakin cepat pula mendapatkan bahan tanam yang digunakan untuk memperbanyak tanaman. Muncul atau terbentuknya tunas dapat dilihat secara visual, yakni dicirikan dengan adanya warna hijau menonjol atau agak meruncing ujungnya (Gambar 4.7 a). Pada percobaan yang telah dilakukan awal muncul tunas berbeda antar kalus, berdasarkan data yang diperoleh awal munculnya tunas paling cepat 3 hari setelah tanam (HST). Dalam hal ini awal muncul tunas yang paling cepat dan banyak serempak yaitu pada perlakuan glisin, terlebih pada perlakuan glisin dengan konsentrasi 0,5 mM, sedangkan paling lama terbentuknya tunas yaitu 43 HST pada perlakuan kontrol ulangan 3 dan arginin 0,75 mM ulangan 1. Menurut Remita, dkk (2013) mengatakan bahwa dalam memacu pertumbuhan tunas pada eksplan diperlukan suatu asam amino. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Neil (2004) bahwa asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki berbagai fungsi pada tumbuhan diantaranya sebagai pendukung, mengangkut substansi lain, pengkoordinasi aktifitas organisme, perespon sel terhadap rangsangan, pergerakan, perlindungan terhadap penyakit, mempercepat reaksi-reaksi kimiawi secara selektif. Glisin sendiri merupakan asam amino yang berperan sebagai metabolit mendasar bagi pembentukan jaringan. Penambahan glisin dalam media sendiri dengan konsentrasi tertentu dapat melengkapi vitamin sebagai sumber bahan organik (Yusnita, 2004).

Pada percobaan kalus yang kemudian terbentuk tunas, awal kemunculan tunas biasanya diawali dengan keadaan kalus yang bertambah segar setelah beberapa hari kemudian warnanya menjadi keunguan. Setelah mengalami perubahan warna menjadi keunguan kemudian barulah muncul tunas, namun ada pula dari warna keunguan menjadi browning hingga akhirnya menjadi kering dan mati. Adanya warna keunguan pada kalus biasanya menjadi tanda bahwa tunas mengalami pelepasan kandungan fenol dari dalam kalus ke permukaan kalus. Namun, dalam hal ini dimungkinkan adanya faktor yang mempengaruhi terjadinya warna keunguan pada kalus yang akan terbentuk tunas karena adanya faktor genetik yang terbawa ketika pada perlakuan media kalus. Tunas yang terbentuk bukan pada warna ungu. Warna keunguan pada kalus dapat ditekan dengan menggunakan penggunaan 2,4-D pada media. Menurut Zamir, *et al.*, (2012) mengatakan bahwa diperkirakan warna ungu pada kalus merupakan kalus yang akan membentuk somatik embriogenik, pada penelitian menunjukkan pengaruh paling rendah dengan menggunakan 2,4-D (1.0 dan 1.5 mg/l), ditunjukkan dengan adanya warna keunguan pada eksplan dari tebu, sedangkan paling baik pada konsentrasi 2,4-D (<4.00 mg/l) ditunjukkan dengan kalus yang non embriogenik dengan (*yellowish color*) atau warna kekuningan.

Pada Gambar 4.7 menunjukkan adanya perkembangan mulai dari awal muncul tunas sampai pada tunas berumur 114 hari (akhir pengamatan). Awal muncul tunas didahului adanya warna keunguan pada kalus sebelum muncul tunas 2 hst (4.7 b), kemudian tunas muncul tidak pada warna keunguan tapi pada bagian lain (gambar 4.7 b). Perkembangan tunas yang terlihat dari tunas yang mulai memanjang (gambar 4.7 c). Tunas yang terbentuk kemudian di kulturkan sampai tunas dapat diamati perkembangannya, kalus yang ditumbuhkan terbentuk tunas saja, terbentuk akar saja atau terbentuk keduanya. Tunas yang siap di bongkar dan diamati ditunjukkan pada gambar 4.7 d.

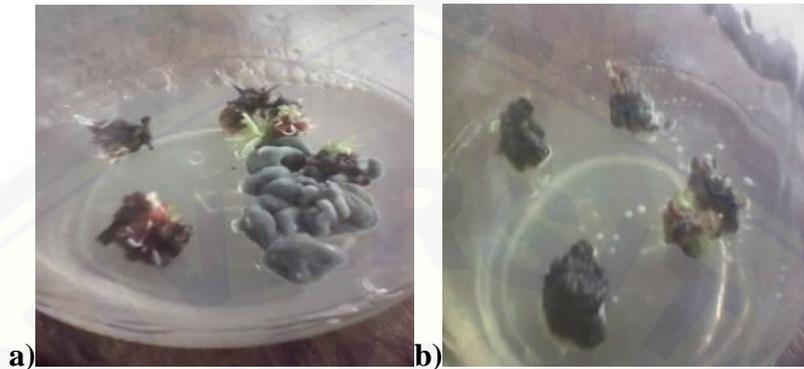


Gambar 4. 7 a) Perubahan Warna Keunguan Pada Kalus Sebelum Muncul Tunas 2 HST; b) Awal Muncul Tunas Pada Perlakuan Penambahan Asam Amino Sistein 0,75 mM Ulangan 1 15 HST; c) Tunas Umur 12 HST Pada Perlakuan Glisin 0,5; d) Tunas Pada Kontrol Umur 114 HST

Tunas yang terbentuk kemudian dihitung persentase tumbuhnya secara keseluruhan pada semua perlakuan. Perhitungan persentase terbentuknya tunas dilakukan dua kali, yakni pada awal muncul tunas dan diakhir pengamatan. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui tunas yang muncul kemudian tumbuh dan berkembang sampai akhir pengamatan. Berdasarkan perhitungan dengan analisis varians (ANOVA) perlakuan dengan penambahan asam amino tidak berbeda nyata terhadap persentase terbentuknya tunas baik yang di awal maupun yang diakhir. Rata-rata persentase tunas yang terbentuk di awal lebih besar di banding dengan pengukuran persentase di akhir. Rata-rata tunas terbentuk di awal tertinggi pada perlakuan Glisin 0,25 mM, Sistein 0,25 mM, dan Sistein 0,5 mM sebesar 91,67 %, sedangkan untuk perlakuan lain memiliki rata-rata semuanya di atas 50 %. Sementara pada persentase tunas terbentuk di akhir paling tinggi sebesar 75 % pada perlakuan glisn 0,5 mM dan sistein 0,25 mM, sedangkan pada perlakuan lain kebanyakan memiliki persentase dibawah 50%. Dari hasil tersebut tentu saja dapat artikan tunas yang terbentuk tidak semuanya dapat tumbuh dan berkembang. Hal tersebut dapat dikarenakan oleh beberapa faktor. Salah satunya dapat dikarenakan adanya kontaminasi, faktor ini merupakan faktor yang tidak mudah dihindari dan seringkali menjadi penyebab kegagalan pada kultur jaringan.

Tanaman dalam kultur yang terkontaminasi akan mengakibatkan pertumbuhan eksplan terhambat dan akhirnya mati. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan baik secara eksternal maupun internal, organisme yang masuk ke dalam media ataupun botol kultur juga alat-alat tanam, lingkungan kerja, ruang kultur serta kecerobohan dalam pelaksanaan. Sehingga pelaksana harus berhati-hati dan perlunya teknik yang benar dalam pelaksanaannya. Pada percobaan yang dilakukan kontaminasi yang ada berupa jamur dan bakteri, ciri dari kontaminasi jamur yang banyak sendiri biasanya berupa hifa berwarna putih dan jika dibiarkan akan berubah menjadi hijau kebiruan, berdasarkan cirinya jenis kontamina tersebut yaitu *Aspergillus*. Menurut Susilowati dan Listyawati (2001) *Aspergillus* memiliki ciri morfologi koloni: koloni berwarna hijau kebiruan dengan area kuning sulfur pada permukaannya; miselium berbentuk benang halus. Ciri mikroskopis: terdapat konidiofor, sel kaki dan kepala berkonidium terdiri dari gelembung, fialid serta kadang-kadang metula dan konidium; fialid dapat dibentuk langsung pada gelembung uniseriat atau metula biseriat; kepala konidium berbentuk kolumner atau radial. *Aspergillus* adalah cendawan yang paling sering mengkontaminasi karena pertumbuhan koloninya sangat cepat (Gambar 4.8a). Sedangkan kontaminasi bakteri biasanya dapat dilihat dengan adanya lendir berwarna kekuningan (Gambar 4.8b). Dalam mengatasi dan menekan adanya kontaminasi akan lebih baik jika dilakukan pencegahan karena kontaminasi yang sudah masuk relatif sulit diilangkan dan akhirnya media sekaligus eksplan harus di buang. Kontaminasi yang sudah terlanjur masuk dalam media kultur dapat diobati atau dibuang dengan menggunakan teknik perendaman, salah satunya dengan perendaman kloroks namun kemungkinan bisa hilang 5% saja. Pada percobaan yang dilakukan perendaman kloroks sebanyak 20% yang dilakukan dalam Laminar Air Flow (LAF). Media yang terkontaminasi di ambil eksplannya saja kemudian di rendam dalam kloroks 20% sampai seluruh bagian terendam hingga kurang lebih 10 menit, kemudian eksplan tersebut diambil dan dicuci digojok menggunakan air steril setelah itu air tersebut dibuang kemudian direndam lagi pada kloroks, pekerjaan tersebut di ulang sebanyak tiga kali baru kemudian eksplan dapat di tanam pada media perlakuan yang baru. Susilowati dan

Listyawati (2001) mengatakan bahwa Agar kondisi kultur selalu optimum, maka dilakukan peremajaan secara berkala. Peremajaan dilakukan dengan menginokulasikan biakan ke medium taoge sukrosa agar segar secara aseptik. Semua kegiatan dilakukan dalam laminar air flow cabinet yang telah disterilisasi dengan penyemprotan alkohol 70% dan penyinaran lampu UV selama 1-2 jam.



Gambar 4. 8 a) Kontaminan *Aspergillus* Pada Media; b) Kontaminan jenis Bakteri

Tunas setelah muncul atau terbentuk kemudian terus ditumbuhkan sampai dapat diamati tunas ataupun akarnya kurang lebih 3 bulan. Jumlah tunas yang dihasilkan merupakan salah satu faktor keberhasilan perbanyakan dalam kultur jaringan. Semakin banyak tunas yang dihasilkan maka untuk keperluan perbanyakan atau multiplikasi semakin banyak dan semakin banyak pula tunas baru yang nantinya dihasilkan. Dari hasil analisis varian (ANOVA) perlakuan penambahan asam amino berbeda nyata terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Berdasarkan data yang diperoleh jumlah tunas paling banyak pada perlakuan asam amino glisin 0,75 mM, sedangkan jumlah paling rendah pada perlakuan sistein 0,75. Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian Asad *et, al.* (2007) mengatakan bahwa asam amino glisin menunjukkan jumlah tunas yang dihasilkan paling banyak pada konsentrasi 0,75 mM, sedangkan perlakuan asam amino lain dan kontrol cenderung lebih sedikit.

Dari tunas yang terbentuk selain dihitung jumlah tunas secara keseluruhan, namun juga dihitung jumlah tunas per kalus. Jumlah tunas per kalus dihitung berdasarkan jumlah tunas yang mampu tumbuh pada setiap kalus. Perhitungan jumlah tunas perkalus berbeda nyata pada perhitungan analisis varian (ANOVA).

Berdasarkan data yang diperoleh antara rata-rata jumlah tunas secara keseluruhan dengan jumlah tunas per kalus memiliki hasil yang berbeda. Pada pengamatan karakter tunas per kalus gambar 4 menunjukkan jumlah tunas per kalus paling tinggi pada perlakuan asam amino arginin 0,75 mM yakni sebesar 64,33, kemudian diikuti di bawahnya oleh perlakuan glisin 0,75 mM sebesar 59,94 sedangkan yang lain memiliki rata-rata cukup jauh di bawah 50. Pada gambar tersebut juga menunjukkan perlakuan arginin penggunaan konsentrasi semakin tinggi konsentrasinya semakin banyak pula jumlah tunas per kalusnya, dan pada data memperlihatkan jumlah tunas per kalus paling banyak pada media yang ditambah dengan arginin konsentrasi 0,75 mM. Hal tersebut dapat diartikan bahwa pada konsentrasi arginin 0,75 yang ditambahkan dalam media kultur jaringan efektif untuk pertumbuhan dan perbanyak tunas. Pendapat tersebut sejalan dengan pendapat Rasulullah, *dkk.*, (2013) yang mengatakan bahwa range konsentrasi arginin dalam medium kultur jaringan efektif untuk pertumbuhan tunas minimal 50 ppm. Hal tersebut didukung dengan pendapat Wiendi, *dkk.*, (1996) dalam penelitiannya mengatakan bahwa arginin adalah asam amino yang banyak dilpaorkan berpengaruh baik dalam menginduksi tunas advebtif dari kalus, dan hasil percobaan tersebut juga berpengaruh baik dalam pembentukan tunas. Tunas yang terbentuk juga lebih hijau dan terlihat lebih segar dibandingkan dengan tanpa arginin.

Pada percobaan ini perhitungan dan pengamatan parameter perkembangan tunas juga dengan menghitung panjang tunas dan jumlah akar yang dilakukan di akhir pengamatan. Eksplan kalus yang ditumbuhkan dalam percobaan berdasarkan hasil yang diperoleh setelah tumbuh tunas kemudian diikuti dengan tumbuhnya akar, hal tersebut dapat dilihat pada tabel 4.3. Semua perlakuan baik yang diberi perlakuan asam amino ataupun kontrol tidak hanya tumbuh tunas tapi juga tumbuh akar, hanya satu perlakuan di salah satu ulangan yang hanya tumbuh tunas saja yaitu pada perlakuan sistein 0,75 mM ulangan 3 tanaman 3 dengan panjang tunas yang hanya 1 cm.

Perhitungan analisis varians (ANOVA) menunjukkan perlakuan penambahan asam amino berbeda nyata terhadap panjang tunas tebu. Berdasarkan

data yang diperoleh rata-rata panjang tunas paling tinggi pada perlakuan sistein 0,25 mM sebesar 19,17 cm yang diikuti di bawahnya oleh perlakuan glisin 0,25 mM dan glisin 0,5 mM dengan rata-rata jumlah yang sama yaitu 16,60 cm. Pada gambar 4.5 rata-rata panjang tunas perlakuan asam amino sistein besarnya konsentrasi yang digunakan berpengaruh terhadap panjang tunas, semakin besar konsentrasi sistein yang digunakan panjang tunas semakin rendah. Hal tersebut ditunjukkan dengan rata-rata panjang tunas mulai dari sistein konsentrasi 0,25; 0,5; dan 0,75 berturut-turut yaitu 19,17 cm, 10,75 cm dan 4,03 cm. Walaupun demikian, rata-rata panjang tunas tidak sejalan dengan jumlah tunas yang di hasilkan. Hal tersebut sama dengan pendapat Handayani (2000) bahwa bila tunas yang dihasilkan lebih banyak, maka akan terjadi persaingan antar tunas dalam memperebutkan makanan sehingga akan mengganggu proses pertumbuhan tunas-tunas tersebut akhirnya pemanjangan tunas berjalan lambat. Namun, dalam hal ini juga dapat di karenakan adanya perimbangan antara zat pengatur tumbuh pada media dengan asam amino yang ditambahkan. Pada penelitian ini ZPT yang digunakan yaitu BAP dan NAA. Hal tersebut seperti yang dikemukakan oleh Yuniastuti, *et al.* (2010), menyatakan bahwa panjang tunas dipengaruhi oleh interaksi antara kedua perlakuan yaitu media tanam dan penambahan zat pengatur tumbuh BAP. Selain itu juga, perkembangan eksplan dan pembentukan organ pada kultur *in vitro* disebabkan oleh kandungan nitrogen pada media dasar. Nitrogen merupakan komponen protein, asam nukleat dan substansi lainnya yang diperlukan untuk pembentukan protoplasma dan berfungsi memperbaiki pertumbuhan vegetatif (Widiastoety dan Kartikaningrum, 2003). *Yang dikutip dalam Yuniastuti, et al. 2010.*

Berkaitan dengan cara memperoleh makanan, tanaman pada umumnya dengan mengambil hara dari media tanam melalui akar. Perhitungan jumlah akar dilakukan pada akhir pengamatan. Berdasarkan hasil analisis varian (ANOVA), perlakuan penambahan asam amino pada media berbeda tidak nyata terhadap jumlah akar. Dari hasil pengamatan yang diperoleh, akar yang terbentuk berwarna putih sampai coklat kehitaman dan terdapat bulu-bulu, ada yang panjang dan ada pula yang pendek, letaknya ada yang berada pada permukaan bawah tunas ada

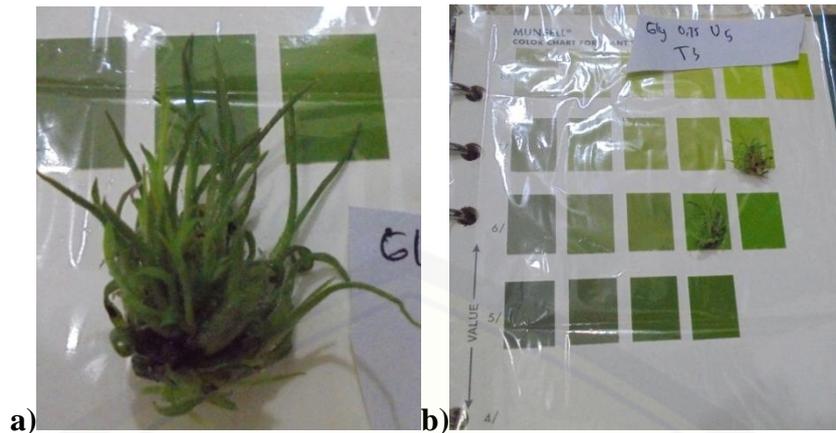
juga yang berada diantara tunas pada eksplan (Gambar 4.9). Menurut Lakitan (2004), akar membentuk bulu-bulu akar untuk memperluas permukaan kontakannya. Bulu akar merupakan penonjolan dari sel-sel epidermis akar. Lapisan sel ini berada pada bagian paling luar dan umumnya berbentuk agak pipih. Panjang bulu akar umumnya sekitar 1.5 mm. Bulu-bulu akar ini terbentuk pada daerah dekat dengan ujung akar, tidak pada semua bagian akar. Berdasarkan pengamatan dan perhitungan yang dilakukan rata-rata jumlah akar yang ada tidak sebanyak jumlah tunas yang dihasilkan, perbandingannya cukup banyak kurang lebih antara 1:10. Hal tersebut seperti pernyataan Wattimena (1987) menyatakan bahwa selang konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk pembesaran sel-sel pada batang menjadi penghambat pada pembentukan sel-sel akar. Pada Gambar 4.6 memperlihatkan rata-rata jumlah akar tertinggi pada perlakuan arginin 0,5 mM yakni 21,78 kemudian diikuti di bawahnya oleh perlakuan sistein 0,25 sebesar 20,17 dan paling rendah pada perlakuan glisin 0,25 mM dan sistein 0,75 mM dengan jumlah rata-rata yang sama yakni 7,00. Perlakuan arginin 0,5 mM berada pada titik optimum, dimana pada konsentrasi tersebut asam amino arginin menghasilkan jumlah akar yang paling banyak dibanding konsentrasi baik 0,25 mM ataupun 0,75 mM.



Gambar 4. 9 Jumlah Akar dilihat dari Bagian Samping

Parameter warna tunas pada percobaan diamati berdasarkan nilai standart Munsell Color CHART. Hasil yang diperoleh berada pada kisaran nilai 2,5 GY; 5 GY dan 7,5 GY, GY bersal dari kata *Green Yellow*(hijau kekuningan). Warna hijau pada tunas menunjukkan adanya kandungan klorofil a dan b di dalamnya. Klorofil merupakan zat hijau daun yang terdapat pada semua tumbuhan hijau yang berfotosintesis. Klorofil sebagai salah satu komponen terpenting dalam

proses fotosintesis yang mengkonversi cahaya matahari menjadi energi kimia. Kandungan klorofil pengaruhnya terhadap proses fotosintesis yaitu dengan adanya klorofil menjadi pertanda penyerapan cahaya yang dilakukan karena klorofil merupakan pigmen penyerapan cahaya. Pada biosintesis klorofil terdapat dua tahapan kunci yang memerlukan kehadiran cahaya. Selanjutnya dikatakan bahwa biosintesis diawali dari suksinil koenzim a asam amino glisin, kemudian melalui rangkaian proses reaksi yang kompleks sehingga akan terbentuk asam amino yang memerlukan cahaya. Reaksi lain yang memerlukan cahaya adalah perubahan protoklorofilida menjadi klorofil a (Fanindi, *et al.*, 2010). Pada percobaan yang dilakukan tidak semua tunas memiliki warna yang sama, perbedaan tersebut juga tidak berdasarkan perlakuan penambahan asam amino yang sama ataupun konsentrasi yang berbeda. Pada semua perlakuan yang termasuk kontrol memiliki kisaran warna yang sama. Pada percobaan juga menunjukkan adanya perbedaan warna dalam satu rumpun tunas yang terdapat dalam satu kalus, perbedaan warna ada yang lebih pucat dan ada pula yang lebih kehijauan (Gambar 4.10). Tunas yang memiliki warna cenderung pucat menunjukkan kadar klorofil berkurang, hal tersebut akan menurunkan laju fotosintesis. Untuk membuat pigmen klorofil tumbuhan memerlukan ion magnesium. Pada percobaan dilakukan secara *in vitro*, dimana selain faktor perlakuan yaitu beberapa macam asam amino dengan beda konsentrasi semuanya dikondisikan sama (homogen). Menurut Kristanto, dkk., (2009) mengatakan bahwa faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan klorofil adalah faktor genetik, cahaya, oksigen, karbohidrat, air, unsur hara seperti Fe, Mg dan N. Dalam hal ini, keterkaitan terhadap perbedaan warna pada satu rumpun dalam satu kalus dimungkinkan karena adanya persaingan mendapatkan makanan antara tunas satu dengan yang lain sehingga proses biosntesis di dalamnya mengalami perbedaan dan akhirnya warna tunas yang dihasilkan juga berbeda.



Gambar 4. 10 Perlakuan Penambahan Asam Amino a) Glisin 0,75 mM U1; b) Glisin 0,75 mM U3

Berdasarkan hasil percobaan yang dilakukan secara keseluruhan terhadap parameter yang diamati antara perlakuan satu dengan yang lain perbedaan yang tidak begitu nyata. Gunawan (1992) dalam Anwar (2007) menyatakan bahwa interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Dapat diartikan komposisi media dengan penambahan asam amino memiliki kecocokan sehingga menghasilkan hasil yang baik pada pertumbuhan tunas. Media merupakan salah satu faktor penting untuk keberhasilan praktik kultur jaringan untuk maksud apapun. Menurut Dodds dan Robert (1982) dalam Suyitno dan Henuhili (2011) mengatakan bahwa kecocokan media akan menentukan keberhasilan eksplan merespon, tumbuh dan berkembang. Menurut Wetherell (1982), komponen pokok medium meliputi makronutrien, mikronutrien, sumber karbon, hormon (ZPT), vitamin, asam amino dan asam-asam organik, air dan agar.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Pemberian asam amino berpengaruh terhadap pembentukan tunas dari kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.). Glisin merupakan asam amino paling baik di banding perlakuan kontrol dan perlakuan asam amino lain di dalam kultur jaringan.
2. Konsentrasi asam amino yang berbeda memberikan hasil yang berbeda, konsentrasi yang paling baik adalah 0,25 mM.

### 5.2 Saran

1. Perlu lebih diperhatikan lagi teknik kultur jaringan dengan benar sehingga dapat mengurangi resiko kontaminasi dan mendapatkan hasil yang maksimal.
2. Adanya perubahan warna kalus menjadi keunguan perlu lebih diperhatikan lagi terhadap kemungkin-kemungkinan yang menjadi penyebabnya. Hal tersebut dapat menjadi pertimbangan untuk percobaan selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B., 2012. *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Penerbit Alfabeta : Jakarta
- Anonim.2011. <http://mediakulturjaringan.blogspot.com/2010/08/kultur-jaringan.html>.
- Ali, A., S. Naz, F.A. Siddiqui, and J. Iqbal. 2008. Rapid Clonal Multiplication Of Sugarcane (*Saccharum Officinarum*) Trough Callogenesis And Organogenesis. *Pak. J. Bot.*, 4:123-138.
- Anwar, N. 2007. Pengaruh Media Multiplikasi Terhadap Pembentukan Akar Pada Tunas In Vitro Nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv. Smooth Cayenne di Media Pengakaran. IPB : Bogor.
- Asad, S., Muhammad, A., Shahid, M., and Yusuf, Z .2009.Effect Of Various Amino Acids On Shoot Regeneration Of Sugarcane (*Sacchrum officinarum* L.). *African Journal of Biotechnology*,8:1214-1218.
- Asharo, R. K., Ermavitalini, D, dan Nurmalasari. 2013. Pengaruh Media MS dengan Penambahan Glutamin 100 ppm Terhadap Respon Pertumbuhan dan Perkembangan Kultur Tunas Aksilar Tebu (*Saccharum officinarum*) varietas NXI 1-3, HW-1 dan THA secara *In Vitro*. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 2:2337-3520.
- Asharo R K., Ermavitalini D., dan Nurmalasari. 2013. Pengaruh Media MS Dengan Penambahan Glutamin 100 ppm Terhadap Respon Pertumbuhan dan Perkembangan Kultur Tunas Aksilar Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3, HW-1 Dan THA Secara *In Vitro*. *Agrotyphyt* :1-6.
- Behera, K.K. and S. Sahoo. 2009. Rapid In Vitro Micro Propagation Of Sugarcane (*Saccharum Officinarum* L. Cv- Nayana) Through Callus Culturee. *Nature Science*, 7:1- 10.
- Neil, C. 2004. *Biologi edisi V jilid 2*. Erlangga: Jakarta.
- Dachliani, D M. 2006. *Permintaan Impor Gula Indonesia Tahun 1980 – 2003*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- El-Shiaty, O. H. S. F. El-Sharabasy, and A. H. Abd El-Kareim. 2004. Effect Of Some Amino Acids And Biotin On Callus And Proliferation Of Date Palm (*Phoenix Dactylifera* L.) Sewy Cultivar, Arab.*J. Biotech.*, 7: 265-272.

- Fanindi, A., Prawiradiputra, B.R. Dan Abdullah, L. 2010. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Produksi Hijauan Dan Benih Kalopo(*Calopogonium Mucunoides*). *Jitv*, 15: 205-214.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Univ. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 165 hal.
- Handayani, T. 2000. Perbanyakkan Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes spp.*) dengan Stek Batang. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional Kebun raya Bogor: Bogor.
- Havranek, P. 1972. Virus-free clones of garlic obtained via meristem cultures. *Ochr. Roslin*, 8 :291 - 198.
- 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.*, 5:659-661.
- Khan, I.A. and Abdullah, K. 2006. Plant Regeneration Via Organogenesis Or Somatic Embriogenesis In Sugarcane: Histological Studies. *Pak. J. Bot.* 38:631-636.
- Kliegmen, Bechman, dan Arvin, N. 1999. *Ilmu Kesehatan Anak Volume 1 E/1*. Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Kristanto, B A., Kurniantono, R., Dan Widjajanto, D W. 2009. Karakteristik Fotosintesis Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum*) Dengan Aplikasi Pupuk Organik Guano. *Protan*, 3: 310-319.
- Lakitan, B. 2004. Dasar - Dasar Fisiologi Tumbuhan. Cetakan kelima. PT Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Mayang R B., Hapsoro D., dan Yusnita. 2011. Regenerasi *In Vitro* Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.): Induksi Dan Proliferasi Kalus, Serta Induksi Tunas. *Jurnal Agrotropika* 16: 52-56.
- Miswar, Sugiharto B., Soedarsono J., dan Moeljapawiro S. 2007. Transformasi Gen Sucrose Phosphate Synthase (*Sosps1*) Menggunakan *Agrobacterium Tumefaciens* Untuk Meningkatkan Sintesis Sukrosa Pada Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.). *Berk. Penel. Hayati*, 12: 137-143.
- Ningrum, M K., Sumarni, T., dan Sudiarso. 2014. Pengaruh Naungan Pada Teknik Pembibitan Bud Chip Tiga Varietas Tebu (*Saccharum Officinarum* L.). *Produksi Tanaman*, 2 : 260-267.

- P3GI (Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia). 2004. *Deskripsi Tebu Varietas BL (Bululawang)*. [www.sugarresearch.org](http://www.sugarresearch.org)
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin Agrobio*, 5: 51-59.
- Purves, W. K. 1978. Bound Auxins, What Is New. *Plant Physiology*, 9: 37-40.
- Rasullah F F F., Nurhidayati, T. dan Nurmalasari. 2013. Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 secara in viro pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin. *Sains Dan Seni Pomits*, 2: 2337-3520.
- Remita Y., Nurhidayati T., dan Nurmalasari. 2013. Pengaruh Medium MS dengan Penambahan Arginin 100 ppm Terhadap Pertumbuhan Tunas Apikal Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI. *Sains Dan Seni Pomits*, 2: 2337-3520.
- Ritonga, A W., 2004. *Pembuatan media kultur jaringan tanaman*. Institut Teknologi Bogor: Bogor.
- Rosmarkam, A., dan Yuwono, N W. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Kanisius: Yogyakarta.
- Sepdian, L A. 2009. Media kultur jaringan. <http://KulturJaringanTanaman.MediaKulturJaringan.html>.
- Sugiyanto, C. 2007. Permintaan Gula Di Indonesia. *Ekonomi Pembangunan*, 8 : 113 – 127.
- Sukmadjaja, D. dan Mulyana, A. 2011. Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu(*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *AgroBiogen*, 7:106-118.
- Susilowati, A., dan Shanti, L. 2001. Keanekaragaman Jenis Mikroorganisme Sumber Kontaminasi Kultur In Vitro di Sub-Lab. Biologi Labiratorium MIPA Pusat UNS. *Biodiversitas*, 2: 110-114.
- Wiendi, N M A., Wattimena, G A. dan Enny P. 1996. Perbanyak In Vitro Tanaman Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Varietas Lumbu Putih Melalui Induksi Tunas Adventif. *Buletin Agronomi*, 24: 15-20.
- Winarto, B. 2013. Pengaruh Medium Dasar Dan Amonium Nitrat Terhadap Pembentukan, Regenerasi Kalus, dan Penggandaan Tunas Hasil Kultur Anther *Anthurium*. *Hortikultura*, 23: 9-20.

- Yuniastuti, E., Praswanto dan Hermaningsih, I. 2010. Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (*Anthurium adreanum Linden*) Pada Beberapa Media Dasar Secara *In Vitro*. *Cakra Tani*, 1: 1-8.
- Yunus, A. 2000. Pengaruh Ekstrak Fusarium Moniliforme Terhadap Pertumbuhan Dan Resistensi Tanaman Tebu Terhadap Penyakit Pokahbung. *Agrosains*, 2: 1-9.
- Yusnita. 2004. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Yusnita, 2011. *Kultur jaringan*. Agromedia Putaka : Jakarta.
- Yuwono, T. 2000. *Biologi Molekuler*. Erlangga: Jakarta.
- Zamir, R., Shahid, A K., Syed, TT S., Muhammad, S K., Kafeel, A., Shahenshah and Nisar, A. 2012. Efficient In Vitro Regeneration Of Sugarcane (*Saccharum Officinarum L.*) From Bud Explants. *Biotechnol and Biotechnol. EQ*, : 3094 – 3100.
- Zesari, M., Sri, R., Yusnita, dan Dwi, H. 2010. Respon Pertumbuhan Tunas Dari *Protocorm Like Bodies* Menjadi Planlet Anggrek *Dendrium* Hibrida *In Vitro* Terhadap Dua Jenis Media Dan Pemberian Tripton. *Agrotropika*, 15: 23-27.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Tabel 1. Komposisi Media Induksi Kalus Dan Induksi Tunas

No	Stok	Stok Media			
		Kalus	Jumlah	Tunas	Jumlah
1	Vit.MS	Niacin/ Nicotia sainel	0,05 g/l	Gambort	4,43 g/l
		Pyrodoksin HCl	0,05 g/l		
		Thiamin HCl	0,01 g/l		
		Glycine HCl	0,02 g/l		
2	Air kelapa		10 ml/l		10 ml/l
3	Sukrosa		30 g/l		30 g/l
4	2,4-D		3 ppm/l		-
5	Agar		8 g/l		6 g/l
6	ZPT			BAP	1 ppm/l
				NAA	0,5 ppm /l
7	Asam Amino			Glisin	0,25 mM
					0,5 mM
					0,75 mM
				Sistein	0,25 mM
					0,5 mM
					0,75 mM
				Arginin	0,25 mM
					0,5 mM
					0,75 mM

**Lampiran 2.**

Hasil Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Duncan Multiple Range Test 5%

Tabel 2.a Jumlah Tunas

Perlakuan	Jumlah	Rata2	Sd	se	Perlakuan	Rata-rata
Kontrol	130,00	43,33	28,18	16,27	Kontrol	43,33
Gly 0,25	79,00	39,50	22,94	13,25	Gly 0,25	39,50
Gly 0,5	312,00	104,00	33,05	19,08	Gly 0,5	104,00
Gly 0,75	436,00	145,33	98,35	56,78	Gly 0,75	145,33
Cys 0,25	290,00	96,67	42,72	24,67	Cys 0,25	96,67
Cys 0,5	77,00	38,50	35,36	20,42	Cys 0,5	38,50
Cys 0,75	101,00	33,67	98,35	56,78	Cys 0,75	33,67
Arg 0,25	191,00	63,67	32,32	18,66	Arg 0,25	63,67
Arg 0,5	237,00	79,00	17,44	10,07	Arg 0,5	79,00
Arg 0,75	386,00	128,67	68,82	39,73	Arg 0,75	128,67
Total	2239,00	772,33				
Rata-rata	223,90	77,23				

FK : 167104,03

Tabel 2.b Anova Jumlah Tunas

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9,00	50381,63	5597,96	2,42*	2,39	3,46
Error (Galat)	20,00	46237,33	2311,87			
<b>TOTAL</b>	29,00	96618,97				

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Tabel 2.c Uji Duncan 5% Jumlah Tunas

Perlakuan	Rata-rata	Notasi UJD 5%	Nilai UJD 5%	SSR (5%;dbE;p)	Jarak p
Gly 0,75	145,33	a			
Arg 0,75	128,67	ab	37,33	2,95	2
Gly 0,5	104,00	bc	39,23	3,10	3
Cys 0,25	96,67	bc	40,24	3,18	4
Arg 0,5	79,00	cd	41,12	3,25	5
Arg 0,25	63,67	cde	41,76	3,30	6
Kontrol	43,33	de	42,26	3,34	7
Gly 0,25	39,50	de	42,52	3,36	8
Cys 0,5	38,50	de	42,77	3,38	9
Cys 0,75	33,67	e	43,02	3,40	10

Tabel 3.a Jumlah Tunas Per Kalus

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata2
Kontrol	17,00	10,50	25,00	52,50	17,50
Gly 0,25	14,00	0,00	12,33	26,33	8,78
Gly 0,5	42,00	22,00	40,00	104,00	34,67
Gly 0,75	76,33	18,50	85,00	179,83	59,94
Cys 0,25	36,00	36,00	48,67	120,67	40,22
Cys 0,5	0,00	16,50	11,00	27,50	9,17
Cys 0,75	7,50	41,50	1,50	50,50	16,83
Arg 0,25	64,00	15,50	48,00	127,50	42,50
Arg 0,5	35,50	67,00	33,00	135,50	45,17
Arg 0,75	42,50	104,00	46,50	193,00	64,33
Total	334,83	331,50	351,00	1017,33	
Rata-rata	33,48	33,15	35,10	101,73	

FK : 34498,90

Tabel 3.b Anova Tunas Perkalus

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9	10947,15	1216,35	2,84*	2,39	3,46
Error (Galat)	20	8565,78	428,29			
<b>TOTAL</b>	29	19512,93				
CV = ( $\sqrt{KT \text{ Error} / \text{Rata-rata}}$ )*100%=			20,34			

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Tabel 3.c Uji Duncan 5% Jumlah Tunas Per Kalus

Perlakuan	Rata-rata	Notasi UJD 5%	Nilai UJD 5%	SSR (5%;dbE;p)	Jarak p
Arg 0,75	64,33	a			
Gly 0,75	56,11	ab	35,25	2,95	2
Arg 0,5	45,17	abc	37,04	3,10	3
Arg 0,25	42,50	abc	38,00	3,18	4
Cys 0,25	40,22	abc	38,83	3,25	5
Gly 0,5	34,67	abc	39,43	3,30	6
Kontrol	17,50	bc	39,91	3,34	7
Cys 0,75	16,83	bc	40,15	3,36	8
Cys 0,5	9,17	c	40,39	3,38	9
Gly 0,25	8,78	c	40,62	3,40	10

Tabel 4. a Prosentase Tunas Terbentuk (Awal)

Perlakuan	Jumlah	Rata2	Sd	se	Perlakuan	Rata-rata
Kontrol	250,00	83,33	28,87	16,67	Kontrol	83,33
Gly 0,25	275,00	91,67	14,43	8,33	Gli 0,25	91,67
Gly 0,5	250,00	83,33	14,43	8,33	Gli 0,5	83,33
Gly 0,75	175,00	58,33	14,43	8,33	Gli 0,75	58,33
Cys 0,25	275,00	91,67	14,43	8,33	Sis 0,25	91,67
Cys 0,5	275,00	91,67	14,43	8,33	Sis 0,5	91,67
Cys 0,75	250,00	83,33	14,43	8,33	Sis 0,75	83,33
Arg 0,25	175,00	58,33	92,42	53,36	Arg 0,25	58,33
Arg 0,5	250,00	83,33	14,43	8,33	Arg 0,5	83,33
Arg 0,75	225,00	75,00	25,00	14,43	Arg 0,75	75,00
Total	2400,00	800,00				
Rata-rata	240,00	80,00				

FK : 192000

Tabel 4. b Anova Persentase Tunas Terbentuk (Awal)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9,00	4250,00	472,22	1,08 <sup>ns</sup>	2,39	3,46
Error (Galat)	20,00	8750,00	437,50			
<b>TOTAL</b>	29,00	13000,00				
CV =	$(\sqrt{\text{KT Error/Rata-rata}}) * 100\% =$		8,72			

Keterangan : ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 5.a Persentase Tunas Terbentuk (Akhir)

Perlakuan	Jumlah	Rata2	Sd	se	Perlakuan	Rata-rata
Kontrol	175,00	58,33	14,43	8,33	Kontrol	58,33
Gly 0,25	150,00	50,00	43,30	25,00	Gli 0,25	50,00
Gly 0,5	225,00	75,00	0,00	0,00	Gli 0,5	75,00
Gly 0,75	175,00	58,33	14,43	8,33	Gli 0,75	58,33
Cys 0,25	225,00	75,00	0,00	0,00	Sis 0,25	75,00
Cys 0,5	125,00	62,50	52,04	30,05	Sis 0,5	62,50
Cys 0,75	125,00	41,67	14,43	8,33	Sis 0,75	41,67
Arg 0,25	125,00	41,67	61,24	35,36	Arg 0,25	41,67
Arg 0,5	125,00	41,67	14,43	8,33	Arg 0,5	41,67
Arg 0,75	150,00	50,00	0,00	0,00	Arg 0,75	50,00
Total	1600,00	554,17				
Rata-rata	160,00	55,42				

FK : 853333,33

Tabel 5.b Anova Tunas Terbentuk (Akhir)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9,00	4666,67	518,52	0,92 <sup>ns</sup>	2,39	3,46
Error (Galat)	20,00	11250,00	562,50			
<b>TOTAL</b>	29,00	15916,67				
CV =	$(\sqrt{\text{KT Error/Rata-rata}}) * 100\% =$		14,82			

Keterangan : ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 6.a Jumlah Akar

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata2
Kontrol	17,50	6,00	9,00	32,50	10,83
Gly 0,25	12,33	-	8,67	21,00	10,50
Gly 0,5	17,33	20,33	21,00	58,67	19,56
Gly 0,75	23,33	7,00	27,00	57,33	19,11
Cys 0,25	25,50	13,00	22,00	60,50	20,17
Cys 0,5	-	5,25	23,00	28,25	14,13
Cys 0,75	3,50	13,50	4,00	21,00	7,00
Arg 0,25	38,50	16,50	3,00	58,00	19,33
Arg 0,5	27,00	17,00	21,33	65,33	21,78
Arg 0,75	3,00	30,00	20,00	53,00	17,67
Total	168,00	128,58	159,00	455,58	
Rata-Rata	18,67	14,29	15,90	45,56	

FK : 7412,72

Tabel 6.b Anova Jumlah Akar

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9,00	649,27	72,14	0,09 <sup>ns</sup>	2,39	3,46
Error (Galat)	20,00	15504,48	775,22			
<b>TOTAL</b>	27,00	16153,75				
CV =	( $\sqrt{\text{KT Error/Rata-rata}}$ )*100%=		61,11			

Keterangan : ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 7.a Panjang Tunas

Perlakuan	Jumlah	Rata2	Sd	se	Perlakuan	Rata-rata
Kontrol	23,10	7,70	3,70	2,14	Kontrol	7,70
Gly 0,25	33,20	16,60	9,77	5,64	Gly 0,25	16,60
Gly 0,5	49,80	16,60	2,17	1,25	Gly 0,5	16,60
Gly 0,75	31,10	10,37	3,83	2,21	Gly 0,75	10,37
Cys 0,25	57,50	19,17	2,84	1,64	Cys 0,25	19,17
Cys 0,5	21,50	10,75	7,52	4,34	Cys 0,5	10,75
Cys 0,75	12,10	4,03	3,83	2,21	Cys 0,75	4,03
Arg 0,25	25,60	8,53	13,64	7,88	Arg 0,25	8,53
Arg 0,5	32,00	10,67	4,07	2,35	Arg 0,5	10,67
Arg 0,75	32,50	10,83	3,84	2,22	Arg 0,75	10,83
Total	318,40	115,25				
Rata-rata	31,84	11,53				

FK : 3379,29

Tabel 7.a Anova Panjang Tunas

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	9	531,92	59,10	2,49*	2,39	3,46
Error (Galat)	20	474,55	23,73			
<b>TOTAL</b>	29	1006,47				
CV =		( $\sqrt{\text{KT Error/Rata-rata}}$ )*100%=	15,30			

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Tabel 7.c Uji Duncan 5% Panjang Tunas

Perlakuan	Rata-rata	Notasi UJD 5%	Nilai UJD 5%	SSR (5%;dbE;p)	Jarak p
Cys 0,25	19,17	a			
Gly 0,25	16,60	ab	8,30	2,95	2
Gly 0,5	16,60	abc	8,72	3,10	3
Arg 0,75	10,83	abcd	8,94	3,18	4
Cys 0,5	10,75	abcd	9,14	3,25	5
Arg 0,5	10,67	abcd	9,28	3,30	6
Gly 0,75	10,37	abcd	9,39	3,34	7
Arg 0,25	8,53	bcd	9,45	3,36	8
Kontrol	7,70	bcd	9,51	3,38	9
Cys 0,75	4,03	d	9,56	3,40	10

