



**SELEKSI TOLERANSI PLANLET TEBU
(*Saccharum officinarum*) HASIL MUTASI
ETHYL METHANE SULPHONATE
TERHADAP GENANGAN**

SKRIPSI

Oleh:
Pretty Ayuningdiastuti Arif
111510501025

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



**SELEKSI TOLERANSI PLANLET TEBU
(*Saccharum officinarum*) HASIL MUTASI
ETHYL METHANE SULPHONATE
TERHADAP GENANGAN**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

**Pretty Ayuningdiastuti Arif
111510501025**

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

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Ayahanda Muhammad Zaenal Arifin SH dan Ibunda Tri Sudarmi, terima kasih atas semua doa, pengorbanan, cinta, kasih sayang dan nasehat sepanjang masa yang tak akan pernah mungkin terbalaskan dengan apapun, serta kepada kakakku Natty Ayuningdiastuti Arif yang senantiasa memberikan canda tawa, semangat dan motivasi, semoga Allah senantiasa melindungi dan meridhoi kalian.
2. Seluruh keluarga besar serta sahabat-sahabat yang selalu menemani, membantu, memberi nasehat, saling mendoakan, dan saling berjuang dalam suka dan duka.
3. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah berkerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap (QS. Al-Insyirah, 6-8)^{*)}

“innamal a'malu binniyat”

Segala sesuatu diawali dengan niat, niat yang baik

(HR. Bukhari)^{**)}

^{*)}Departemen Agama Republik Indonesia. 2005.

^{**)} *Al Qur'an dan Terjemahan*. Syaamil Cipta Media. Bandung

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Pretty Ayuningdiastuti Arif

NIM : 111510501025

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul **“Seleksi Toleransi Planlet Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi Ethyl Methane Sulphonate Terhadap Genangan”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Oktober 2015
Yang menyatakan

Pretty Ayuningdiastuti Arif
NIM. 111510501025

SKRIPSI

**SELEKSI TOLERANSI PLANLET TEBU
(*Saccharum officinarum*) HASIL MUTASI
ETHYL METHANE SULPHONATE
TERHADAP GENANGAN**

Oleh:

**Pretty Ayuningdiastuti Arif
NIM 111510501025**

Pembimbing:

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si
NIP : 19690721 200012 1 002

Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS
NIP : 19600317 198303 2 001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Seleksi Toleransi Planlet Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi Ethyl Methane Sulphonate Terhadap Genangan**”, telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Kamis, 29 Oktober 2015

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si
NIP. 19690721 200012 1 002

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS
NIP. 19600317 198303 2 001

Dosen Penguji,

Ir. Kacung Hariyono, MS, Ph.D
NIP. 19570707 198403 1 004

Mengesahkan
Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.
NIP. 19590102 198803 1 002

RINGKASAN

Seleksi Toleransi Planlet Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi Ethyl Methane Sulphonate Terhadap Genangan. Pretty Ayuningdiastuti Arif, 111510501025. Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Tebu merupakan tanaman penghasil gula yang banyak dibutuhkan oleh masyarakat. Pemanfaatan lahan tergenang sebagai lahan budidaya tanaman tebu dapat menjadi salah satu upaya untuk meningkatkan jumlah produksi gula. Namun, tanaman tebu adalah tanaman yang tidak untuk ditanam pada lahan – lahan tergenang sehingga diperlukan suatu proses seleksi untuk mendapatkan tebu yang memiliki sifat toleran terhadap genangan. Seleksi *in vitro* merupakan salah satu cara untuk mendapatkan kultivar tanaman tebu yang toleran terhadap cekaman genangan dengan menseleksi varietas yang tahan terhadap cekaman pada tingkat planlet yang sebelumnya pada tingkat kalus telah dilakukan perlakuan mutasi menggunakan EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*).

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember dimulai pada bulan Januari 2015 sampai Juni 2015. Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toleransi planlet enam klon tebu terhadap cekaman genangan. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda duncan (DMRT) taraf 5 %, dengan 2 faktor. Faktor pertama macam Klon (K): K1 = PS 863; K2 = PS 864; K3 = PS 865; K4 = PS 863 hasil mutasi; K5 = PS 864 hasil mutasi; K6 = PS 865 hasil mutasi. Faktor kedua perlakuan genangan (T): T0 = tanpa penggenangan; T1 = perlakuan penggenangan.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa, kombinasi perlakuan yang menggunakan klon tebu PS 865 hasil mutasi dan digenangi (V6T1) memiliki tingkat toleransi paling baik dibandingkan dengan kombinasi perlakuan yang lain. Hal ini dapat dilihat dari parameter – parameter yang diamati seperti jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, tinggi planlet, jumlah daun, warna daun dan presentase

planlet hidup. Kombinasi perlakuan ini memiliki presentase planlet hidup sebanyak 80% dan mampu bertahan hidup setelah 6 minggu proses aklimatisasi.



SUMMARY

The Selection of Tolerance Plantlet Sugarcane (*Saccharum officinarum*) Ethyl Methane Sulphonate Results of Mutation Againsts the Flooding. Pretty Ayuningdiastuti Arif, 111510501025. Agroteknologi Studies Program; Faculty of Agriculture, University of Jember.

Sugarcane is a plant that is needed by people all over the world. The utilization of stagnant land as the cultivation of sugarcane can be the one of the efforts to increase the amount of sugar production. However, sugarcane is a plant that is not to be planted on the stagnants, so we need a selection process to get a cane that has tolerant for flooding. selection in vitro is one way to get sugarcane cultivars tolerant to stress inundation by selecting varieties that are resistant to stress at the level of the previous plantlets at a rate of callus that was performed using a mutation treatment EMS (*Ethyl Methane sulphonate*).

The experiment was conducted at the Laboratory of Plant Tissue Culture Department of Agronomy Faculty of Agriculture, University of Jember began from January 2015 until June 2015. The experiment aims to determine the level of tolerance of six clones of sugarcane plantlets to stress flooding. Experiments completely using completely randomized design (CRD) and continued with Duncan's multiple range test (DMRT) level of 5%, with 2 factors. The first factor kinds of clones (K): K1 = PS 863; K2 = PS 864; K3 = PS 865; K4 = PS 863 mutation results; K5 = PS 864 mutation results; K6 = PS 865 mutation. The second factor treatment puddle (T): T0 = without flooding; T1 = flooding treatment.

The results showed that the combination treatment using sugarcane clones PS 865 mutation results and flooded (V6T1) has the best tolerance level and compared with other treatment combination. It can be seen from the parameters were observed as the number of shoots, number of roots, root length, plantlets height, number of leaves, leaf color, and percentage of plantlets life. This treatment combination has a percentage of 80% plantlets alive and able to survive after 6 weeks of acclimatization process.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sholawat serta salam kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW., Keluarga, Sahabat, serta pengikut beliau hingga akhir zaman sehingga penyusunan skripsi dengan judul “**Seleksi Toleransi Planlet Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi Ethyl Methane Sulphonate Terhadap Genangan**” dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan penelitian yang didanai oleh Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Jawa Timur. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) sebagai sarjana pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Beberapa pihak turut membantu penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Jani Januar. MT. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember,
2. Ir. Hari Purnomo, MSi., Ph.D.,DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember,
3. Ir. Raden Soedradjad, M.T. selaku Ketua Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember,
4. Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, dana penelitian (DIPA-BOPTN) serta masukan dalam penyelesaian skripsi ini,
5. Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS. selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Ir.Kacung Hariyono, MS, Ph.D sebagai dosen penguji skripsi yang telah memberikan bimbingan dan arahan bagi penulis,
6. Dr. Ir. Denna Eriani Munandar,MP selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama masa perkuliahan,
7. Ayahanda Muhammad Zaenal Arifin dan Ibunda Tri Sudarmi serta kakak Natty Ayuningdiastuti Arif yang tidak pernah lelah selalu membimbing, mendukung dan mendo'akan demi kelancaran penulis dalam berkarya, menuntut ilmu dan mewujudkan cita-cita,

8. Bapak Budi Kriswanto selaku Teknisi Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan yang telah membantu penulis melalui kerjasamanya dan berbagi ilmu, serta seluruh dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember.
9. Martonda Surya Abadi, yang telah setia memberikan dukungan dan bantuan dalam penyelesaian skripsi ini,
10. Sahabat-sahabatku Merryzka, Anggi, Meita, Alfi, Aldi, Reza, Deni dan Rozi yang telah memberikan dukungan, semangat, dan bantuan dalam penulisan skripsi ini,
11. Rekan-rekan Laboratorium Kultur Jaringan Zayyan, Vidda, Ayu, Yufika, Andre, Jerry, Putri, Rif'atul, Ulya yang telah memberikan bantuan dan dukungan untuk terselesaikannya skripsi ini,
12. Teman - teman program studi Agroteknologi 2011 khususnya kelas A yang memberikan semangat selama ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, Oktober 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tebu	4
2.2 Pengaruh cekaman genangan terhadap pertumbuhan tanaman	5
2.3 Toleransi terhadap cekaman genangan	7
2.4 Mutasi Tanaman dengan EMS	9
2.4 Perbanyakkan Tanaman Tebu dengan Kultur Jaringan	10
2.5 Hipotesis	13
BAB 3. METODE PERCOBAAN.....	14
3.1 Tempat dan Waktu Percobaan	14
3.2 Bahan dan Alat	14
3.3 Metode Percobaan	14

3.4 Pelaksanaan Percobaan.....	16
3.4.1 Sterilisasi Peralatan	16
3.4.2 Pembuatan Media Kultur Jaringan	17
3.4.3 Sub Kultur Planlet	18
3.4.4 Perlakuan Penggenangan	19
3.4.5 Metode Aklimatisasi	19
3.5 Parameter Pengamatan	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil Umum	23
4.2 Penampilan Beberapa klon Tebu pada Media Tergenang	26
4.2.1 Tinggi Planlet	26
4.2.2 Jumlah Tunas.....	28
4.2.3 Jumlah Daun.....	29
4.2.4 Jumlah Akar	31
4.2.5 Panjang Akar	33
4.2.6 Warna Daun	35
4.2.7 Presentase Planlet hidup.....	36
4.2.8 Jumlah Planlet Hidup Fase Aklimatisasi.....	38
BAB 4. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48

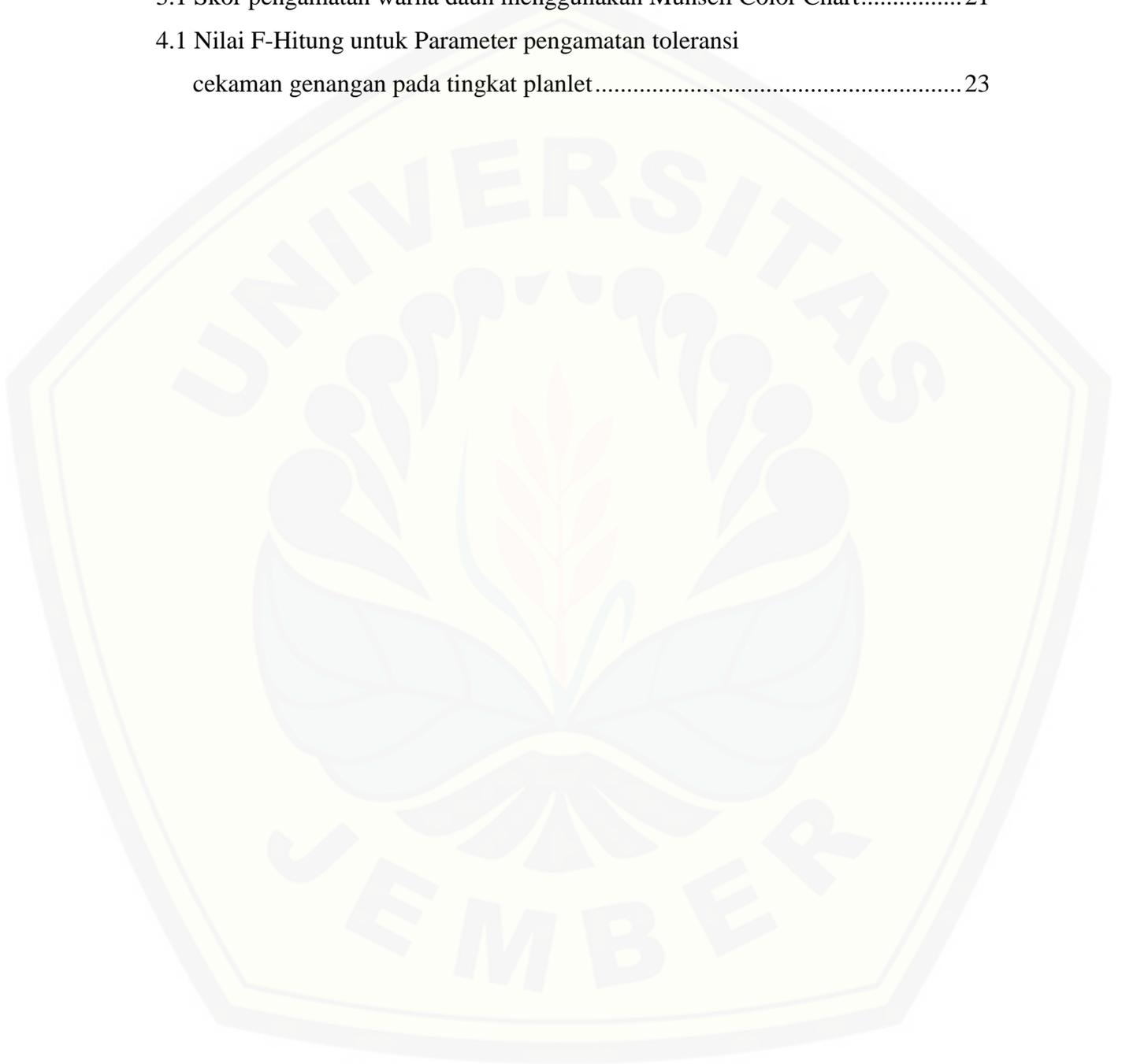
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
3.1	Denah Rancangan Penelitian di dalam laboratorium	15
3.2	Bahan – Bahan Yang dibutuhkan dalam Pembuatan Media	17
3.3	Zat Pengatur Tumbuh yang Digunakan Selama Penelitian.....	18
3.4	Persiapan Melakukan Sub Kultur Tebu Di Dalam LAF	18
3.5	Perlakuan Penggenangan	19
	(a) Planlet dengan Penggenangan MS cair.....	19
	(b) Planlet dengan Penggenangan Air Steril	19
3.6	Metode aklimatisasi	20
	(a) Bahan – Bahan yang dibutuhkan saat Aklimatisasi.....	20
	(b) Proses Membersihkan Planlet dari sisa agar yang Menempel.....	20
	(c) Proses perendaman planlet dengan <i>dithane</i>	20
	(d) Penanaman planlet pada media pasir didalam botol.....	20
4.1	Pengaruh Klon Tebu Terhadap Tinggi Planlet Setelah 6 Minggu Penggenangan	26
4.2	Pengaruh perlakuan terhadap jumlah tunas setelah 6 minggu Penggenangan	28
4.3	Perbandingan jumlah tunas tiap kombinasi perlakuan.....	26
4.4	Pengaruh perlakuan terhadap rata – rata jumlah daun setelah 6 minggu Penggenangan.....	30
4.5	Pengaruh perlakuan terhadap rata – rata jumlah akar	31
4.6	Pengaruh perlakuan terhadap rata – rata panjang akar.....	34
4.7	Rata – rata skor warna daun pada setiap kombinasi perlakuan.....	35
4.8	Pengaruh Kombinasi Perlakuan terhadap presentase planlet hidup 6 minggu setelah penggenangan	37
4.9	Gambar planlet	38
	(a) Planlet hidup	38
	(b) planlet mati	38

(c) planlet terkontaminasi jamur	38
(d) planlet terkontaminasi bakteri	38
4.10 Planlet tebu klon PS 865 hasil mutasi yang tumbuh setelah proses Aklimatisasi awal selama satu bulan	39
4.11 Peletakan Planlet yang telah diaklimatisasi di dalam <i>Growth Chamber</i>	39
4.12 Proses pemindahan hasil aklimatisasi ke dalam polibag	40
(a) Planlet yang siap dipindah ke polibag	40
(b) Campuran media tanam pasir, kompos dan tanah.....	40
(c) Tanaman tebu setelah dikeluarkan dari dalam botol aklimatisasi	40
(d) Tanaman tebu yang telah dipindah ke dalam polibag.	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
3.1	Skor pengamatan warna daun menggunakan Munsell Color Chart.....	21
4.1	Nilai F-Hitung untuk Parameter pengamatan toleransi cekaman genangan pada tingkat planlet.....	23



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1.	Dokumentasi Penelitian	48
2.	Komposisi Media MS	50
3.	Anova Tinggi Planlet	51
4.	Anova Jumlah Akar	53
5.	Anova Panjang Akar	55
6.	Anova Jumlah Daun.....	57
7.	Anova Jumlah Tunas.....	59
8.	Anova Warna Daun.....	61
9.	Anova Presentase Planlet Hidup	63
10.	Uji Normalitas Tinggi Planlet	65
11.	Uji Normalitas Jumlah Tunas	66
12.	Uji Normalitas Jumlah Daun.....	67
13.	Uji Normalitas Panjang Akar	68
14.	Uji Normalitas Jumlah Akar	69
15.	Uji Normalitas Warna Daun	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gula merupakan salah satu bahan pemanis yang banyak digunakan diseluruh negara di dunia. Salah satu bahan pangan ini menempati urutan keempat setelah padi, minyak dan lemak. Kebutuhan total gula tahun 2014 diperkirakan sekitar 5,6 juta ton. Setiap tahunnya kebutuhan gula domestik terus meningkat sehingga memerlukan pengembangan dalam budidaya tanaman tebu, hal ini diperlukan untuk meningkatkan produksi gula. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan ekstensifikasi lahan yaitu memanfaatkan lahan – lahan marginal untuk keperluan budidaya tanaman tebu.

Lahan marginal adalah lahan yang memiliki mutu rendah karena memiliki faktor pembatas jika digunakan untuk usaha budidaya tanaman. Lahan – lahan marginal yang banyak terdapat di Indonesia diantaranya adalah lahan marginal basah yang memiliki permukaan air tanah dangkal yaitu kurang dari 75 cm, contoh lahan ini adalah lahan rawa gambut dan lahan rawa pasang surut serta lahan mineral (non gambut) yang tergenang cukup lama. Lahan – lahan marginal di Indonesia tersebar didaerah Sumatra, Papua dan Kalimantan, dimana pada daerah – daerah tersebut banyak terdapat lahan pasang surut yang kurang cocok untuk digunakan sebagai lahan budidaya tebu. Total luasan lahan pasang surut di Indonesia saat ini adalah sekitar 20,10 juta ha, dan sekitar 20 – 30% dari total luasan itu dapat dimanfaatkan menjadi lahan pertanian baru (Suriadikarta dan Sutriadi, 2007).

Proses budidaya tanaman tebu dilahan tergenang dapat meningkatkan produksi gula apabila klon yang ditanam sesuai dengan keadaan lahan tersebut. Oleh karena itu, sebelum melakukan budidaya tanaman tebu di lahan tergenang perlu ditemukan klon baru yang dapat dilakukan dengan cara introduksi, persilangan dan mutasi. Proses perbanyakan tanaman tebu secara *in vitro* untuk

menghasilkan klon yang toleran terhadap genangan dapat dilakukan dengan menggunakan jaringan meristem tebu sebagai eksplan untuk selanjutnya ditumbuhkan menjadi kalus yang kemudian akan berkembang menjadi planlet. Keragaman genetik pada eksplan ini dapat dibuat dengan memberikan perlakuan penambahan mutagen baik secara fisik maupun kimia, kemudian dilakukan penggenangan pada tingkat kalus. Perlakuan yang sama juga dapat dilakukan pada planlet yang sudah terbentuk untuk mengetahui bagaimana pengaruh perlakuan penggenangan yang diberikan terhadap perkembangan planlet tebu.

Perlakuan mutagen yang diikuti proses seleksi dengan perlakuan genangan pada tingkat kalus diharapkan dapat menyebabkan terjadinya mutasi pada tanaman tersebut sehingga dapat merubah sifat tanaman menjadi toleran terhadap genangan. Planlet yang tumbuh dari kalus yang telah diberikan perlakuan mutasi dan berhasil melakukan multiplikasi memerlukan kondisi tumbuh yang ideal sesuai persyaratan tumbuh tanaman tebu (Ratnawati, 2014). Seleksi pada tahap planlet merupakan suatu upaya untuk mengetahui kemampuan tumbuh planlet tebu untuk tumbuh dan berkembang pada kondisi cekaman genangan, hal ini menjadi salah satu cara untuk mendapatkan planlet tebu yang toleran genangan.

Penggunaan metode seleksi *in vitro* pada perbaikan tanaman telah banyak digunakan untuk meningkatkan sifat ketahanan baik terhadap faktor biotik maupun abiotik. Seleksi secara *in vitro* baik pada tahap kalus maupun planlet dilakukan untuk mendapatkan varian somaklonal yang diinginkan. Hal ini sangat menguntungkan karena proses seleksi yang dilakukan *in vitro* akan sangat efisien karena tempat yang dibutuhkan relatif sedikit dan efektifitas seleksi akan sangat tinggi (Arif, 2014).

Pada percobaan ini planlet tebu yang digunakan adalah planlet yang berasal dari kalus tebu yang telah termutasi dan telah diseleksi ketahanannya terhadap genangan. Diharapkan planlet ini mampu toleran terhadap genangan jika diseleksi lagi pada tingkat planlet sebelum dilakukan proses aklimatisasi. Percobaan ini menggunakan planlet hasil perbanyakan *in vitro* terhadap tiga klon tebu yaitu PS 863, PS 864 dan PS 865.

1.2 Rumusan Masalah

Pemanfaatan lahan marginal seperti lahan pasang surut untuk pengembangan tanaman tebu di Indonesia menjadi suatu pilihan yang tepat dalam upaya pemenuhan kebutuhan gula nasional. Upaya tersebut ternyata belum didukung tersedianya bibit tebu yang dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan yang tergenang. Klon tebu toleran genangan dapat dimunculkan melalui teknik kultur jaringan. Melalui perbanyakan secara kultur jaringan perlu dilakukan seleksi pada tahap planlet untuk mengetahui kemampuan planlet untuk dapat hidup pada kondisi cekaman genangan. Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah terjadi perbedaan tingkat toleransi pada enam klon tebu terhadap cekaman genangan.

1.3 Tujuan

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toleransi planlet enam klon tebu terhadap cekaman genangan.

1.4 Manfaat

1. Percobaan ini diharapkan mampu memberikan informasi kepada petani mengenai tanaman tebu yang toleran terhadap genangan, sehingga lahan – lahan tergenang dapat dimanfaatkan sebaik mungkin.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan ketersediaan klon tebu yang toleran terhadap lingkungan tergenang.
3. Data dan informasi yang didapatkan dalam percobaan ini dapat digunakan sebagai sumber informasi bagi peneliti untuk pengembangan pada percobaan selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tebu

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) termasuk tanaman monokotil yang sebagian besar dibudidayakan di daerah yang beriklim tropis dan subtropis karena kemampuannya dalam menyimpan cadangan makanan dalam bentuk sukrosa atau gula dengan konsentrasi yang cukup tinggi di bagian batang. Saat ini tanaman tebu banyak dibudidayakan secara komersial di Amerika Selatan (Brasil), Amerika Serikat, Australia dan Asia (Australian Government, 2008).

Tebu termasuk tanaman rumput (*Graminae*) yang dibudidayakan untuk bahan baku pembuatan gula. Sampai saat ini tanaman tebu merupakan tanaman utama yang digunakan sebagai bahan utama pembuatan gula. Adapun klasifikasi ilmiah tanaman tebu adalah sebagai berikut (Ditjenbun, 2011):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermathophyta</i>
Sub Divisio	: <i>Angiospermae</i>
Class	: <i>Monocotyledone</i>
Ordo	: <i>Glumiflorae</i>
Famili	: <i>Graminae</i>
Genus	: <i>Saccharum</i>
Species	: <i>Saccharum officinarum L.</i>

Tanaman tebu dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang terletak pada 40° LU dan 38° LS. Tanaman tebu merupakan tipe tanaman yang dalam proses pertumbuhannya membutuhkan banyak air, namun saat tebu berumur 6 sampai 8 bulan dan pada saat memasuki waktu pemasakan yaitu 12 sampai 14 bulan tanaman tebu tidak memerlukan banyak air bahkan cenderung membutuhkan lingkungan yang kering (Yukamgo dan Yuwono, 2007). Apabila dalam proses budidaya tanaman tebu musim kering terjadi sebelum pertumbuhan vegetatif berakhir, maka hal ini akan menyebabkan kematian pada tanaman tebu sebelum mencapai tingkat masak, hal ini juga berlaku sebaliknya, apabila hujan terus – menerus terjadi sehingga air tersedia dalam keadaan berlebih maka pertumbuhan

vegetatif akan terus terjadi sehingga tanaman tebu tidak dapat mencapai kadar gula tertinggi (Soepardiman, 1996).

2.2 Pengaruh Cekaman Genangan Terhadap Pertumbuhan Tanaman

Salah satu cekaman yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman adalah cekaman genangan. Genangan yang terjadi pada lingkungan tempat tumbuhan tumbuh dapat menyebabkan terjadinya hambatan tumbuh yang tinggi terhadap tanaman, hal ini dikarenakan jumlah air yang berlebih akan berpengaruh terhadap proses fotosintesis karena penyerapan oksigen dan karbondioksida akan terhambat. Kondisi lingkungan dengan jumlah air berlebih juga akan berpengaruh terhadap penyediaan bahan – bahan dasar yang dibutuhkan tumbuhan untuk melakukan proses metabolisme, sehingga pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan dapat terhambat pula (Jackson, 2009).

Masalah genangan merupakan masalah serius yang banyak ditemukan di daerah pertanian di dunia (Shimamura *et. al.*, 2003). Budidaya Tanaman tebu di Indonesia biasanya dibudidayakan di lahan sawah setelah musim panen padi berakhir dan dilakukan pergiliran budidaya tanaman yaitu padi. Hal ini yang menyebabkan rendahnya produktivitas tebu di lahan sawah karena kondisi lahan sawah tergenang karena adanya air sisa budidaya tanaman padi serta debit air hujan yang tinggi menyebabkan kondisi lahan sawah tergenangi oleh air.

Salah satu dampak negatif dari kondisi lingkungan yang tergenang adalah terjadinya peristiwa hipoksia. Hipoksia adalah penurunan oksigen dibawah nilai optimal, hal ini merupakan dampak paling umum yang akan muncul apabila tanaman mengalami cekaman genangan yang terjadi ketika akar terendam air namun tajuk tetap berada di atmosfer atau tidak terendam air (Mc Kersie dan Leshem, 1994, Parent, *et.al.*, 2007).

Tumbuhan yang tumbuh pada lingkungan tergenang akan mengalami perubahan dalam proses pertumbuhannya baik secara morfologi maupun struktur akar yang terbentuk pada tanaman tebu. Penggenangan juga dapat berdampak negatif terhadap proses fotosintesis, karena tumbuhan yang tergenang laju fotosintesisnya akan mengalami penurunan yang cukup signifikan (Tetsushi and

Karim, 2007). Menurut Sairam *et al.* (2009), defisiensi oksigen dalam tanah akibat genangan merupakan faktor pembatas yang dapat menghambat pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Kekurangan oksigen dapat merubah metabolisme tanaman dari aerob menjadi anaerob sehingga berpengaruh tidak baik terhadap serapan nutrisi dan air. Akibatnya, tanaman menunjukkan gejala kelayuan walaupun tersedia air yang cukup.

Menurut Jagadisha (2009) parameter pertumbuhan tanaman yang tumbuh dilingkungan tergenang mengalami penurunan, parameter ini terletak pada tinggi tanaman, indeks luas daun, jumlah daun berwarna hijau, dan kandungan klorofil pada semua perlakuan lama penggenangan. Kondisi genangan juga akan berpengaruh terhadap stomata tumbuhan, pada tanaman yang mengalami genangan umlah stomata membuka dan kerapatan lebih tinggi apabila dibandingkan dengan tumbuhan yang tumbuh pada lingkungan normal (Widyasari, *et.al*, 2011). Begum *et.al* (2008) menjelaskan bahwa, lama cekaman penggenangan akan menurunkan persentase daun hijau pada tujuh klon tebu.

Genangan dapat menyebabkan terjadinya kematian akar pada tumbuhan, kematian ini disebabkan oleh kurangnya pasokan oksigen untuk akar. hal ini mengakibatkan serapan hara akan berkurang dan laju tranpirasi tumbuhan juga akan berubah. Selama fungsi akar tidak memadai, penggenangan dapat menyebabkan akar mengalami kebusukan (Pareek, *et.al*, 2010). Kondisi hipoksia pada akar tanaman beradaptasi dengan membentuk aerenkim. Jaringan inilah yang menjadi sebab tanaman tebu bisa tetap hidup dalam keadaan tercekam genangan (Drew,1997). Vodnic (2006) menyatakan bahwa jaringan aerenkim terbentuk pada jaringan meristem apical di akar karena adanya jaringan yang mati akibat kondisi anaerobic sehingga sel menjadi mati atau rusak. Kerusakan sel ini terus menyebar sehingga membentuk jaringan yang dinamakan jaringan aerenkim.

Genangan menurut VanToai *et. al*, (2001) dibagi berdasarkan kondisi pertanaman menjadi dua, yaitu: 1) kondisi jenuh air (*water logging*) di mana hanya akar tanaman yang tergenang air, dan 2) kondisi bagian tanaman sepenuhnya tergenang air (*complete sub mergence*). Dalam percobaan ini digunakan kondisi jenuh air (*water logging*). Dengan memahami karakter-

karakter penting yang dapat digunakan sebagai kriteria seleksi, pola pewarisan karakter tersebut dan sumber gennya diharapkan peluang perakitan dan pengembangan tebu toleran genangan makin terbuka.

2.3 Toleransi Terhadap Cekaman Genangan

Toleransi terhadap genangan merupakan salah satu bentuk adaptasi metabolik anaerobiosis yang dapat memungkinkan sel untuk mempertahankan integritas sehingga tumbuhan dapat bertahan pada kondisi hipoksia dengan meminimalkan kerusakan yang terjadi. Sifat yang diinginkan pada tanaman yang tergenang adalah kemampuan regenerasi secara cepat karena dapat memastikan proses pemulihan dan produksi biomassa untuk produktivitas optimal (Sarkar, *et.al*, 2006)

Tanaman tebu yang mampu tumbuh dilingkungan tergenang atau toleran genangan mungkin berhubungan dengan jaringan aerenkim pada tunas dan akar tanaman tebu yang dapat memungkinkan oksigen untuk berdifusi dari daun ke sel – sel di akar. Klon – klon yang mampu membentuk banyak jaringan aerenkim baik pada akar adventif maupun pada sett root akan semakin tahan terhadap cekaman genangan (Widyasari, *et.al*, 2011). Aerenkim merupakan jaringan pada tumbuhan yang termasuk pada jaringan parenkim yang memiliki rongga besar antar sel yang memiliki fungsi sebagai penyimpan udara. Pada tumbuhan yang toleran genangan, pembentukan aerenkim tidak membutuhkan pengaruh eksternal misalnya perlakuan penggenangan (Hapsari dan Adic, 2010).

Tebu yang toleran terhadap genangan dapat diperoleh melalui pemberian perlakuan mutagen EMS pada sel kalus tebu yang diikuti dengan perlakuan genangan selama 4 hari. Mutasi secara alami terjadinya sangat lambat, mutasi spontan pada sel somatik hanya berkisar 0,2-3 % sehingga induksi mutasi buatan merupakan cara yang tepat untuk meningkatkan variabilitas pada spesies (Maluszy *et. al*, 1995). keragaman tersebut dapat ditingkatkan dengan pemberian mutagen baik fisik maupun kimiawi. Induksi mutasi didalam kultur *in vitro* merupakan metode yang paling efektif terutama pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, untuk tujuan perbaikan tanaman (Ahloowalia *et. al*, 1997).

Perkembangan akar adventif dalam menghadapi lingkungan yang tergenang dapat dianggap sebagai suatu mekanisme toleransi untuk meningkatkan aerasi akar yang memungkinkan tanaman untuk mempertahankan fungsi akar selama terjadi genangan. Pembentukan aerenkim pada akar adventif spesies rumput telah banyak terjadi baik pada lahan basah dan lahan kering. Pembentukan aerenkim pada akar banyak terjadi pada klon – klon yang toleran terhadap genangan. (Gilbert, *et.al*,2007).

Pertumbuhan akar dan perubahan karakteristik akar merupakan salah satu hal yang bersifat dapat diwariskan pada tanaman. Rahman *et. al* (1986) menguji empat genotipe tebu pada pot yang tergenang dan pada pot yang tidak tergenang (kering). Berdasarkan percobaan tersebut, didapatkan hasil bahwa massa akar tanaman yang mengalami genangan selama proses pertumbuhannya lebih rendah apabila dibandingkan dengan massa akar tanaman yang ditanam pada lingkungan normal. Keterlambatan pembentukan jaringan aerenkim juga dapat menurunkan laju fotosintesis sehingga menyebabkan berkurangnya jumlah daun hijau pada beberapa genotipe, sehingga genotipe ini dipilih sebagai genotipe yang tidak toleran terhadap genangan (Begum, *et.al*, 2008). Widyasari, *et.al* (2011) menguji respon 13 klon tebu hasil introduksi asal Australia dan mendapatkan bahwa tebu yang toleran genangan akan memunculkan akar adventif, warna daun sedikit menguning dan terbentuk jaringan aerenkim pada akar. Tebu toleran geangan juga akan menunjukkan jumlah rambut akar yang lebih banyak dibandingkan dengan tebu yang tidak toleran genangan (Mahardhika, 2013).

Kondisi lingkungan yang tergenang dapat menyebabkan terjadinya pemecahan gula secara anaerob yang menghasilkan etanol. Akumulasi etanol yang terus menerus dapat menyebabkan tanaman yang tidak toleran mengalami keracunan dan mati. Genangan tidak berdampak negatif pada proses pembungaan tanaman tebu sampai umur 60 hari, namun setelah melewati batas waktu tersebut cekaman genangan dapat berdampak negatif (Majid, *et.al*, 2001).

Beberapa dampak fisiologis dari cekaman genangan adalah mengurangi tingkat transpirasi, hal ini terjadi karena penutupan stomata, laju fotosintesis

berkurang, tingkat pertumbuhan berkurang selama terjadi cekaman genangan dan laju respirasi organ tanaman yang terendam lebih tinggi dibandingkan dengan laju respirasi pada daun. Perubahan proses metabolisme dari yang semula aerobik menjadi anaerobik sebagai dampak dari kekurangan oksigen merupakan salah satu dampak negatif yang ditimbulkan oleh cekaman genangan (Islam, *et.al*, 2011). Genangan dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu 1) kondisi jenuh air (water logging) dimana pada kondisi ini yang terendam air hanya akar tanaman, dan 2) kondisi dimana seluruh bagian tanaman mulai dari ujung daun hingga akar terendam air (*complete sub mergence*) (VanToai *et. al.*,2001).

Mutasi menggunakan EMS dapat menyebabkan terjadinya mutasi titik atau mutasi yang terjadi pada tingkat gen. Gen berfungsi sebagai pembawa dan penentu suatu sifat atau karakter pada suatu spesies. Mutasi titik tersebut mengarah pada munculnya alel baru dan hal inilah yang menjadi dasar munculnya variasi – variasi baru pada spesies termasuk terjadinya perubahan warna daun (Arif, 2014).

2.4 Mutasi Tanaman dengan EMS

Mutasi dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Mutasi yang dikombinasikan dengan teknik kultur *in vitro* disebut *in vitro* mutagenesis. Secara teknis, kultur *in vitro* dapat menghasilkan variasi somaklonal, variasi ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan mutagen (Harten 1998; Chahal & Gosal, 2006). Pada mutasi *in vitro*, sebuah sel atau agregat sel dapat diberi perlakuan dengan mutagen kimia atau fisik (Chahal dan Gosal, 2006). Terdapat beberapa kelebihan metode induksi mutasi secara *in vitro* dibandingkan metode konvensional (*in vivo*) antara lain 1) mutasi dapat dilakukan pada tingkat sel sehingga peluang untuk terjadinya kimera lebih kecil karena mutan yang dihasilkan berasal dari satu sel, 2) laju mutasi lebih tinggi karena masing-masing sel mengalami kontak langsung dengan mutagen, 3) dapat dilanjutkan dengan seleksi secara *in vitro* dimana ribuan sel yang merupakan calon tanaman dapat diseleksi pada sekala laboratorium sehingga seleksi terhadap mutan menjadi lebih efisien (Chahal dan Gosal, 2006). Selain pada kultur sel, mutasi secara *in vitro* juga dapat dilakukan pada eksplan multiseluler yang berukuran kecil terutama untuk menghindari kimera (Harten, 1998). Induksi mutasi

secara *in vitro* telah dilakukan pada banyak tanaman untuk mendapatkan berbagai sifat yang diinginkan, baik menggunakan mutagen fisik maupun kimia serta dilanjutkan dengan seleksi secara *in vitro* maupun tidak.

Mutagen adalah agen alami atau buatan manusia yang dapat mengubah struktur atau sekuen DNA. Dikenal tiga jenis mutagen yaitu mutagen fisik, kimia dan biologi. Mutagen kimia mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan mutagen lainnya antara lain 1) sebagian besar mutasi yang terjadi adalah mutasi titik, 2) kerusakan kromosom lebih kecil, dan 3) mutasi terjadi dengan laju yang lebih tinggi (meningkatkan laju mutasi 5 – 10 kali lebih tinggi dibandingkan radiasi) (Harten, 1988). Namun demikian mutagen kimia juga mempunyai beberapa kekurangannya di antaranya 1) penetrasi pada jaringan multiseluler seringkali sulit, 2) rendahnya reproducibility dan 3) mutagen kimia perlu penanganan sangat hati-hati karena bersifat karsinogenik (Harten, 1998).

Pada mutagenesis secara *in vitro*, sulitnya penetrasi mutagen kimia pada jaringan multiseluler dapat diatasi dengan menggunakan kultur sel atau eksplan multiseluler yang berukuran kecil. EMS merupakan jenis mutagen kimia yang paling potensial, banyak digunakan dan paling efektif (Medina et. al., 2005) serta telah digunakan sebagai mutagen pada berbagai jenis organisme mulai dari virus sampai mamalia (Sega, 1984). Menurut Arnim (2005), EMS banyak digunakan sebab toksisitasnya tidak terlalu tinggi (moderate toxicity), memiliki efektivitas yang tinggi untuk menginduksi banyak mutasi (multiple mutations) per genom dan biasanya mutasinya berupa substitusi satu basa. EMS merupakan senyawa pengalkil. Gugus alkil bereaksi dengan DNA dengan cara mengalkilasi basa purin dan pirimidin. Alkilasi atau etilasi dapat terjadi pada atom O-6 dari basa guanin sehingga berakibat guanin yang seharusnya berpasangan dengan sitosin menjadi berpasangan dengan timin mengakibatkan perubahan kode genetik pada generasi sel berikutnya dari GC menjadi AT (Sega, 1984).

2.5 Perbanyak Tanaman Tebu dengan Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan teknik dimana setiap bagian tanaman dapat dikultur pada media nutrisi dalam kondisi steril dengan tujuan mendapatkan

tanaman baru. Kultur jaringan juga disebut sebagai budidaya, perbanyakan klonal, propagasi in vitro, atau propagasi cepat. Setiap tanaman yang dihasilkan dengan cara ini adalah bagian dari perkembangan sel somatik dari suatu spesies. Melalui perbanyakan secara in vitro ini dihasilkan suatu kelompok tanaman yang disebut klon. Perbanyakan klonal adalah proses reproduksi aseksual dengan menggunakan materi genetik tanaman sebagai eksplan untuk menghasilkan tanaman yang seragam (Thiart, 2003). Teknik ini awalnya hanya digunakan sebagai suatu usaha untuk menghasilkan tanaman secara cepat namun, saat ini teknik kultur jaringan juga dimanfaatkan untuk menghasilkan tanaman dengan sifat – sifat tertentu. Metode ini banyak digunakan untuk menghasilkan variasi genetik atau variasi somaklonal (Farid, 2003).

Tanaman yang beregenerasi melalui kultur kalus kini telah diperoleh dalam jumlah besar untuk spesies tebu. Produksi kalus tergantung pada sumber eksplan dan genotipe tanaman yang akan diperbanyak secara kultur jaringan, selain itu media yang digunakan juga berbeda, antara untuk induksi kalus dengan (Ali, *et.al*, 2008).

Samad *et.al* (2001) mengemukakan bahwa teknik kultur jaringan dapat menjadi suatu upaya untuk menghasilkan tanaman – tanaman mutan. Tanaman – tanaman mutan yang dihasilkan melalui kultur jaringan dapat dibuat dengan memberikan mutagen. Pemberian mutagen pada tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan dapat meningkatkan variasi somaklonal pada tanaman tersebut (Harten 1998; Svetleva and Crino, 2005; Chahal & Gosal, 2006). Pemberian mutagen dibagi menjadi tiga macam yaitu mutagen kimia, mutagen fisik dan mutagen biologi (Chahal and Gosal, 2006). Mutagen kimia merupakan mutagen yang cukup sering digunakan dalam upaya untuk mendapatkan tanaman yang memiliki sifat – sifat tertentu, hal ini dikarenakan mutagen kimia memiliki kelebihan antara lain 1) mutasi yang terjadi pada tanaman adalah mutasi titik, 2) kemungkinan untuk terjadinya kerusakan pada kromosom lebih kecil, 3) mutagen kimia mampu meningkatkan laju mutasi yang terjadi pada tanaman (5 – 10 kali lebih tinggi dibandingkan mutasi yang dibuat dengan radiasi) (Broertjes and Harten, 1988). Kekurangan dari penggunaan mutagen kimia adalah proses

masuknya atau penetrasi pada jaringan multiseluler tanaman sulit, 2) reproducibility rendah, 3) dalam penggunaan mutagen kimia harus hati – hati dan melalui beberapa prosedur, karena mutagen kimia bersifat karsinogenik (*Harten, 1998*).

Salah satu mutagen kimia yang banyak digunakan dan dinilai paling efektif adalah EMS (Ethyl Methane Sulphonate) (*Medina et. al., 2005*). EMS merupakan mutagen kimia yang paling sering dan paling banyak digunakan karena tingkat toksisitasnya tidak terlalu tinggi sehingga dinilai lebih aman untuk digunakan selain itu EMS juga memiliki nilai efektivitas lebih tinggi untuk menginduksi mutasi (*Von Arnim, 2005*). EMS dapat mengakibatkan perubahan kode genetik, hal ini dikarenakan EMS merupakan senyawa pengalkil yang nantinya akan bereaksi dengan DNA dan mengalkilasi basa purin dan pirimidin. Proses alkilasi ini terjadi pada basa guanin sehingga basa guanin yang seharusnya berpasangan dengan sitosin menjadi berpasangan dengan timin. Ems juga dapat menjadi penyebab terjadinya kerusakan pada kromosom, meski mekanisme terjadinya kerusakan sampai saat ini belum diketahui (*Sega, 1984*). Namun, EMS merupakan mutagen kimia yang hanya menghasilkan mutasi titik, sehingga kerusakan yang terjadi pada kromosom hanya sedikit (*Greene et al. 2003*). Oleh karena itu, penggunaan EMS sebagai mutagen kimia untuk menghasilkan tanaman dengan sifat – sifat tertentu sangat menguntungkan, karena EMS dapat mengubah lokus tertentu (*Saba and Mirza, 2002*).

Variasi somaklonal yang dihasilkan melalui kultur kalus dapat memberikan bahan yang berguna untuk pemuliaan tanaman. Aplikasi mutagen dalam kultur jaringan dapat memberikan peran penting dalam memperluas variasi genetik. Beberapa laporan yang tersedia pada respon sel tumbuhan iradiasi dalam kultur jaringan, regenerasi dari kalus pada tanaman tebu menunjukkan berbagai variasi (*Samad, et.al, 2001*).

Para pemulia tanaman tebu telah mengeksplorasi potensi – potensi yang dapat dilakukan untuk mendapatkan sifat – sifat yang diinginkan tanpa menggunakan siklus seksual. Dalam kasus propagasi in vitro, stabilitas genetik merupakan hambatan utama. Variasi somaklonal banyak terlihat pada plantlet

hasil perbanyakan secara *in vitro*, namun variasi somaklonal yang terjadi ini belum mengalami stabilitas genetik, sehingga sampai saat ini masih dilakukan percobaan mengenai stabilitas genetik tanaman hasil perbanyakan secara kultur jaringan (Ijaz, 2012).

2.6 Hipotesis

Hipotesis dari percobaan ini adalah terdapat perbedaan tingkat toleransi planlet enam klon tebu terhadap cekaman genangan, klon PS 865 hasil mutasi memiliki tingkat toleransi paling baik pada cekamana genangan dibandingkan dengan klon hasil mutasi yang lain.

BAB 3. METODE PERCOBAAN

3.1 Tempat dan Waktu

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Percobaan ini dimulai bulan Januari 2015 sampai dengan Juni 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan percobaan yang digunakan adalah planlet tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) klon PS 863, PS 864 dan PS 865 yang belum termutasi dan klon PS 863, PS 864 dan PS 865 yang telah termutasi. Bahan lain yang digunakan untuk media adalah media untuk menumbuhkan tunas (MS + BAP 1 ppm) dan media MS untuk perakaran (MS + kinetin 1 ppm + IBA 1 ppm), alkohol 96% dan 70%, dan spirtus. Alat – alat yang digunakan adalah beaker glass, autoklaf, pipet, laminary air flow (LAF), petridish, pinset, scalpel, plastik wrap, bunsen dan alat pendukung lain.

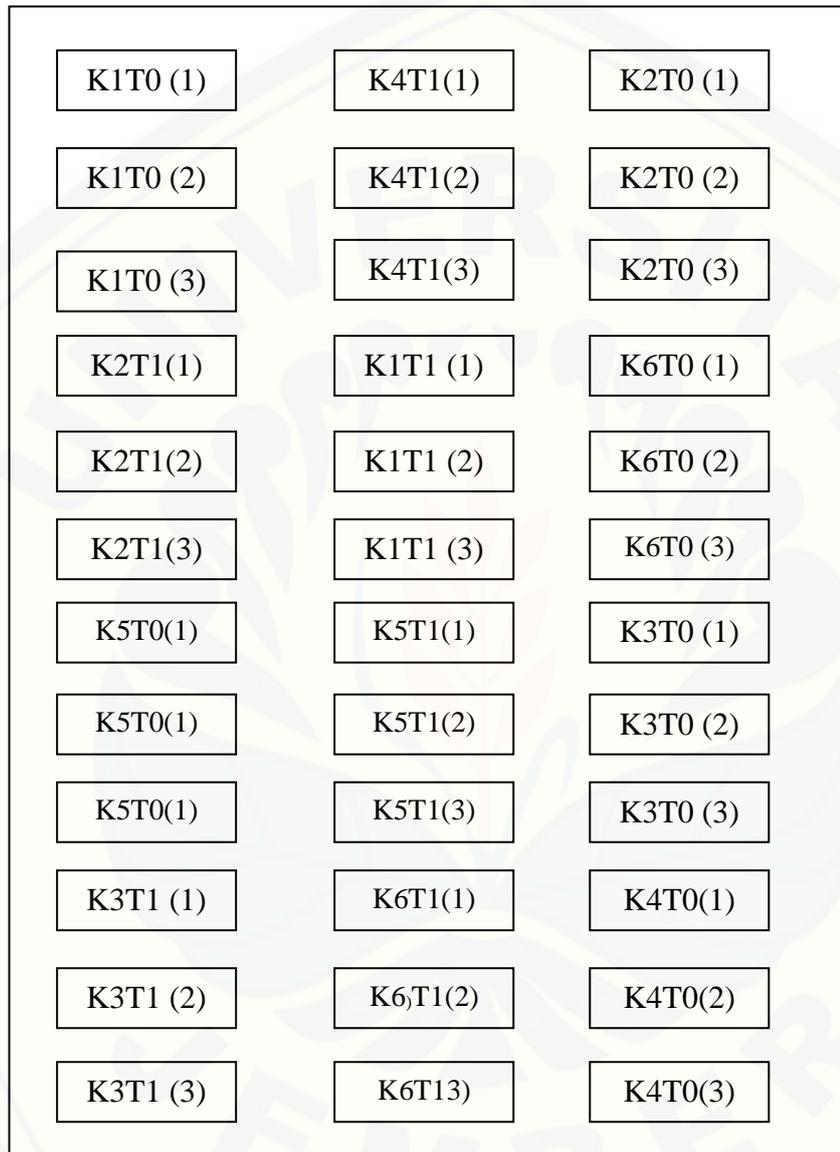
3.3 Metode Percobaan

Percobaan mengenai seleksi ketahanan planlet tebu (*Saccharum officinarum*) hasil mutasi kimia terhadap genangan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah klon yang terdiri dari 6 taraf yaitu:

1. K1 : PS 863
2. K2 : PS 864
3. K3 : PS 865
4. K4 : PS 863 yang telah termutasi
5. K5 : PS 864 yang telah termutasi
6. K6 : PS 865 yang telah termutasi

Faktor kedua adalah genangan yang terdiri dari dua taraf, yaitu digenangi dengan ketinggian 1 cm (T1) dan tidak digenangi (T0). Penggenangan pada planlet dilakukan selama 6 minggu.

Berdasarkan kedua faktor tersebut diperoleh 12 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali dan pada tiap ulangan terdapat 3 planlet tebu, denah peletakan pada laboratorium sesuai dengan Gambar 3.1 dibawah ini:



Gambar 3.1 Denah rancangan percobaan didalam laboratorium

Keterangan gambar:

1. K1 : tebu klon PS 863
2. K2 : tebu klon PS 864
3. K3 : tebu klon PS 865
4. K4 : tebu klon PS 863 hasil mutasi
5. K5 : tebu klon PS 864 hasil mutasi
6. K6 : tebu klon PS 865 hasil mutasi
7. T0 : tidak tergenang
8. T1 : tergenang

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dimana model statistika yang berlaku untuk analisis dari RAL faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + T_j + (VT)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pengaruh klon ke-i, genangan ke-j, ulangan ke-k

μ : Nilai rata-rata populasi

V_i : Pengaruh klon ke-i ($i = 1, 2, 3, 4$)

T_j : Pengaruh genangan ke-j ($j = 1, 2, 3, 4, 5$)

$(VT)_{ij}$: Pengaruh interaksi varietas ke-i, genangan ke-j,

ϵ_{ijk} : Pengaruh galat percobaan varietas ke-i, volume genangan ke-j dan ulangan ke - k

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 5 % dan apabila terjadi perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf kepercayaan 95 persen.

3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Sterilisasi Peralatan

Sterilisasi peralatan dilakukan dengan mencuci bersih botol kultur, pinset, scalpel, petridish kemudian disterilkan didalam autoclave selama 60 menit dengan suhu 120° C dan tekanan 17,5 psi (pound per square inch).

3.4.2 Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan mencampur larutan stok sesuai dengan komposisi media Murashige dan Skoog (MS), kemudian menambahkan gula pasir sebanyak 30 gram dan aquades sebanyak 1 liter pada campuran larutan stok, kemudian dilakukan pengadukan menggunakan magnetic stirrer dan menetapkan pH media 7 dengan menambahkan NaOH 0.1 N atau HCl 0.1 N. Kemudian, memasukkan menambahkan bahan pematat yang berupa agar sebanyak 8 g/l dan dimasak hingga mendidih. Media dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah dicuci bersih dengan volume 25 ml (Gambar 3.2). Proses sterilisasi media menggunakan autoclave dengan tekanan 17,5 psi dan suhu 120°C selama 60 menit. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah kinetin, IBA, dan BAP (Gambar 3.3). Adapun jenis media yang disiapkan 2 macam yaitu:

1. Media induksi tunas dengan komposisi media MS + BAP 1 ppm
2. Media induksi akar dengan komposisi media MS + kinetin 1 ppm + IBA 1 ppm



Gambar 3.2 Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan media (stok MS, ZPT dan agar)



Gambar 3.3 Zat pengatur tumbuh yang digunakan selama percobaan (Kinetin, IBA dan BAP)

3.4.3 Sub Kultur Planlet

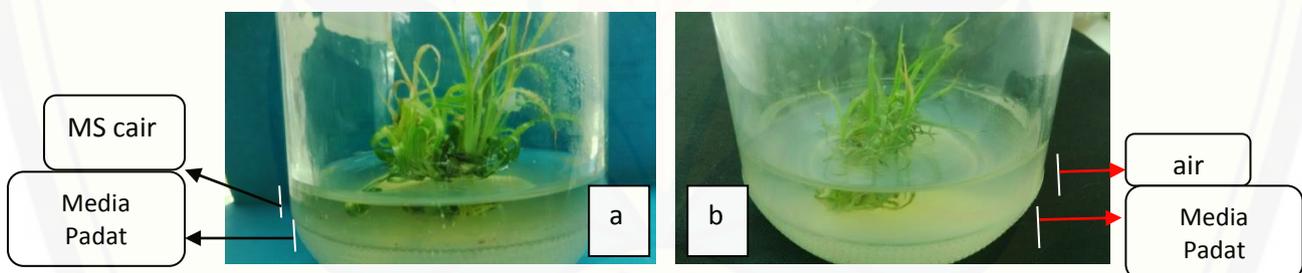
Sub Kultur dilakukan dengan memindahkan planlet tebu ke media baru, proses ini dilakukan pada pada *Laminary Air Flow* yang sebelumnya telah disterilisasi menggunakan sinar UV selama 45 menit. Proses sub kultur dilakukan dengan menanam 1 planlet yang terdiri dari maksimal 4 tunas pada media baru yaitu media MS dengan BAP. Kemudian memberikan label pada masing – masing botol kultur sesuai dengan planlet tebu yang ditanam. Persiapan sebelum melakukan sub kultur ataupun penanaman pada media ultur di dalam laminar air flo dapat dilihat pada Gambar 3.4



Gambar 3.4 Persiapan melakukan sub kultur tebu di dalam *Laminar Air Flow*

3.4.4 Perlakuan Penggenangan

Perlakuan penggenangan pada planlet tebu dilakukan setelah planlet tebu disub kultur pada media MS + BAP. Penggenangan awal dilakukan dengan menambahkan MS cair hingga ketinggian 1 cm, untuk klon PS 863, PS 864 dan PS 865 yang tidak termutasi diberikan perlakuan 9 penggenangan dan 9 tanpa penggenangan pada tiap klon. Sedangkan untuk klon tebu PS 863, PS 864 dan PS 865 yang telah termutasi juga diberikan perlakuan 9 penggenangan dan 9 tanpa penggenangan pada tiap klon. Setelah 4 minggu penggenangan dengan MS cair, dilakukan sub kultur pada media perakaran (MS + kinetin + IBA) dan dilakukan perlakuan penggenangan lanjutan menggunakan air yang telah disterilkan hingga 2 minggu. Sehingga, keseluruhan waktu penggenangan dilakukan selama 6 minggu. Penggenangan dilakukan dengan menuangkan MS cair ataupun air steril di atas media padat sehingga terlihat jelas penggenangan yang diberikan pada planlet, sesuai dengan gambar 3.5 berikut ini:

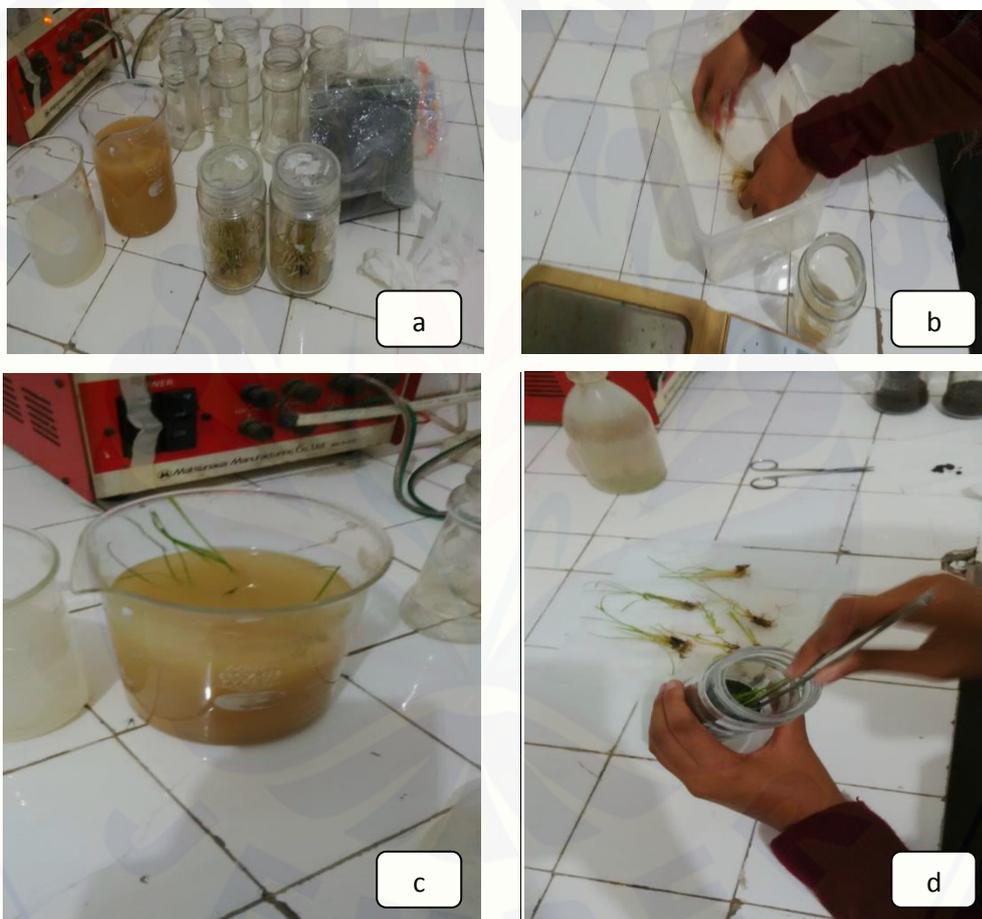


Gambar 3.5 (a) Planlet dengan penggenangan MS cair, (b) planlet dengan penggenangan air steril

3.4.5 Metode Aklimatisasi

Proses aklimatisasi dilakukan pada planlet yang telah memiliki struktur tanaman lengkap. Proses aklimatisasi terdiri dari beberapa tahapan yaitu pemilihan planlet tebu yang siap diaklimatisasi dan mencuci planlet tersebut dengan air bersih hingga tidak ada agar yang menempel pada akar, kemudian planlet yang akan diaklimatisasi terlebih dahulu direndam menggunakan dithane M-45 dengan konsentrasi 45,2 g/l selama 30 menit. Media yang digunakan untuk aklimatisasi awal adalah pasir. Pada aklimatisasi awal planlet yang telah dipindah

pada botol berisis media pasir disimpan di dalam growth chamber selama satu bulan dengan dilakukan penyiraman setiap hari. Proses aklimatisasi dapat dilihat pada Gambar 3.6. Setelah satu bulan, planlet dipindahkan ke media baru dalam polibag yang terdiri dari pasir, kompos, dan tanah dengan perbandingan 1:1:1 dan diletakkan didalam rumah kaca. Lama waktu aklimatisasi berkisar antara 2-3 minggu setelah pelaksanaan aklimatisasi dengan parameter planlet yang hidup fase aklimatisasi yaitu bertambahnya jumlah dan ukuran dari planlet tersebut baik pada daun, batang dan akar tanaman tebu yang hidup fase aklimatisasi.



Gambar 3.6. (a) bahan – bahan yang dibutuhkan saat aklimatisasi, (b) proses membersihkan planlet dari sisa agar yang menempel, (c) proses perendaman planlet dengan *dithane*, (d) penanaman planlet pada media pasir didalam botol.

3.5 Parameter Pengamatan

Penilaian toleransi planlet tebu terhadap genangan dapat dinilai dari beberapa parameter seperti tinggi planlet, jumlah akar, panjang akar, warna daun dan presentase planlet hidup (Jamaluddin,1995) selain itu juga dapat dilihat dari jumlah tunas dan jumlah daun (Satyanarana *et al*, 1980). Pada percobaan ini, karakter morfologi yang diamati adalah sebagai berikut:

1. Jumlah daun

Perhitungan jumlah daun setelah perlakuan penggenangan dilakukan setiap satu minggu sekali yang dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun yang telah terbentuk sempurna pada planlet tebu.

2. Warna daun

Warna daun diamati setiap satu minggu sekali. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat warna daun yang terbentuk pada planlet menggunakan *Munsell Color Chart*.

Tabel 3.1 Skor warna daun yang diamati menggunakan *Munsell Color Chart* skala 5 GY

Skor	Warna Daun
1	Hijau kekuningan
2	Hijau muda
3	Hijau
4	Hijau tua
5	Hijau sangat tua

3. Jumlah akar planlet

Jumlah akar planlet dihitung pada akhir pengamatan. Perhitungan ini dilakukan dengan menghitung jumlah akar yang terbentuk pada planlet tebu.

4. Tinggi planlet

Perhitungan tinggi planlet dilakukan dengan mengukur tinggi planlet dari permukaan media hingga bagian planlet teratas. Pengukuran tinggi planlet dilakukan setiap satu minggu sekali.

5. Panjang akar planlet

Panjang akar planlet dihitung pada akhir pengamatan. Perhitungan ini dilakukan dengan menggunakan penggaris dari pangkal akar hingga ujung akar.

6. Jumlah tunas

Pengamatan jumlah tunas setelah penggenangan dilakukan setiap satu minggu sekali. Perhitungan ini dilakukan dengan menghitung banyaknya tunas yang terbentuk pada planlet.

7. Presentase planlet hidup

Jumlah planlet hidup dihitung pada akhir pengamatan. Perhitungan ini dilakukan dengan menghitung jumlah planlet yang hidup pada tiap kombinasi perlakuan.

8. Jumlah Planlet hidup Fase Aklimatisasi

Aklimatisasi planlet dilakukan pada planlet yang memiliki toleransi paling baik terhadap genangan. Perhitungan jumlah planlet hidup fase aklimatisasi dilakukan setelah satu bulan aklimatisasi.