

## MUTASI DAN SELEKSI SEL KALUS UNTUK KETAHANAN TERHADAP GENANGAN PADA TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum*)

*Mutation and Selection of Callus Cells By flooding To tolerance On Sugarcane Crop ( Saccharum officinarum )*

Muhammad Arif, Sholeh Avivi\*, Sigit Soeparjono

Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jln. Kalimantan 33, Jember 68121

E-mail : avi-vi@yahoo.com

### ABSTRACT

*In vitro* selection is one of methods to get sugarcane cultivars that are tolerance to flooding stress by selecting varieties that are resistant to stress at callus level soaked in EMS (Ethyl Methane Sulphate) to trigger cell mutation. The research was conducted at the Laboratory of Plant Tissue Culture of Agronomy Department, Faculty of Agriculture, University of Jember, from July 2013 to March 2014. There research aimed to identify growth response of callus and plantlets to several varieties of sugarcane (*Saccharum officinarum*) after being soaked in EMS for stress tolerance to flooding. The research used factorial completely randomized design (CRD) and was followed with Duncan's Multiple Range Test (DMRT) significance level of 5%, with 2 factors. The first factor was kind of variety (V): V1 = PS 863 ; V2 = PS 864; V3 = PS 865. The second factor was treatment of flooding (T): T0 = no flooding; T1 = treatment of flooding. The research results showed that the best treatment was V3T1, namely sugarcane variety PS 865 which was able to produce 4 plantlets alive of 6 plantlets acclimatized, so an 80% successful acclimatization was achieved.

*Keywords:* Callus of sugarcane, EMS (Ethyl Methane Sulphate), Flooding.

### ABSTRAK

Seleksi *in vitro* merupakan salah satu cara untuk mendapatkan kultivar tanaman tebu yang tahan terhadap cekaman genangan dengan menseleksi varietas yang tahan terhadap cekaman tingkat kalus yang direndam EMS (*Ethyl Methane Sulphate*) untuk memicu mutasi sel. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember dimulai pada bulan Juli 2013 sampai Maret 2014. Penelitian ini bertujuan Mengetahui respon pertumbuhan kalus dan planlet pada beberapa varietas tebu (*Saccharum officinarum*) setelah direndam EMS untuk ketahanan cekaman genangan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda duncan (DMRT) taraf 5 %, dengan 2 faktor. Faktor pertama macam Varietas (V): V1 = PS 863; V2 = PS 864; V3 = S 865. Faktor kedua Perlakuan Genangan (T): T0 = tanpa penggenangan; T1 = perlakuan penggenangan. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan terbaik adalah V3T1, yaitu varietas tebu PS 865 mampu menghasilkan 4 planlet hidup dari 6 planlet yang diaklimatisasi sehingga diperoleh keberhasilan aklimatisasi 80%.

Kata kunci : Kalus Tebu, EMS (*Ethyl Methane Sulphate*), Genangan.

Arif. M, S. Avivi, S. Soeparjono. 2014. Mutasi dan Seleksi Sel Kalus untuk Ketahanan Terhadap Genangan pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*). *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

### PENDAHULUAN

Gula merupakan komoditas penting yang digunakan dalam kehidupan sehari-hari, karena gula menjadi bahan pokok yang dikonsumsi langsung dan juga digunakan dalam berbagai industri pangan dan minuman. Kebutuhan konsumsi gula di Indonesia terus meningkat sesuai dengan meningkatnya pertumbuhan jumlah penduduk serta diimbangi dengan peningkatan taraf hidup dan pertumbuhan dan perkembangan industri yang menjadikan gula sebagai bahan baku. Peningkatan kebutuhan gula tidak seimbang dengan produksi gula dalam negeri.

Produksi gula nasional pada tahun 2013 mencapai 2.55 juta ton atau turun sekitar 1.57 % dari tahun sebelum nya sebesar 2.59 juta ton. Sementara konsumsi pada tahun 2013 mencapai 5.51 juta ton. Stok gula dunia diperkirakan semakin terus berkurang, maka harga gula dunia cenderung bertahan pada kisaran yang tinggi. Indonesia sebagai negara yang mengimpor gula dalam skala besar turut merasakan pengaruh dari kelimpahan dan kelangkaan gula dunia. (Badan Pusat Statistik, 2013)

Program swasembada pangan merupakan salah satu rancangan program yang dilakukan pemerintah Indonesia sampai target 2017. Kebutuhan total gula tahun 2014 di perkirakan sebesar 5,6 juta ton,

yang terdiri dari gula kristal putih sebesar 3 juta ton dan gula kristal rafinasi sebesar 2,6 juta ton. Dengan asumsi produktivitas gula sebesar 7,44 ton per ha, perkiraan swasembada gula akan tercapai jika luas areal meningkat menjadi 766 ribu ha (Badan Pusat Statistik, 2013).

Salah satu alternatif untuk perluasan lahan tebu dengan memanfaatkan lahan yang punya potensi tergenang. Prospek pengembangan tebu toleran genangan tidak hanya bermanfaat bagi pengembangan tebu spesifik di lahan sawah, tetapi juga prospektif bagi wilayah yang sering mengalami cekaman genangan.

Tersedianya varietas unggul tebu toleran genangan secara kultur *in vitro* akan mempunyai peranan penting dalam peningkatan produksi tebu di dalam negeri. Dengan demikian untuk lahan yang tergenang dibutuhkan pengembangan riset-riset tentang klon-klon tebu yang toleran terhadap genangan sehingga didapatkan sumber genetik tebu yang memiliki sifat toleran genangan tersebut melalui pengujian beberapa koleksi plasma nutfah tebu pada kondisi genangan melalui perbanyakan tanaman secara *in vitro* yaitu kultur jaringan (A.Yu, *et. al.*, 2002)

Peningkatan keragaman genetik pada tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya adalah perlakuan fisik melalui sinar radiasi serta perlakuan mutagen secara kimia salah satunya menggunakan

EMS (*Ethyl Methane Sulphate*). Pada kultur *in vitro* dilakukan 2 tahap seleksi melalui variasi somaklonal dan mutasi secara kimia menggunakan EMS.

Pada penelitian ini perlakuan kalus termutasi yang digenangi pada kultur jaringan ditargetkan menghasilkan planlet yang tahan terhadap genangan pada tiga varietas tebu (PS 863, PS 864, PS 865).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember dan dimulai bulan Juli 2013 sampai dengan bulan Maret 2014.

Percobaan dilakukan secara RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktorial 3x2. faktor ke-1 yaitu macam varietas (V) terdiri dari 3 taraf yaitu (V1) PS 863, (V2) PS 864, (V3) PS 865 dan faktor ke-2 yaitu perlakuan genangan (T) terdiri dari 2 taraf yaitu (T0) kalus tanpa genangan (T1) kalus tergenang. Dari hasil kombinasi perlakuan didapatkan 6 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan diulang 4 kali sehingga didapatkan 24 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA, Jika menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan uji nilai tangan dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

Bahan – bahan yang digunakan adalah pucuk tebu, Media MS (Murashige Skoog), vitamin, hormon (Kinetin, IBA, 2,4 D dan BAP), air destilasi, etanol 70%, EMS (*Ethyl Methane Sulphate*), *sucrose*, aluminium foil, tissue, kertas saring, dan *plastic wrap*.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Sterilisasi Peralatan

Botol kultur, petridish,, pinset, dan *scalpel* dicuci bersih, kemudian disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 120 °C dan tekanan 17.5 psi (*pound per square inch*) selama 60 menit.

#### 3.4.2. Pembuatan Media Kultur Jaringan

Proses pembuatan media diawali dengan mencampur larutan stok sesuai dengan komposisi media Murashige dan Skoog (MS) yang telah dimodifikasi untuk tanaman tebu . Adapun jenis media yang disiapkan meliputi 4 macam yaitu :

1. Media induksi kalus (MS I) yaitu MS + 3 ppm 2,4 D + 3% air kelapa.
2. Media perlakuan uji ketahanan cekaman genangan pada sel kalus (MS I cair) dengan komposisi media MS + 3 ppm 2,4 D + 3% air kelapa.
3. Media regenerasi dan induksi tunas dengan komposisi media MS + 1 mg/l BAP + 1 mg/l kinetin.
4. Media induksi akar pada planlet dengan komposisi media MS + 1 mg/l IBA + 1 mg/l kinetin.

#### Sterilisasi eksplan dan Induksi Kalus

Eksplan tebu yang digunakan dalam percobaan ini adalah pucuk tebu yang diambil dari tanaman tebu yang berumur 6 bulan dan seluruh bagian pucuk tebu disemprot menggunakan alkohol 70%. Pelepa daun tebu dikelupas sampai diperoleh batang tebu yang lunak. Pucuk tebu tersebut dipotong sepanjang 20 cm tepat diatas ruas terakhir dan disemprot menggunakan alkohol 70%. Bagian batang yang terluka dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam *laminar air flow cabinet*. Pucuk tebu dipotong-potong berukuran 0,7-1 cm di tanaman kedalam media kultur kalus.

#### Mutasi Sel Kalus Dengan EMS

Perlakuan mutasi dengan EMS setelah kalus tumbuh dan dipilih yang terbaik pertumbuhannya kemudian dilakukan perendaman dalam konsentrasi larutan EMS 0,3% dan digoyang selama 2 jam dengan kecepatan 60 rpm. Pada perlakuan mutagen menggunakan EMS digunakan pada 3 jenis varietas yaitu PS 863 , PS 864 PS 865.

#### Uji Ketahanan Sel Kalus Terhadap Cekaman Genangan

Induksi eksplan ke media MS + 2,4 D + Air Kelapa 30 ml/l menghasilkan sel kalus sebagai bahan uji ketahanan sel kalus terhadap

cekaman genangan dengan kriteria kalus memiliki struktur kalus yang kompak dan berwarna terang, berumur 2-3 bulan serta hasil induksi eksplan menjadi kalus sepenuhnya. Kalus tebu yang siap dilakukan uji ketahanan terhadap cekaman genangan.

Sel kalus tebu yang memiliki kriteria tersebut dilakukan penggenangan dengan 2 perlakuan penggenangan yaitu tanpa penggenangan, kalus tergenang dan dilakukan penggenangan selama 4 hari. Kalus yang mampu tumbuh dengan indikator warna kalus cerah dan kerusakan sel dibawah 5 % serta dapat beregenerasi membentuk tunas merupakan tunas yang tahan cekaman genangan.

#### Metode Aklimatisasi

Planlet yang siap untuk diaklimatisasi berumur 6-7 bulan dengan kriteria planlet sudah memiliki struktur tanaman yang lengkap. Media yang digunakan untuk aklimatisasi adalah cocopit dan akar pakis dengan perbandingan komposisi media 2:1. Planlet yang hendak diaklimatisasi terlebih dahulu direndam menggunakan dithane M-45 dengan konsentrasi 45,2 g/l selama 30 menit. Lama waktu aklimatisasi berkisar antara 2-3 minggu.

#### Metode Analisis

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA, Jika menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan uji nilai lanjut dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5 %.

Dapat dinyatakan dengan rumus model matematis sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

- $Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan pengaruh vareitas ke-i, genangan ke-j, ulangan ke-k  
 $\mu$  = Nilai rata-rata populasi  
 $\alpha_i$  = Pengaruh varietas ke-i (i = 1, 2, 3, 4)  
 $\beta_j$  = Pengaruh genangan ke-j (j = 1, 2, 3, 4, 5)  
 $(\alpha\beta)_{ij}$  = Pengaruh interaksi vareitas ke-i, genangan ke-j,  
 $\epsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat percobaan vareitas ke-i, volume genangan ke-j, dan ulangan ke-k

#### Parameter Pengamatan

##### Persentase kalus hidup

Persentase kalus hidup dilihat berdasarkan warna kalus. Kalus berwarna kuning hingga coklat merupakan kalus hidup. Sedangkan kalus dikatakan mati adalah jika kalus yang berwarna coklat kehitaman dan coklat. Pengamatan dilakukan 14 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

##### Warna Kalus

Pengamatan Warna kalus dapat dinilai secara kualitatif dengan mengamati warna kalus dan memberi skor warna pada masing-masing kalus yang diamati sehingga dapat dilakukan penilaian secara kuantitatif menggunakan bagan warna munsell 2,5 Y (*Yellow*), Pengamatan dilakukan setelah minggu ke-5 setelah penggenangan, dengan indikasi warna kalus gelap menandakan kalus tersebut tidak tahan terhadap cekaman genangan sedangkan pada kalus yang berwarna terang menunjukkan bahwa eksplan tahan terhadap cekaman genangan. Pengamatan dilakukan 14 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

##### Jumlah kalus yang membentuk tunas muda (*Talus*)

Pengamatan jumlah kalus yang membentuk tunas dilakukan dengan menghitung jumlah kalus yang membentuk tunas setelah dikeluarkan dari media MS I dan dimasukkan ke media regenerasi. Pengamatan ini dilakukan setelah perlakuan penggenangan. Pengamatan dilakukan 30 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

##### Jumlah Planlet

Penghitungan jumlah planlet dilakukan setelah perlakuan penggenangan dan tumbuh menjadi planlet. Pengamatan dilakukan 40 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

##### Tinggi planlet (cm)

Pengukuran tinggi eksplan dilakukan setelah kalus dipotong-potong dan dikeluarkan dari media MS I kemudian menjadi kalus dan kalus akan berdifferensiasi setelah di masukkan ke media MS II yang diberi perlakuan penggenangan dan tanpa penggenangan dan kemudian membentuk planlet diukur mulai dari permukaan media hingga bagian planlet teratas. Pengamatan dilakukan 50 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

#### Jumlah rata-rata akar perplanlet

Penghitungan jumlah planlet dilakukan setelah perlakuan penggenangan dan tumbuh menjadi planlet. Pengamatan dilakukan 50 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

#### Panjang Akar Planlet

Pengukuran tinggi eksplan dilakukan setelah kalus dipotong-potong dan dikeluarkan dari media MS I kemudian menjadi kalus dan kalus akan berdifferensiasi setelah di masukkan ke media MS II yang diberi perlakuan penggenangan dan tanpa penggenangan dan kemudian membentuk planlet diukur panjang akar mulai dari permukaan media hingga bagian akar teratas. Pengamatan dilakukan 50 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

#### Jumlah Tunas Planlet

Pengukuran tinggi eksplan dilakukan setelah kalus dipotong-potong dan dikeluarkan dari media MS I kemudian menjadi kalus dan kalus akan berdifferensiasi setelah di masukkan ke media MS II yang diberi perlakuan penggenangan dan tanpa penggenangan dan kemudian membentuk planlet dengan cara menghitung jumlah tunas planlet. Pengamatan dilakukan 50 hari setelah dilakukan perlakuan penggenangan.

## HASIL

Hasil analisis F-hitung terhadap parameter ketahanan cekaman genangan tingkat kalus serta parameter pendukung dalam seleksi ketahanan sel kalus dalam kultur *in vitro* pada tebu disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Nilai F-Hitung untuk parameter pengamatan ketahanan cekaman genangan pada tingakat *in vitro*

No	Parameter Pengamatan	F-Hitung		
		Varietas (V)	Volume Genangan (T)	Intreaksi (V X T)
1	Kalus Hidup	13.00 **	25.00 **	13.00 **
2	Wama Kalus	1.43 ns	4.54 *	2.66 ns
3	Jumlah Talus	3.91 *	6.30 *	3.73 *
4	Jumlah Planlet	144.50 **	578.00 **	144.50 **
5	Tinggi Planlet	17.94 **	50.49 **	17.94 **
6	Jumlah Akar	25.75 **	102.74 **	25.75 **
7	Panjang Akar	16.38 **	53.84 **	16.38 **
8	Jumlah Tunas	5.40 *	21.40 **	5.40 *

Keterangan : (ns) berbeda tidak nyata; (\*) berbeda nyata; (\*\*) Berbeda sangat nyata.

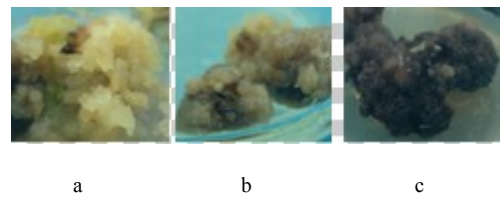
Tabel 1. menunjukkan bahwa interaksi antara faktor varietas tanaman tebu yaitu PS 863, PS 864, PS 865 dan volume genangan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap jumlah kalus hidup, jumlah planlet, tinggi planlet, rata-rata akar perplanlet, serta panjang akar perplanlet dan memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas dan jumlah tunas perplanlet, namun memberikan pengaruh tidak nyata terhadap warna kalus. Faktor varietas memberikan pengaruh sangat nyata terhadap persentase kalus hidup, dan parameter pendukung diantaranya yaitu jumlah planlet, tinggi planlet, rata-rata akar perplanlet, serta panjang akar perplanlet dan memberikan pengaruh tidak nyata pada warna kalus tebu, namun memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah talus (calon tunas muda setelah fase kalus) dan jumlah tunas perplanlet.

## PEMBAHASAN

### Seleksi Tingkat Sel Kalus

#### Warna Kalus

Persentase tingkat kematian sel dari masing-masing kombinasi faktor varietas dan genangan dapat ditunjukkan dengan perubahan warna kalus, warna hitam pada kalus dianggap semakin banyak sel yang mati disajikan dalam Gambar 1. dan Table 2



Gambar 1. Kerusakan Sel Kalus (a) Tidak rusak (b) kerusakan 5% (c) Kerusakan 75%

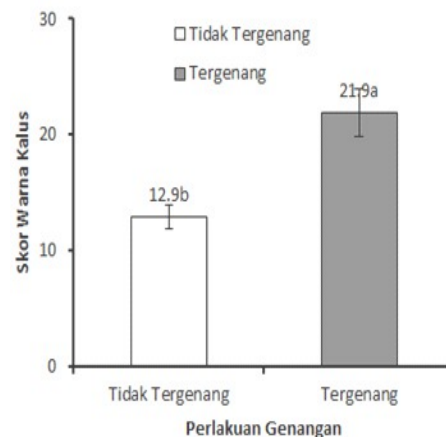
Berdasarkan pengamatan Tabel 2 dan Gambar 1 menunjukkan tingkat kerusakan sel kalus sangat berpengaruh terhadap jumlah sel kalus yang hidup, semakin tinggi tingkat kerusakan sel maka jumlah sel yang hidup relatif sedikit dan terlihat pada Gambar 4.5 sel kalus yang mengalami kerusakan sel yang cukup tinggi yaitu berkisar  $\pm 75\%$ .

Tabel 2. Pengamatan kriteria kerusakan kalus

Perlakuan	Warna Kalus	Kerusakan Sel
V1T0	Putih Kekuningan	(-)
V1T1	Kuning Kecoklatan	(+)
V2T0	Putih Kekuningan	(-)
V2T1	Cokelat Kehitaman	(+++)
V3T0	Putih Kekuningan	(-)
V3T1	Putih Kekuningan	(-)

Keterangan : (-) tidak rusak, (+) kerusakan sel 5%, (++) kerusakan sel 25%, dan (+++) kerusakan sel 75%.

Hal ini dipengaruhi oleh kemampuan masing-masing sel dalam merespon cekaman genangan dari 3 sel kalus tebu dan tahap seleksi *in vitro* sangat menentukan keberhasilan seleksi terhadap cekaman genangan.



Gambar 2. Warna kalus tebu (menggunakan bagan warna munsell skala 2,5 Yellow) pada 14 hari setelah penggenangan.

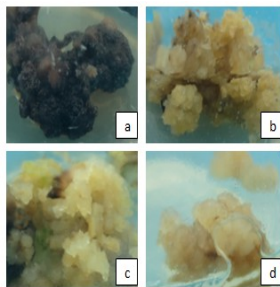
Pengamatan persentase warna kalus dilakukan minggu keempat setelah dilakukan penggenangan pada media MS yang memberikan pengaruh terhadap beragam respon dari masing-masing varietas yang diberi perlakuan penggenangan Berdasarkan pengamatan yang dilakukan hasil uji Duncan pada Gambar 2. menunjukkan bahwa faktor volume genangan yang merespon cekaman genangan dengan baik secara keseluruhan pada parameter warna kalus adalah volume genangan T1 (perlakuan penggenangan), didapatkan nilai tertinggi terletak volume genangan dengan nilai 21.9 pada warna kalus, berbeda nyata dengan

perlakuan T0. Perbedaan yang nyata terletak pada kedua faktor dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu pengaruh varietas yang diberi perlakuan perendaman EMS 0,3 % selama 3 jam dan volume genangan.

Secara umum, Kombinasi faktor varietas dan volume genangan merespon dengan baik dibuktikan dari 3 jenis sel kalus dari 3 varietas yang diberikan perlakuan penggenangan, Skor nilai yang didapat dari masing-masing perlakuan memang berbeda tetapi tidak nyata antara perlakuan T1 dengan perlakuan T0, sehingga tidak dilakukan uji DMRT taraf 5% (Duncan Multiple Range Test). Pada gambar 2 skor nilai yang diamati pada masing-masing kalus dinyatakan pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Skor warna kalus yang diamati menggunakan menggunakan bagan warna munsell skala 2,5 *Yellow*.

Skor	Warna kalus
<10	Gelap
10-20	Agak Terang
20-30	Terang
>30	Sangat terang

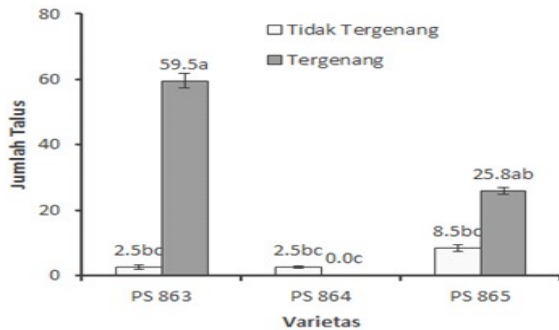


Gambar 3. Skor warna kalus yang diamati menggunakan menggunakan bagan warna munsell skala 2,5 *Yellow* (a) >10 (b) 10-20 (c) 20-30 (d) >30.

**Jumlah Talus**

kalus yang tidak dapat beregenerasi menuju fase tunas berarti mengindikasikan kalus tersebut tidak toleran terhadap cekaman genangan pada seleksi *in vitro* baik itu secara variasi somaklonal maupun seleksi induksi mutasi.

Perlakuan penggenangan berpengaruh terhadap sel kalus untuk beregenerasi ke fase tunas karena pada kondisi tergenang sel-sel kalus peka terhadap genangan yang pada proses tersebut terjadi respirasi anaerobik sehingga suplai oksigen ke sel kalus rendah sehingga pada proses metabolisme tidak sempurna. Jumlah talus yang hidup dapat dilihat pada Gambar 4.

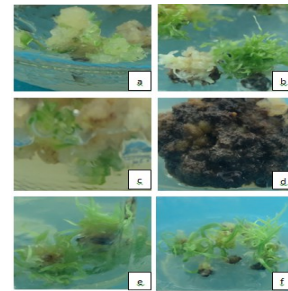


Gambar 4 Pengaruh perlakuan terhadap jumlah talus (tunas muda) pada 30 hari setelah perlakuan penggenangan.

Pengamatan persentase jumlah tunas dilakukan hari ke-30 setelah dilakukan penggenangan yang memberikan pengaruh terhadap respon yang beragam dari masing-masing varietas yang diberi perlakuan

penggenangan Berdasarkan pengamatan yang dilakukan hasil uji Duncan pada Gambar 1.4 menunjukkan bahwa interaksi perlakuan yang merespon cekaman genangan dengan baik secara keseluruhan pada parameter jumlah tunas yang dihasilkan dari induksi kalus ke tahap induksi tunas dari V1T1 (varietas PS 862\*), didapatkan nilai tertinggi terletak pada intreaksi varietas dan volume genangan dengan nilai 59.5 pada tunas, berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

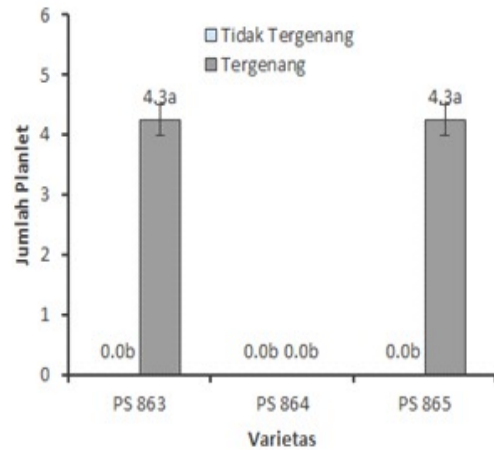
Nilai terendah terletak pada perlakuan V2T1 dengan nilai 0.0. Pada perlakuan V2T1, kalus tidak merespon dengan baik karena kalus peka terhadap cekaman genangan sehingga tidak dapat beregenerasi menjadi tunas bahkan mengalami fase kematian. Perbedaan nyata terletak pada kedua faktor dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu pengaruh varietas dan volume genangan serta keberhasilan induksi mutasi menggunakan EMS.



Gambar 5. Pengaruh perlakuan terhadap jumlah tunas muda (a) V1T0, (b) V1T1, (c) V2T0, (d) V2T1 (e) V3T0, (f) V3T1.

**Jumlah Planlet**

Jumlah planlet dipengaruhi oleh kemampuan sel kalus tersebut untuk beregenerasi setelah mengalami cekaman genangan dan dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan tumbuh tunas untuk membentuk planlet hal ini dikemukakan Cambell, (2004) mengemukakan bahwa setiap sel tumbuhan memiliki seluruh informasi genetik yang sama dengan tanaman induknya dan mampu membentuk individu baru apabila dipelihara dalam lingkungan yang sesuai.



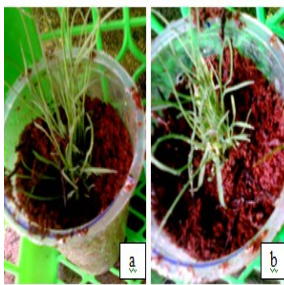
Gambar 6. Pengaruh perlakuan terhadap jumlah planlet pada hari ke-40 setelah perlakuan penggenangan (T0) tanpa penggenangan (T1) perlakuan genangan

Pengamatan jumlah planlet dilakukan 40 hari setelah dilakukan penggenangan yang memberikan pengaruh terhadap respon yang beragam dari masing-masing varietas yang diberi perlakuan penggenangan. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan hasil uji Duncan pada Gambar 1.9 menunjukkan bahwa varietas yang merespon cekaman genangan dengan baik secara keseluruhan pada parameter jumlah planlet yang dihasilkan dari induksi tunas ke fase planlet dari perlakuan V3T1 dan V1T1, didapatkan nilai tertinggi terletak pada intreaksi varietas dan volume genangan dengan nilai 4.3a pada jumlah planlet dan berbeda nyata dengan perlakuan V1T0, V2T0, V2T1 dan V3T0 dengan nilai 0.0. Hal ini disebabkan seleksi *in vitro* melalui

cekaman genangan pada masing-masing sel kalus yang memberikan respon yang berbeda-beda melalui variasi somaklonal dan mutasi menggunakan perendaman EMS 0,3% selama 3 jam.

Nilai terendah terletak pada perlakuan V2T1 dengan nilai 0. Pada perlakuan V2T1, tunas tidak merespon dengan baik untuk dapat beregenerasi pada fase planlet karena tunas yang dihasilkan dari kalus yang tercekam genangan peka terhadap cekaman genangan sehingga tidak dapat beregenerasi menjadi planlet bahkan dapat menuju fase kematian dan tidak semua tunas yang dihasilkan dari sel kalus yang toleran terhadap cekaman dan membentuk tunas dapat beregenerasi pada fase planlet. Pada perlakuan kontrol masing-masing sel kalus dari 3 varietas tebu tidak terdapat jumlah planlet pada hari ke-40. Perbedaan nyata antara perlakuan kontrol dan perlakuan penggenangan terletak pada kedua faktor dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu pengaruh sel yang dilakukan cekaman genangan memberikan respon pertumbuhan planlet lebih cepat dibanding dengan perlakuan kontrol, hal ini dinyatakan oleh Gembong. (2005) sel yang mengalami cekaman akan mempercepat siklus hidupnya sehingga sel kalus tersebut dapat tumbuh lebih cepat dibanding dengan perlakuan kontrol.

### Aklimatisasi



**Gambar 7.** Pengaruh perlakuan terhadap jumlah planlet hidup fase aklimatisasi pada umur 2.5 bulan setelah perlakuan penggenangan (a) V1T1 (b) V3T1.

Pada tahap aklimatisasi planlet tebu yang toleran terhadap cekaman genangan terdapat 2 varietas tebu yang tumbuh yaitu varietas PS 863\* dan Varietas PS 865\* dengan lama aklimatisasi 3-4 minggu. Jumlah tanaman tebu hasil dari aklimatisasi yang toleran genangan pada tahap seleksi *in vitro* terdapat 4 tanaman dari PS 863\* dan 4 tanaman dari varietas PS 865\*. Tanaman PS 863\* mati setelah 3 minggu dilakukan aklimatisasi.

Keberhasilan aklimatisasi merupakan faktor penting didalam proses hasil planlet kultur jaringan untuk dipindahkan ke lahan budidaya. Hal ini yang menyebabkan masa aklimatisasi merupakan masa yang kritis karena pucuk atau planlet yang diregenerasikan dari kultur *in vitro* menunjukkan beberapa sifat yang kurang menguntungkan, seperti lapisan lilin (kutikula tidak berkembang dengan baik, kurangnya lignifikasi batang, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang dan stomata sering kali tidak berfungsi (tidak menutup ketika penguapan tinggi) (Zulkamain, 2009).

Berdasarkan penelitian dan analisis data penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kombinasi perlakuan antara varietas tebu PS 865 dengan penggenangan menunjukkan toleran terhadap genangan paling tinggi dibanding kombinasi perlakuan lainnya dan respon pertumbuhan sel kalus dan planlet tiga varietas PS 865, PS 864, PS 865 menunjukkan terjadinya keragaman somaklonal untuk ketahanan terhadap cekaman genangan. Serta perlakuan genangan pada tingkat sel kalus memberikan respon pertumbuhan dan toleran genangan yang berbeda pada varietas tebu PS 865 dibanding dengan dua varietas tebu lainnya.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih kepada semua Bapak dan Ibu dosen Jurusan Budidaya Tanaman yang telah memberikan sumbangsih dalam hal akademik dan kontrak BOPTN yang telah

memberikan bantuan materil sebesar selama penelitian Rp. 25.000.000, Dengan nomor surat kontrak 123/06/BOPTN/UNEJ/14 serta semua pihak yang telah mendukung terselesainya penelitian yang dilakukan oleh penulis.

### DAFTAR PUSTAKA

- A. Yu. Stepanova, L. I. Polyakova, Yu. I. Dolgikh, and B. B. Vartapetian. 2002. The Response of Sugarcane (*Saccharum officinarum*) Cultured Cells to Anoxia and the Selection of a Tolerant Cell Line Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Botanicheskay ul. 35, Moscow *Russian Journal of Plant Physiology*, Vol. 49, No. 3, 2002, pp. 406–412.
- Badan Pusat Statistik (BPS), 2013. Produksi, Luas Areal dan Produktivitas Perkebunan di Indonesia Production, Area and Productivity Estate Crops in Indonesia.
- Campbell, N. Biologi edisi V jilid 2. Erlangga, Jakarta. (2004).
- Gembong Tjitrosoepomo. 1996. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Zulkamain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta. 8 dan 26.