

Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma

Intisari dari buku ini adalah prosedur mutagenesis *in vitro* tanaman tebu menggunakan sinar gamma, yang ditopang dengan ulasan ilmiah berdasarkan hasil penelitian. Ada dua tahap penting dalam prosedur tersebut yang didukung oleh data ilmiah, yang sebagian besar merupakan hasil penelitian penulis. Dua tahap penting itu adalah (1) kultur *in vitro* tanaman tebu via embriogenesis somatik dan (2) pemaparan dengan sinar gamma. Uraian dalam buku ini dimulai dengan pentingnya tanaman tebu dan permasalahannya di Indonesia. Lalu dikemukakan jawaban terhadap sebagian dari permasalahan itu, yaitu pentingnya pemuliaan tanaman tebu dan mutagenesis *in vitro* dengan sinar gamma. Selanjutnya diuraikan mengenai botani dan genetika tanaman tebu dan kultur *in vitro* tanaman secara umum, sebagai informasi untuk memudahkan pemahaman mutagenesis *in vitro*.

Setelah itu diuraikan dan diulas mengenai kultur *in vitro* tanaman tebu dan pentingnya zat pengatur tumbuh. Selanjutnya diuraikan bagaimana memanfaatkan teknik *in vitro* tersebut untuk mutasi tanaman tebu melalui iradiasi sinar gamma. Buku ini ditutup dengan ulasan mengenai pengembangan metode mutagenesis *in vitro* dengan sinar gamma pada tanaman tebu. Buku ini diharapkan bermanfaat bagi para peneliti tanaman tebu, dosen dan guru, mahasiswa, dan siapa saja yang menaruh minat pada kultur *in vitro* dan pemuliaan tanaman tebu.



Aura-Publishing
www.aura-publishing.com
@redaksiaura



Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma

Dwi Hapsoro

Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma



Dwi Hapsoro

UNIVERSITAS LAMPUNG



LEMBAR PENGESAHAN

Judul : **Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma**

Penulis : Dwi Hapsoro

Instansi : Fakultas Pertanian Universitas Lampung

Publikasi : Monograf

ISBN : 978-623-211-105-9

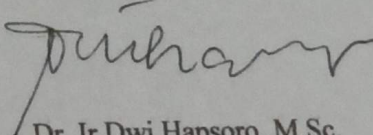
Penerbit : Aura Publishing, Anggota IKAPI No.003/LPU/2013
(www.aura-publishing.com)

Bandar Lampung, 9 Oktober, 2019

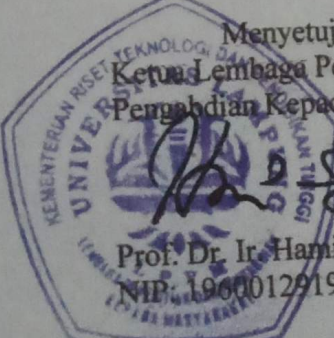
Mengetahui,
Pemantu Dekan I
Fakultas Pertanian Unila
Prof. Dr. Ir. Dermiyati, M.Agr.Sc.
NIP. 196208041987032002



Penulis


Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.
NIP: 196104021986031003

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian dan
Pengabdian Kepada Masyarakat
Prof. Dr. Ir. Hamim Sudarsono, M.Sc.
NIP. 196001291984031003



The background of the slide features a grayscale image of rice stalks, which are slightly out of focus and fill the entire frame.

Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk **Mutagenesis** dengan **Sinar Gamma**

Hak cipta pada penulis
Hak penerbitan pada penerbit
Tidak boleh diproduksi sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun
Tanpa izin tertulis dari pengarang dan/atau penerbit

Kutipan Pasal 72 :

Sanksi pelanggaran Undang-undang Hak Cipta (UU No. 10 Tahun 2012)

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal (49) ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau hasil barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma

Dwi Hapsoro



Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya
untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma**

Penulis:
Dwi Hapsoro

Desain Cover & Layout
Team Aura Creative

Penerbit
AURA
CV. Anugrah Utama Raharja
Anggota IKAPI
No.003/LPU/2013

xvi + 106 hal : 15,5 x 23 cm
Cetakan, September 2019

ISBN: 978-623-211-105-9

Alamat
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro, No 19 D
Gedongmeneng Bandar Lampung
HP. 081281430268
082282148711

E-mail : redaksiaura@gmail.com
Website : www.aura-publishing.com

Hak Cipta dilindungi Undang-undang

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah swt atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga penulis bisa menyelesaikan tulisan pendek dalam bentuk sebuah buku. Buku ini berjudul “Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma” Tulisan dalam buku ini merupakan benang merah berdasarkan sejumlah hasil penelitian penulis selama kurang lebih 6 tahun terakhir tentang kultur *in vitro* tanaman tebu dan mutagenesis dengan sinar gamma. Sebagian data sudah dipublikasikan di jurnal ilmiah, sebagian lainnya hanya dipublikasikan di buku ini. Benang merah yang dapat ditarik adalah diperolehnya prosedur mutagenesis *in vitro* tanaman tebu menggunakan sinar gamma. Tahap-tahap penting dalam prosedur itu didukung oleh hasil penelitian yang sebagian besar merupakan hasil penelitian penulis. Dua tahap penting tersebut adalah (1) prosedur kultur *in vitro* tanaman tebu via embriogenesis somatik dan (2) prosedur pemaparan dengan sinar gamma.

Uraian dalam buku ini dimulai dengan pentingnya tanaman tebu dan permasalahannya di Indonesia (Bab 1). Lalu dikemukakan jawaban terhadap sebagian dari permasalahan itu, yaitu pentingnya pemuliaan tanaman tebu dan mutagenesis *in vitro* dengan sinar gamma. Selanjutnya diuraikan mengenai botani dan genetika tanaman tebu (Bab 2) dan kultur *in vitro* tanaman secara umum (Bab 3), sebagai informasi untuk memudahkan pemahaman bab-bab berikutnya. Setelah itu diuraikan dan diulas mengenai kultur *in vitro* tanaman tebu (Bab 4) dan pentingnya zat pengatur tumbuh (Bab 5). Selanjutnya diuraikan bagaimana memanfaatkan teknik *in vitro* tersebut untuk mutasi tanaman tebu melalui iradiasi sinar gamma (Bab 6). Buku ini ditutup dengan ulasan mengenai pengembangan metode mutagenesis *in vitro* dengan sinar gamma pada tanaman tebu (Bab 7).

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. yang telah memberikan saran yang sangat berguna dalam penulisan buku ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada para mahasiswa peneliti kultur jaringan tebu baik S1 maupun S2 Fakultas Pertanian Universitas Lampung (UNILA), yang bersama penulis melakukan penelitian. Terima kasih tentunya juga penulis sampaikan kepada Fakultas Pertanian UNILA yang telah

memberikan fasilitas yang dibutuhkan untuk melaksanakan penelitian. Terakhir dan tak kalah penting, kepada PT Gunung Madu Plantations, Lampung, penulis ucapkan terima kasih atas kerjasamanya selama ini dalam penelitian tanaman tebu.

Tak ada gading yang tak retak. Kritik dan saran sangat penulis harapkan demi perbaikan isi buku. Diharapkan buku ini bermanfaat bagi para peneliti tanaman tebu, dosen dan guru, mahasiswa, dan siapa saja yang menaruh minat pada kultur *in vitro* dan pemuliaan tanaman tebu.

Bandar Lampung, 12 September 2019

Dwi Hapsoro

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	v
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xv
1 Pendahuluan	1
Latar Belakang dan Masalah	1
Tujuan	6
2 Botani dan Genetika Tanaman Tebu	7
Morfologi	9
Genetika	16
3 Kultur <i>In Vitro</i> Tanaman	18
Dari Totipotensi Menuju Regenerasi	21
<i>Axillary Branching</i> , Organogenesis, dan Embriogenesis	24
4 Kultur <i>In Vitro</i> Tanaman Tebu	28
Persiapan dan Sterilisasi Eksplan	29
Induksi Kalus Primer dan Kalus Embriogenik	32
Induksi Tunas	33
Pengakaran dan Aklimatisasi	35

5	Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh pada Kultur <i>In Vitro</i> Tanaman Tebu	38
	Zat Pengatur Tumbuh	39
	Pengaruh Pikloram dan 2,4-D terhadap Pembentukan Kalus	39
	Pengaruh ZPT pada Media Induksi Kalus dan Konsentrasi Benziladenin terhadap Pembentukan Tunas	42
	Pengaruh Konsentrasi IBA terhadap Pembentukan Akar pada Tunas dan Daya Hidup Planlet pada Waktu Aklimatisasi	45
	Pembahasan	45
	Kesimpulan	50
6	Kultur <i>In Vitro</i> untuk Mutasi Tanaman Tebu Menggunakan Sinar Gamma	51
7	Mutagenesis <i>In Vitro</i> Tanaman Tebu Menggunakan Sinar Gamma dan Pengembangannya	58
	Mutasi, Genotipe, dan Fenotipe	60
	Sinar Gamma dan Mutasi	63
	Varietas Tebu Mutan dan Bukan Mutan	65
	Pengembangan Sistem Mutagenesis <i>In Vitro</i> Tanaman Tebu dengan Iradiasi Sinar Gamma	75

Daftar Pustaka	79
Daftar Istilah	90
Lampiran	98
Indeks	102
Tentang Penulis	

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
5.1	Pengaruh dua jenis ZPT, campuran ZPT dan konsentrasinya terhadap bobot kalus, dan persentase kalus embriogenik pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu.	41
5.2	Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pembentukan kalus pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu	42
5.3	Pengaruh jenis ZPT dan konsentrasinya pada media induksi kalus terhadap pembentukan tunas pada media induksi tunas	44
5.4	Nama dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang efektif pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu melalui jalur embriogenesis somatik.	46
6.1	Pengaruh dosis iradiasi sinar gamma terhadap persentase kalus yang hidup dan membentuk kalus embriogenik. Dari analisis regresi diperoleh nilai LD ₅₀ =17 Gy (Hapsoro et al., 2018)	54
7.1	Varietas mutan tebu yang sudah dirilis antara tahun 1950-2019	66

7.2	Jumlah varietas tebu yang ditanam di negara-negara produsen tebu (ISSCT, 2019)	68
7.3	LD ₅₀ sinar gamma pada mutagenesis <i>in vitro</i> sejumlah klon (genotipe) tebu	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Sosok tanaman tebu: a. Tanaman muda; b, c. Tanaman lebih tua dengan bagian batang bagian bawah tidak tertutup pelepah daun.	10
2.2	Batang tebu terdiri atas ruas-ruas dan buku-buku. Di atas setiap buku batang tebu terdapat satu mata tunas, yang di sekelilingnya melingkar cincin bakal akar.	11
2.3	Daun tebu terdiri dari: a. pelepah daun yang menempel dan menutupi ruas-ruas batang dan b. helaian daun bertulang sejajar.	12
2.4	Perakaran tebu terdiri dari : a. akar setek dan akar tunas pada tebu. b. Akar setek; c. Akar tunas.	14
2.5	Infloresens bunga tebu yang terdiri dari tangkai dan malai bunga berbentuk seperti anak panah, yang padanya terdapat ribuan bunga	15
4.1	Tahapan kultur <i>in vitro</i> tebu melalui embriogenesis	30

4.2	Persiapan eksplan berupa gulungan daun tanaman tebu.	31
4.3	Induksi kalus primer dan kalus embriogenik.	33
4.4	Induksi tunas pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu.	34
4.5	Aklimatisasi planlet tebu hasil kultur <i>in vitro</i> .	37
5.1	Tunas-tunas tanaman tebu yang dihasilkan dari kalus-kalus embriogenik yang dikulturkan pada media induksi tunas.	43
6.1	Tahap-tahap mutasi tanaman tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	53
6.2	Perkembangan kalus embriogenik tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.) setelah diiradiasi dengan sinar gamma 30 Gy.	56
6.3	Tanaman tebu hasil regenerasi kalus yang diiradiasi dengan sinar gamma dan tidak diiradiasi sinar gamma.	57
7.1	Wujud skematis genom tanaman diploid dan oktoploid.	69
7.2	Ilustrasi mengenai tahap-tahap mutagenesis <i>in vitro</i> dan seleksi <i>in vitro</i> pada tanaman tebu.	78

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel Lampiran	Halaman
1 Komposisi media induksi kalus (MIK) pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)	98
2 Komposisi media induksi tunas (MIT) pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)	99
3 Komposisi media pemanjangan tunas (MPT) pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)	100
4 Komposisi media induksi akar (MIA) pada kultur <i>in vitro</i> tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)	101

PENDAHULUAN

Latar Belakang dan Masalah

Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah salah satu tanaman perkebunan penting di Indonesia sebagai penghasil nira untuk bahan baku gula putih. Tanaman monokotil golongan rerumputan setinggi 2-6 meter ini mempunyai batang berbuku-buku dan beruas-ruas. Ruas-ruas batangnya umumnya lurus dan panjang seperti tongkat, mengandung sukrosa dengan kadar yang sangat tinggi dibandingkan tanaman dari famili Poaceae lainnya. Oleh karena itu tanaman ini disebut dengan tongkat bergula (*sugarcane*).

Selain sebagai penghasil nira yang merupakan bahan baku gula, pemrosesan tebu menjadi gula di pabrik juga menghasilkan berbagai limbah, yaitu ampas tebu, empulur ampas tebu, blotong, tetes, lilin dan abu yang dapat diolah lagi menjadi banyak produk, misalnya alkohol, pupuk organik, kertas, semir sepatu dll. Di samping itu, dari pertanaman tebu juga dihasilkan biomas

yang berupa daun tebu kering hasil klenthekan (daduk), pucuk tebu, dan sogolan (pangkal batang tebu) yang dapat digunakan sebagai pakan ternak.

Problem tanaman tebu di Indonesia adalah pada produksinya yang belum dapat memenuhi kebutuhan gula nasional, padahal potensinya sangat besar karena perluasan pertanaman masih dimungkinkan dan perbaikan teknik budidaya dan benih dapat dilakukan. Data neraca gula nasional menunjukkan bahwa sampai tahun 2021 neraca gula nasional diperkirakan masih defisit hampir 3 juta ton. Data tahun 2017 menunjukkan bahwa produksi gula Indonesia 2,47 juta ton dan konsumsinya 5,07 juta ton (defisit 2,6 juta ton) dan diperkirakan pada tahun 2021 neraca tersebut juga masih defisit, yaitu produksi 2,48 juta ton dan konsumsi 5,26 juta ton (defisit 2,78 juta ton) (databoks, 2019)

Upaya untuk meningkatkan produksi gula Indonesia dapat dilakukan dengan meningkatkan areal pertanaman, produktivitas tanaman, dan rendemen (*sugar recovery*). Produktivitas tanaman tebu Indonesia masih tergolong rendah, yaitu 68, 29 ton/Ha (alinea.id, 2018), padahal potensinya bisa mencapai 90-an ton per ha. Rendemen tebu Indonesia juga tergolong rendah yaitu rata-rata hanya 7,5%, bandingkan dengan rendemen tebu

di Filipina (9,20%), Thailand (10,70%), dan Australia (14,12%) (Suara Merdeka News, 2019). Pakpahan (2009) berpendapat bahwa cara yang paling efektif dan murah untuk meningkatkan produksi gula adalah dengan cara meningkatkan rendemen (*sugar recovery*). Rendemen tentunya bergantung pada mesin giling tebu, dan tentunya juga pada sifat genetik tebu yang dibudidayakan. Pemuliaan tanaman tebu selalu diarahkan untuk menghasilkan varietas tebu yang mempunyai sifat genetik berproduksi tinggi dan berrendemen tinggi, di samping yang toleran terhadap stres biotik dan abiotik.

Pemuliaan tanaman tebu dapat dilakukan melalui hibridisasi dan mutasi. Pemuliaan tanaman tebu menghadapi masalah rendahnya keragaman genetik tetua persilangan sehingga kemajuan genetik yang dihasilkan relatif kecil. Tetua persilangan yang digunakan sejauh ini, masih ‘itu-itulah’ saja. Varietas-verietas tebu unggul yang digunakan sekarang ini berasal dari 20 tebu unggul (*noble sugarcane*) dan kurang dari 10 turunan *Saccharum spontaneum* (Patade dan Suprasanna, 2008). Sejumlah penelitian dengan marka molekuler memang menunjukkan sempitnya klon-klon komersial tebu. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa kemiripan genetik itu rata-rata adalah 57% (Hapsoro *et al.* 2015), 59% (Devarumath *et al.*

2012), 42% (Tabasum *et al.* 2010), 60,07% (Khan *et al.* 2009), dan 70% (Singh *et al.* 2017).

Pemuliaan mutasi (*mutation breeding*) merupakan salah satu metode untuk meningkatkan keragaman genetik. Mutagen yang digunakan dapat berupa mutagen fisika, kimia atau biologi. Mutagen fisika diantaranya adalah sinar gamma dan sinar X. Mutagen kimia misalnya adalah EMS (*ethylmethyl sulfonate*). Mutagen biologi misalnya adalah transposon dan sistem kultur *in vitro* yang memicu terjadinya variasi somaklonal. Pemuliaan mutasi dilakukan dengan memapar tanaman atau bagian tanaman dengan suatu mutagen, lalu dilakukan seleksi terhadap varian-varian individu yang memiliki sifat-sifat yang diinginkan. Cara pemaparan dapat dilakukan baik secara *ex vitro* maupun *in vitro*. Pemaparan secara *ex vitro* dapat dilakukan untuk mutagen fisika dan kimia, yaitu tanaman utuh atau bagian tanaman dipapar dengan mutagen fisika atau kimia. Pemaparan secara *in vitro* dilakukan dengan mengkulturkan *in vitro* bagian tanaman lalu dapat dipapar dengan baik mutagen fisika, kimia, maupun biologi.

Pemaparan dengan mutagen yang dilakukan secara *in vitro* disebut juga mutagenesis *in vitro*. Kelebihan dari mutagenesis *in vitro* adalah populasi tanaman yang ditangani dapat jauh lebih banyak dan membutuhkan

ruang yang lebih kecil dibandingkan dengan mutagenesis *ex vitro*. Selain itu, pada mutagenesis *in vitro* seleksi terhadap varian-varian dengan sifat-sifat tertentu dapat langsung dilakukan secara *in vitro* juga.

Agar mutagenesis *in vitro* suatu tanaman dapat dilakukan, maka dibutuhkan dua syarat. Pertama, sistem regenerasi *in vitro* tanaman tersebut sudah diperoleh. Kedua, sistem paparan terhadap mutagen sudah diperoleh. Pada tanaman tebu, sejumlah laporan mutagenesis *in vitro* menggunakan sistem regenerasi *in vitro* dengan jalur embriogenesis somatik melalui pembentukan kalus. Pada jalur ini, eksplan dirangsang untuk membentuk kalus embriogenik yang mengalami proliferasi secara terus-menerus, lalu kalus dirangsang untuk menjadi embrio somatik, selanjutnya embrio somatik dirangsang untuk menjadi tanaman. Dengan sistem tersebut, lalu sistem paparan terhadap mutagen diaplikasikan.

Meskipun sistem embriogenesis somatik *in vitro* tanaman tebu sudah dilaporkan oleh sejumlah peneliti, tetapi oleh karena efektivitas sistem kultur *in vitro* seringkali bergantung pada sifat genetik tanaman, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan sistem tersebut pada tanaman tebu yang bergenotipe lain. Zat

pengatur tumbuh (ZPT) merupakan faktor kunci efektivitas sistem kultur *in vitro* tanaman.

Tujuan

Buku ini ditulis untuk membahas:

1. Sistem embriogenesis somatik *in vitro* tanaman tebu dan faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitasnya. Untuk itu pertama-tama diuraikan mengenai kultur *in vitro* tanaman secara umum, lalu kultur *in vitro* khusus tanaman tebu menurut hasil penelitian penulis, selanjutnya diulas mengenai pengaruh ZPT terhadap efektivitas embriogenesis somatik *in vitro* tanaman tebu.
2. Sistem paparan kultur *in vitro* tebu dengan mutagen fisika yang berupa sinar gamma. Untuk itu pertama-tama diuraikan mengenai sistem paparan dengan sinar gamma menurut hasil penelitian penulis, dilanjutkan dengan ulasan mengenai mutagenesis *in vitro* tanaman tebu.

Dalam buku ini juga diuraikan mengenai botani dan genetika tanaman tebu untuk memberikan informasi yang mendasari atau melengkapi uraian dan ulasan mengenai dua hal di atas.

2 BOTANI dan GENETIKA TANAMAN TEBU

Nama *Saccharum officinarum* diberikan oleh Carolus Linnaeus pada th 1753 dalam bukunya “Species Plantarum”. Nama genus *Saccharum* berasal dari kata dalam bahasa Yunani *Shakcharon* yang berarti gula. Buku “Species Plantarum” tersebut mengulas dua spesies, yaitu *Saccharum officinarum* L. dan *S. spicatum* L., yang belakangan ini diklasifikasikan ke dalam genus *Perotis*, yaitu *P. spicata* (L.) T. Durand and H.Durand) (Dillon *et al.*, 2007). Tanaman tebu (*S. officinarum*) dipercaya berasal dari hasil introgresi yang kompleks antara *S. spontaneum*, *Erianthus aruninaceus* dan *Miscanthus sinensis* (Daniels dan Roach, 1987), walaupun dari sumber yang lain disebutkan berasal dari *S. robustum* (Amalraj dan Balasundaram, 2006). Nama tebu (*sugarcane*) disebut juga dengan julukan tongkat ungkul (*noble cane*).

Secara taksonomi, genus *Saccharum* digolongkan ke dalam ordo Poales, famili rumput-rumputan (Poaceae), sub-famili Panicoideae, suku Andropogoneae dan sub-suku (grup) Saccharineae. Dalam grup ini tanaman tebu

termasuk berkerabat dekat dengan sorghum (*Sorghum bicolor*) dan anggota famili Poaceae lainnya yaitu *Erianthus* and *Miscanthus* (Amalraj dan Bala-Sundaram, 2006). Taksonomi dan filogeni tanaman tebu sangat kompleks. Hal ini karena tercatat ada enam genera tanaman yang memiliki karakteristik hampir sama, sehingga membentuk suatu grup tanaman hasil *interbreeding*, oleh karena itu disebut dengan *Saccharum* complex. Genus-genus tanaman yang termasuk dalam *Saccharum* complex tersebut adalah *Saccharum*, *Erianthus*, *Miscanthus*, *Narenga*, dan *Schlerostachya* (Daniels dan Roach, 1987).

Genus-genus tersebut dicirikan oleh poliploiditas dengan level tinggi dan ketidakseimbangan jumlah kromosom (aneuploiditas), sehingga menyebabkan sulitnya menentukan taksonominya. Poliploiditas adalah keadaan dimana sel-sel suatu organisme memiliki lebih dari sepasang kromosom. Pada organisme yang diploid, setiap set kromosomnya berasal dari dua tetuanya, yaitu satu set dari ibu dan satu set dari ayah. Analisis molekuler yang dilakukan oleh Hodkinson *et al.* (2002) menghasilkan usulan agar taksonomi tanaman tebu direvisi, mengingat ditemukannya banyak divisi yang bersifat polifiletik. Tanaman dengan sifat polifiletik terdiri dari beberapa tanaman yang dikelompokkan menjadi satu grup, namun

tanaman-tanaman tersebut berasal dari nenek moyang terdekat yang sama.

Menurut D'Hont *et al.* (1998), genus *Saccharum* terdiri dari enam spesies, yaitu *Saccharum spontaneum*, *S. officinarum*, *S. robustum*, *S. edule*, *S. barberi*, dan *S. sinense*. Namun Irvine (1999) mengusulkan bahwa keenam spesies tersebut sebaiknya digrupkan menjadi dua spesies saja yaitu *S. officinarum* (yang terdiri dari *Saccharum officinarum*, *S. robustum*, *S. edule*, *S. barberi*, dan *S. sinense*) dan *S. spontaneum*. Usulan Irvine tersebut didasarkan oleh didapatkannya kenyataan bahwa kelima spesies tersebut memiliki banyak kesamaan dan tidak dijumpai perbedaan karakter yang khas yang membedakannya menjadi spesies yang berbeda, serta terjadinya interfertilitas dari kelima spesies tersebut.

Morfologi

Tanaman tebu (Gambar 2.1) terdiri dari beberapa bagian utama, yaitu batang, daun, bunga, biji dan sistem perakaran.

Batang. Tidak seperti kebanyakan rerumputan, batang tebu berbentuk silinder tegak, padat seperti tongkat yang terdiri dari ruas-ruas dan buku-buku yang merupakan tempat duduknya daun. Pada dasar buku terdapat sehelai

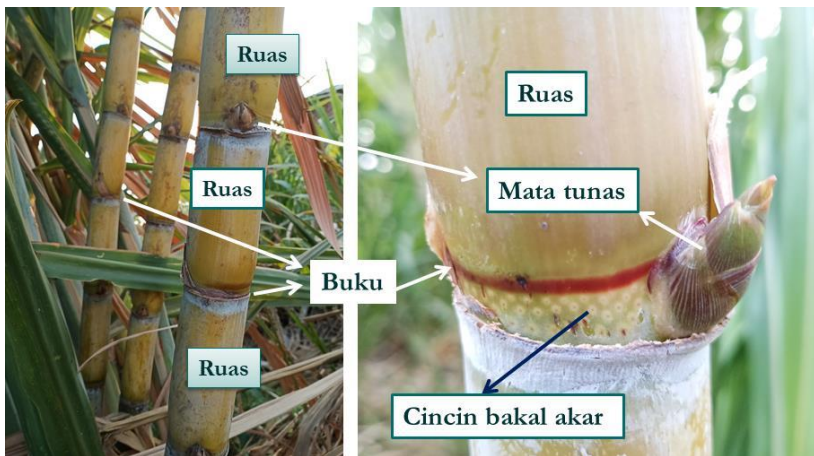
daun yang pelepahnya menutupi batang sehingga membentuk susunan daun berselang-seling pada permukaan batang.



Gambar 2.1 Sosok tanaman tebu: a. Tanaman muda; b, c. Tanaman lebih tua dengan bagian batang bagian bawah tidak tertutup pelepah daun.

Semakin tua batang, daun yang menempel akan makin tua dan mengering, lalu mengelentek, sehingga memperlihatkan batang tebu yang beruas dan berbuku-buku di bagian bawah hingga ketinggian tertentu (Gambar 2.2). Pada setiap bukunya terdapat mata tunas dan cincin bakal akar yang apabila batang disetek, dari mata tunas akan tumbuh tunas, sedangkan dari bakal akar akan tumbuh akar.

Bentuk ruas di antara dua buku batang berbagai jenis tebu berbeda-beda, yaitu : silindris, cembung di dua sisi seperti tong, cekung ke dalam di kedua sisi, kerucut, kerucut terbalik, atau cekung sejajar dengan arah selang-seling.



Gambar 2.2 Batang tebu terdiri atas ruas-ruas dan buku-buku. Di atas setiap buku batang tebu terdapat satu mata tunas, yang di sekelilingnya melingkar cincin bakal akar.

Daun. Daun tebu terdiri dari pelepah daun yang menempel dan menutupi ruas-ruas batang (Gambar 2.3a) dan helaian daun berbentuk pita, bertulang sejajar (Gambar 2.3b) yang memanjang hingga mencapai 1 m dengan lebar 5 – 7 cm. Daun berpangkal pada buku-buku dan pelepahnya melekat pada ruas-ruas batang ketika

batang masih muda, tersusun secara berselang-seling. Pelepah yang menempel pada batang muda di antaranya berfungsi melindungi mata tunas yang masih muda. Pada pelepah daun tebu terdapat bulu bidang punggung dan telinga bagian dalam yang bentuknya berbeda-beda antar varietas tebu yang berbeda, sehingga dapat digunakan sebagai penciri varietas tebu di samping karakter-karakter unik lainnya.

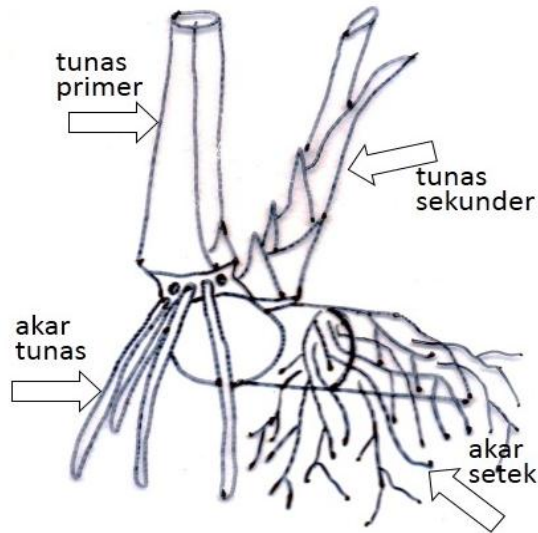


Gambar 2.3 Daun tebu terdiri dari: a. pelepah daun yang menempel dan menutupi ruas-ruas batang dan b. helaian daun bertulang sejajar.

Akar. Sebagaimana tanaman anggota monokotil lainnya, tebu memiliki akar serabut yang terdiri dari dua jenis akar,

yaitu akar setek (*sett roots*) dan akar tunas (*shoot roots*) (Gambar 2.4). *Sett roots* dihasilkan dari primordia akar di dasar setek setelah setek ditanam dan ditutup dengan tanah. Akar jenis ini biasanya tipis dan bercabang banyak dan aktif selama periode tertentu. Akar setek ini berfungsi untuk mensuplai air dan nutrisi yang dialirkan ke tunas yang tumbuh dari setek. Setelah beberapa lama, akar setek ini akan mati, namun terbentuk akar-akar baru dari sekeliling buku-buku terbawah dari tunas yang tumbuh dari setek (Gambar 2.4). Oleh karena itu akar itu disebut akar tunas atau *shoot roots*. Akar-akar tunas inilah yang nantinya akan menyangga batang tebu yang terus tumbuh meninggi, yaitu akar dari buku-buku terbawah akan menghujam ke bawah, sedangkan akar dari sekeliling buku bagian atas akan tumbuh mencuat ke permukaan tanah. Akar tunas tebu ini morfologinya tebal, sedikit bercabang dan bersifat permanen.

Bunga dan Biji. Tanaman tebu akan berbunga jika sudah mencapai fase tanaman dewasa, yaitu ketika tanaman tebu berumur 10 - 12 bulan. Infloresens bunga (*tassel, arrow*) atau malai bunga tebu terdiri dari tangkai dan malai bunga bercabang terbuka berbentuk seperti anak panah, keduanya menjulang sepanjang 50-150 cm di ujung batang (Gambar 2.5).



Gambar 2.4 Perakaran tebu terdiri dari akar setek dan akar tunas.

Pada setiap malai bunga terdapat beberapa ribu bunga kecil yang tersusun secara *rasemosa*, yaitu bunga tertua terletak di bagian bawah, dan bunga yang lebih muda di bagian atas. Bunga tebu adalah bunga sempurna yang terdiri dari bunga betina dan bunga jantan, namun tidak semua varietas mempunyai pollen yang fertil. Masing-masing bunga berpotensi membentuk biji. Biji tebu sejatinya adalah buah yang sulit dipisahkan dari bijinya.



Gambar 2.5 Infloresens bunga tebu yang terdiri dari tangkai dan malai bunga berbentuk seperti anak panah, yang padanya terdapat ribuan bunga.

Pembungaan

Untuk tujuan pemuliaan, upaya untuk meningkatkan keragaman genetik pada tebu dapat dilakukan diantaranya melalui hibridisasi. Hibridisasi bisa dilakukan jika tanaman tebu berbunga. Pembungaan tanaman tebu umumnya dilakukan menggunakan lingkungan khusus terkontrol yang disebut dengan bangsal fotoperiod (BF), yaitu suatu bangunan yang tinggi (dari lantai ke plafon berjarak 8,75 cm), terdiri dari ruang-ruang yang suhu dan pencahayaan yang dapat diatur untuk memberi lingkungan mikro tanaman tebu agar dapat berbunga secara bersamaan, sehingga dapat dilakukan hibridisasi. BF juga dilengkapi dengan rel yang dapat memudahkan pemindahan tanaman tebu dalam pot ke luar BF.

Genetika

Tanaman tebu mempunyai karakter genetik yang sangat kompleks. Semua genotipe dalam genus *Saccharum* dilaporkan sebagai poliploid dengan level ploidi yang tinggi, yang berkisar antara 6 hingga 16. Itu sebabnya, genus *Saccharum* digolongkan sebagai tanaman ber-genom paling kompleks (Manners *et al.*, 2004). Di samping poliploid, tebu juga merupakan tanaman yang sangat heterozigot dengan jumlah kromosom sangat beragam, sehingga tergolong sebagai tanaman paling sulit dirakit dipandang dari segi pemuliaan tanaman.

Beberapa literatur terdahulu (Panje and Babu, 1960; D'Hont *et al.*, 1998; Piperidis *et al.*, 2010) menyatakan bahwa tipe sitologi atau jumlah kromosom di dalam sel masing-masing spesies tebu berbeda-beda, dimana *S. officinarum* memiliki jumlah kromosom $2n = 80$, *S. spontaneum* $2n = 40-128$, *S. barberi* $2n = 111-120$, *S. sinense* $2n = 81-124$, *S. edule* $2n = 60 - 80$, dan *S. robustum* $2n = 60$ atau $2n = 80$. Menurut Sreenivasan *et al.* (1987), jumlah kromosom dasar atau jumlah kromosom monoploid di dalam sel berbagai spesies tebu tersebut adalah berkisar dari 5, 6, 8, 10 atau 12. Jumlah kromosom dasar *S. spontaneum* adalah 8 (walaupun di lapangan dijumpai berbagai ragam tipe sel), dan jumlah kromosom

dasar *S. officinarum* adalah 10. Untuk tiga spesies *Saccharum* lainnya, yaitu *S. sinense*, *S. barberi*, and *S. edule*, belum ada konsensus terkait jumlah kromosom dasarnya, karena didapati fakta bahwa ketiganya adalah kultivar awal dari hibrida antarspesies. Namun, menurut Ming *et al.* (1998), jumlah kromosom dasar ketiga spesies tersebut (*S. sinense*, *S. barberi*, and *S. edule*) kemungkinan bisa juga berjumlah 10. Menurut D'Hont *et al.* (1996) kultivar-kultivar tebu modern adalah aneuploid, hibrida interspesifik dengan jumlah kromosom berkisar antara $2n=100$ hingga 130, yang terdiri dari 70-80% *S. officinarum*, 10-20% *S. spontaneum* dan 10% kromosom rekombinan dari kedua spesies tersebut.

3

KULTUR *In Vitro* TANAMAN

Kultur *in vitro* tanaman adalah suatu teknik mengkulturkan *in vitro* bagian tanaman secara aseptik dalam media kultur yang bernutrisi lengkap pada kondisi lingkungan terkontrol agar tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh atau menjadi struktur tertentu. Jadi tujuan kultur *in vitro* tidak selalu untuk menghasilkan tanaman utuh, tetapi dapat juga misalnya berupa akar, tunas, atau kalus yang tumbuh dengan cepat. Nutrisi pada umumnya sama dengan yang dibutuhkan oleh tanaman di lapangan. Kondisi lingkungan yang perlu dikontrol, pada umumnya adalah suhu dan cahaya.

Bagian tanaman yang dikulturkan dapat berupa potongan daun, potongan akar, ujung tunas bermeristem, potongan batang berbuku, hipokotil, kotiledon dan lain-lain, yang biasanya berukuran kecil. Dapat juga yang dikulturkan itu berupa protoplas, yaitu sel tanaman yang dindingnya sudah diambil secara enzimatik. Istilah kultur jaringan tanaman (*plant tissue culture*) juga mempunyai arti

yang sama dengan kultur *in vitro* tanaman (*in vitro culture of plants*), dan tampaknya lebih populer. Namun demikian, pada tulisan ini digunakan istilah kultur *in vitro* sebab lebih menggambarkan kondisi yang sesungguhnya. Pada istilah kultur jaringan, secara harfiah berarti yang dikulturkan adalah jaringan, padahal bisa saja berupa sel, protoplas, kalus, atau organ (misalnya kultur anter, kultur polen, dan kultur embrio). Tetapi pada istilah kultur *in vitro*, jelas-jelas kondisinya memang *in vitro* dan yang dikulturkan bisa bagian apa saja dari tanaman.

Berdasarkan definisi di atas maka kultur *in vitro* mempunyai ciri-ciri yaitu: *in vitro*, aseptik, nutrisi lengkap, dan kondisi terkontrol. *In vitro* secara harfiah artinya dalam tabung. Itu bisa berarti dalam botol atau wadah gelas lain atau wadah plastik. Aseptik artinya tidak terdapat mikroorganisme kontaminan. Ada istilah lain yang terkait dengan kultur aseptik ini, yaitu kultur aksenik, yang berarti tidak terdapat mikroorganisme yang tidak dikehendaki. Nutrisi lengkap artinya media kultur berisi hara-hara mineral esensial, yaitu hara makro dan hara mikro yang dibutuhkan tanaman untuk tumbuh dan berkembang secara normal. Hanya saja karena bagian tanaman yang dikulturkan (eksplan) biasanya berukuran sangat kecil, maka di samping mengandung nutrisi esensial yang lengkap, media kultur harus diberi sumber

energi dalam bentuk gula (misalnya sukrosa atau glukosa) dan seringkali perlu ditambah dengan beberapa zat organik lain, misalnya vitamin dan asam amino.

Kondisi kultur yang terkontrol artinya kondisi suhu dan pencahayaan yang bisa diatur. Suhu ruang kultur umumnya diatur pada kisaran 24°C hingga 28°C. Cahaya disuplai dalam intensitas, kualitas, dan periodisitas tertentu. Pada umumnya cahaya disuplai untuk menyerupai kebutuhan cahaya oleh tanaman di lapang, walaupun dalam praktik jauh dari kondisi di lapang. Ada satu ciri lagi yang tidak tertera pada definisi, yaitu hampir selalu dibutuhkan zat pengatur tumbuh (ZPT). Bahkan, sering kali peran ZPT sangat krusial. Jika faktor-faktor lain optimum, maka ZPT sering menjadi penentu keberhasilan kultur *in vitro*.

Sejak dipraktikkan pada sekitar tahun 1940-an, kultur *in vitro* paling banyak dimanfaatkan untuk membiakkan tanaman secara vegetatif dalam waktu cepat untuk menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah besar. Skalanya ribuan, bahkan bisa jutaan. Karena tanaman dibiakkan secara vegetatif, maka populasi tanaman yang dihasilkan secara genetik sama, dan sama dengan induknya (*true-to-type*). Kultur *in vitro* juga dimanfaatkan untuk menghasilkan bibit-bibit tanaman yang bebas

patogen melalui kultur meristem. Seiring dengan kemajuan di bidang fisiologi, genetika, pemuliaan, dan biologi molekuler, kultur *in vitro* dimanfaatkan untuk memfasilitasi pemuliaan tanaman melalui seleksi *in vitro*, variasi somaklon, kultur tanaman haploid, mutasi dan rekayasa genetika. Pada Bab ini diuraikan mengenai kultur *in vitro* tanaman secara ringkas. Untuk uraian yang lengkap dapat dibaca pada tulisan Hapsoro dan Yusnita (2016, 2018).

Dari Totipotensi Menuju Regenerasi

Kultur *in vitro* tanaman memanfaatkan fenomena biologi, yaitu regenerasi, yang merupakan salah satu ciri penting dari makhluk hidup. Regenerasi artinya proses membentuk sesuatu yang baru. Maknanya kurang lebih sama dengan reproduksi, diproduksi lagi. Karena diproduksi lagi, tentunya hasilnya bersifat baru.

Jika tanaman padi berbunga, lalu menghasilkan banyak biji, biji jatuh ke tanah lalu berkecambah, dan kecambah-kecambah itu menjadi tanaman-tanaman, maka tanaman padi itu menjalani proses regenerasi. Jika tanaman singkong tumbuh menjadi besar, lalu batangnya dipotong-potong menjadi setek-setek, lalu setek ditanam dan keluar tunas-tunasnya, maka tanaman singkong itu

juga mengalami regenerasi. Pada tanaman tingkat tinggi, jika sel-sel reproduksi mengalami pembelahan meiosis, lalu dihasilkan sel-sel gamet, yang merupakan sel-sel haploid (n -kromosom), lalu sel-sel gamet itu menyatu dengan sel-sel gamet dari tanaman lain membentuk zigot ($2n$ -kromosom), zigot berkembang menjadi embrio, embrio menjadi tanaman, maka sel-sel tersebut mengalami regenerasi.

Jadi, tanaman baru (generasi baru) dapat berasal dari bagian tubuh tanaman tetuanya, generasi sebelumnya. Tanaman padi generasi baru berasal dari biji yang dihasilkan tanaman tetuanya. Tanaman singkong generasi baru berasal dari setek dari tanaman singkong tetuanya. Pada level sel, tanaman juga dapat tumbuh dan berkembang dari sel, misalnya sel zigot (hasil perpaduan gamet jantan dan betina).

Pada awal abad ke-19, Schwann & Schleiden, ahli botani, menggagas teori totipotensi. Teori ini menyatakan bahwa sel tanaman mempunyai perangkat fisiologi dan genetika yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika berada dalam kondisi yang sesuai. Teori totipotensi sangat inspiratif bagi para ahli biologi sehingga mendorong mereka untuk membuktikan teori itu. Namun demikian perlu waktu yang sangat lama,

yaitu kurang lebih satu abad, sebelum akhirnya teori tersebut dibuktikan. Baru sekitar tahun 1930-an beberapa ilmuwan dari laboratorium yang berbeda berhasil membuktikan teori itu. Berkat penemuan filter HEPA (*high efficiency particulate air*) pada tahun 1940, hormon auksin dan sitokinin antara tahun 1940-an dan 1950-an, dan media MS (Murashige dan Skoog, 1962) kultur *in vitro* tanaman berkembang sangat pesat.

Filter HEPA, yang dipasang di *laminar air flow cabinet*, sangat krusial untuk kerja aseptik. Filter ini tidak bisa ditembus oleh partikel-partikel yang diameternya lebih dari 0,3 μm (mikro meter). Jadi organisme seperti bakteri tidak dapat masuk ke ruang sterilisasi, sehingga terjaga tetap steril. Demikian juga hifa dan spora cendawan tidak dapat masuk.

Penemuan dua zat pengatur tumbuh (ZPT), yaitu auksin dan sitokinin, menyebabkan proses regenerasi tanaman menjadi lebih mudah. Penemuan kedua ZPT itu lalu diikuti dengan temuan Skoog dan Miller (1957) bahwa auksin dan sitokinin memainkan peran kunci dalam regenerasi tanaman. Mereka menekankan pentingnya nisbah auksin/sitokinin pada regenerasi tanaman *in vitro*. Nisbah auksin/sitokinin tinggi mendorong pembentukan akar. Nisbah auksin/sitokinin rendah mendorong

pembentukan tunas. Nisbah auksin/sitokinin yang tidak tinggi dan tidak rendah menyebabkan pembentukan kalus. Hasil tersebut juga bermakna bahwa auksin merangsang pembentukan akar, sedangkan sitokinin merangsang pembentukan tunas.

Media MS adalah media temuan Murashige dan Skoog (1962). Walaupun pada saat dicobakan media MS menggunakan sistem kultur *in vitro* empulur tembakau, namun hingga kini media ini ternyata cocok untuk kultur *in vitro* banyak tanaman sehingga mempermudah banyak peneliti untuk melaksanakan kultur *in vitro*. Jika dirasa perlu, sejumlah peneliti pada umumnya melakukan modifikasi terhadap media MS, bukan membuat komposisi media yang benar-benar baru.

Axillary Branching, Organogenesis, dan Embriogenesis

Ada tiga jalur regenerasi pada kultur *in vitro* tanaman, yaitu *axillary branching*, organogenesis, dan embriogenesis. Tiga jalur tersebut semuanya dimulai dari eksplan. Eksplan adalah bagian tanaman yang dikulturkan untuk memulai kultur *in vitro*.

Pada jalur *axillary branching*, eksplan yang digunakan adalah batang atau cabang yang mengandung mata tunas atau meristem ujung. Eksplan seperti ini bisa

berupa batang berbuku, atau tangkai bunga berbuku (pada anggrek), atau ujung tunas. Pada jalur ini eksplan dirangsang untuk membuat tunas majemuk (*multiple shoots*). Media yang digunakan untuk ini hampir selalu mengandung zat pengatur tumbuh sitokinin. Beberapa peneliti mengombinasikannya dengan auksin konsentrasi rendah. Masing-masing tunas bisa menjadi sumber eksplan yang baru. Begitu seterusnya hingga dihasilkan tunas-tunas dalam jumlah banyak yang dikehendaki. Masing-masing tunas lalu dirangsang untuk membentuk akar dengan ZPT auksin atau tanpa ZPT, *in vitro* atau *ex vitro*. Tanaman kecil yang terbentuk (disebut planlet), kemudian diaklimatisasi agar dapat tumbuh pada kondisi lapang. Jalur ini banyak dimanfaatkan untuk membiakkan tanaman secara vegetatif untuk menghasilkan bibit yang *true-to-type* dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat.

Pada jalur organogenesis, tidak seperti pada jalur *axillary branching*, eksplan yang digunakan adalah bagian tanaman yang tidak mengandung bagian yang bermeristem (misalnya tunas). Eksplan yang dapat digunakan misalnya potongan daun, potongan cabang, hipokotil, epikotil, kotiledon, dan lain-lain. Pada jalur ini, eksplan dirangsang untuk membentuk tunas di media yang pada umumnya, mengandung ZPT sitokinin.

Kemudian tunas-tunas yang terbentuk dirangsang untuk membentuk akar di media yang mengandung ZPT auksin. Lalu planlet yang terbentuk diaklimatisasi. Jalur ini disebut organogenesis sebab jalur ini melalui pembentukan organ, yaitu tunas. Jalur *axillary branching* juga melalui pembentukan organ (tunas), tetapi tidak dinamakan jalur organogenesis, sebab tunas yang terbentuk sebetulnya sudah ada sebelum pengulturan (*pre-existing*), yaitu berupa mata-mata tunas. Jadi tunas-tunas tidak dibentuk *de novo* (dibentuk baru). Pada organogenesis, tunas-tunas dibentuk *de novo*.

Pada jalur embriogenesis, eksplan dirangsang untuk membentuk embrio. Embrio ini disebut embrio somatik karena berkembang dari sel-sel somatik. (Embrio yang berkembang dari zigot disebut embrio zigotik). Seperti pada organogenesis, eksplan yang digunakan adalah bagian tanaman yang tidak mengandung jaringan meristematik misalnya potongan daun, hipokotil, epikotil, kotiledon, dan lain-lain. Untuk mendorong embriogenesis somatik, media yang digunakan pada umumnya mengandung auksin. Pada embriogenesis, embrio dibentuk baru (*de novo*). Embrio somatik lalu dikecambahkan untuk membentuk tanaman utuh. Atau, embrio somatik dirangsang untuk membuat tunas pada media yang

mengandung sitokinin. Tunas-tunas lalu diakarkan pada media yang mengandung auksin.

Organogenesis dan embriogenesis yang diuraikan di atas terjadi secara langsung. Artinya, tunas atau embrio langsung terbentuk dari eksplan. Namun demikian, kedua jalur tersebut dapat terjadi secara tidak langsung. Dalam hal ini dari eksplan terbentuk kalus (struktur yang terdiri atas se-sel yang membelah diri secara cepat), baru kemudian dari kalus terbentuk tunas atau organ. Jadi, jalur yang ditempuh adalah eksplan, kalus, organ, lalu tanaman pada organogenesis tidak langsung dan eksplan, kalus, embrio, lalu tanaman untuk embriogenesis tidak langsung.

4

KULTUR *In Vitro* TANAMAN TEBU

Sejauh ini kultur *in vitro* tanaman tebu bertujuan untuk memperbanyak klonal dan mendukung pemuliaan. Perbanyak klonal dengan kultur *in vitro* bertujuan untuk menghasilkan bahan tanaman (bibit) yang secara genetik sama (*true-to-type*) dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat. Hal ini bermanfaat terutama untuk mengganti klon lama dengan klon baru dalam skala luas. Atau, hal ini bermanfaat untuk penanaman pada lahan baru skala luas. Dalam hal pemuliaan, kultur *in vitro* dapat digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik, seleksi, dan memperbanyak individu atau sekelompok tanaman hasil pemuliaan untuk menjadikannya sebagai klon atau varietas baru.

Kultur *in vitro* untuk meningkatkan keragaman genetik dan seleksi pada umumnya menggunakan jalur regenerasi embriogenesis tidak langsung, yaitu yang melalui kalus. Jalur yang ditempuh adalah dari eksplan terbentuk kalus primer, kalus primer berkembang menjadi

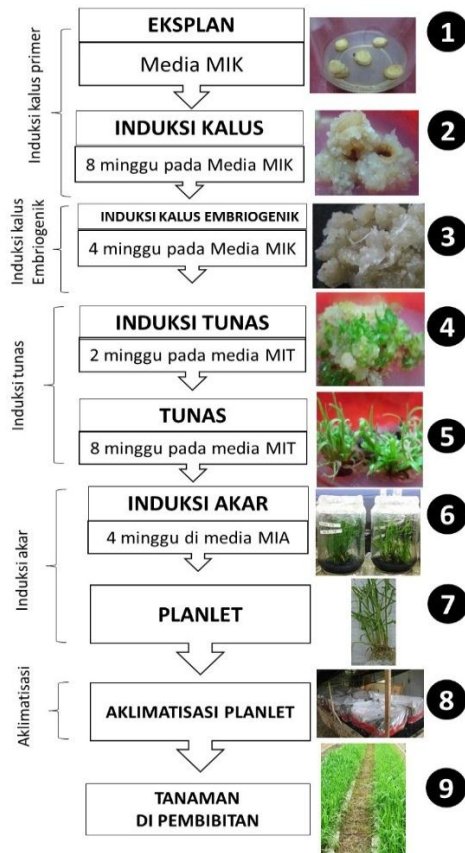
kalus embriogenik, kalus embriogenik memperbanyak diri dan membentuk embrio somatik, embrio somatik beregenerasi menjadi tanaman, dan aklimatisasi planlet.

Secara garis besar, urutan pekerjaan kultur *in vitro* tanaman tebu diperlihatkan pada Gambar 4.1.

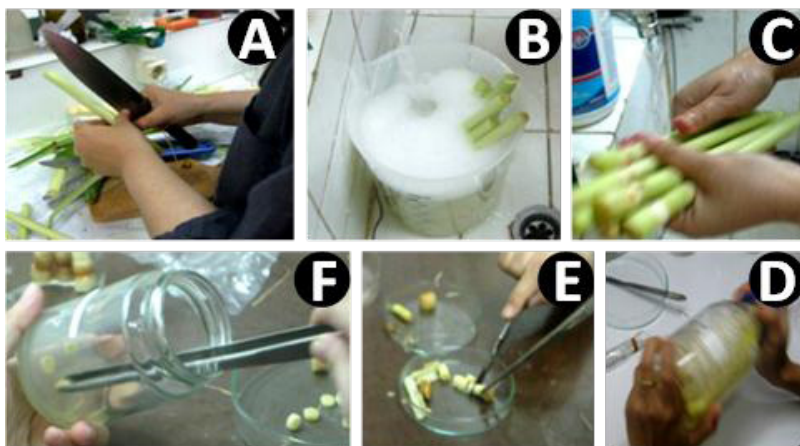
Persiapan dan Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah gulungan daun muda dan cara menyiapkannya telah diuraikan dalam Hapsoro *et al.*, (2012; 2018) (Gambar 4.2). Eksplan diambil dari bagian pucuk tebu. Batang tebu dipotong dari bagian pucuk sepanjang kurang lebih 15 cm. Lalu daun-daun dilepaskan dari batangnya sampai ke bagian buku-buku dan tidak menyisakan lembaran daun. Sampai di sini dihasilkan potongan pucuk tebu yang panjangnya kurang lebih 15 cm dan diameternya 1,5 cm. Potongan pucuk lalu direndam dalam larutan detergen, dikocok sebentar, lalu dibilas dengan air mengalir dari kran sampai bersih dari sisa-sisa detergen.

Beberapa daun dilepaskan sampai ukuran diameter pucuk tebu 0,5-1 cm. Di *laminar air flow cabinet* (LAFC) pucuk tebu dikocok 30 detik dalam larutan alkohol 70%, dikocok 10 menit dalam larutan sodium hipoklorit



Gambar 4.1 Tahapan kultur *in vitro* tebu melalui embriogenesis: induksi kalus primer dan kalus embriogenik, induksi tunas, induksi akar, dan aklimatisasi. 1) Eksplan dikulturkan pada media induksi kalus (MIK). 2) Kalus primer pada 8 minggu setelah tanam. 3) Kalus embriogenik. 4) Kalus embriogenik di media induksi tunas (MIT). 5) Tunas-tunas setelah 8 minggu di media MIT. 6) Tunas-tunas secara berkelompok dipindahkan ke media induksi akar (MIA). 7) Tunas-tunas yang sudah berakar (planlet) siap diaklimatisasi. 8) Aklimatisasi planlet. 9) Tanaman tebu di pembibitan.



Gambar 4.2 Persiapan eksplan berupa gulungan daun tanaman tebu. Cara sterilisasi diuraikan dalam nas. Daun-daun diambil dari pucuk tebu (A). Pucuk tebu kemudian direndam dalam larutan detergen (B). Potongsn pucuk tebu (C) dikocok dalam larutan NaOCl (D), dan diiris-iris untuk menghasilkan gulungan daun (E). Eksplan berupa gulungan daun (tebal 4-5 cm, diameter 0,5-1 cm) ditanam pada media induksi kalus (MIK).

(NaOCl) 1,3% plus 1-2 tetes Tween-20, lalu dibilas dengan air steril minimal tiga kali. Selanjutnya pucuk tebu dikocok lagi 10 menit dalam larutan NaOCl 0,79% dan dibilas minimal tiga kali dengan air steril. Pucuk tebu lalu diiris-iris dengan ketebalan 4-5 mm. Hasilnya adalah gulungan-gulungan daun dengan diameter 0,5-1 cm untuk

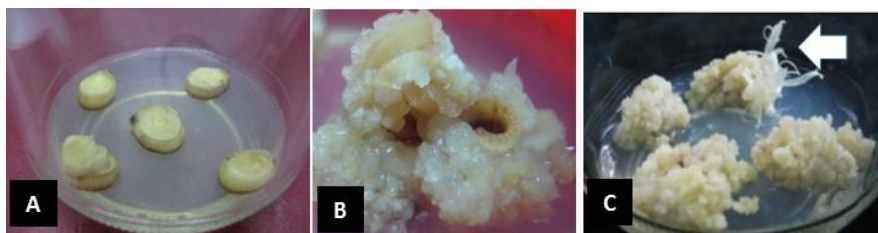
dijadikan eksplan, lalu dikulturkan pada media induksi kalus (media MIK).

Induksi Kalus Primer dan Kalus Embriogenik

Induksi kalus dilakukan sebagaimana diuraikan dalam Hapsoro et al. (2018). Media yang digunakan untuk induksi kalus adalah media induksi kalus (MIK) (Lampiran 1). Media MIK tersusun atas garam-garam mineral dari MS (Murashige and Skoog, 1962), 30 g/l sukrosa, 100 mg/l mio-inositol, 150 ml/l air kelapa, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, dan 3 mg/l 2,4-D (Hapsoro *et al.*, 2012; 2018). Keasaman media ditetapkan pada pH 5,8 dengan menambahkan HCl 0,1N atau KOH 0,1N sebelum ditambahkan 8 g/l agar-agar sebagai pematid media. Media dididihkan lalu dituangkan ke dalam botol-botol kultur yang berukuran 250 ml sebanyak 20 ml/botol. Botol ditutup dengan plastik tahan panas lalu diautoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1.5 kg/cm².

Eksplan dikulturkan pada media MIK, 5 eksplan per botol (Gambar 4.3A). Kultur lalu diinkubasi selama 8 minggu di dalam ruang kultur gelap pada suhu 26±2°C. Kalus primer yang terbentuk (Gambar 4.3B) umumnya hanya sebagian yang embriogenik. Selanjutnya kalus yang

sedang mengalami proliferasi disubkultur pada media MIK segar selama 4 minggu dengan komposisi sama untuk menginduksi kalus embriogenik (Gambar 4.3C).

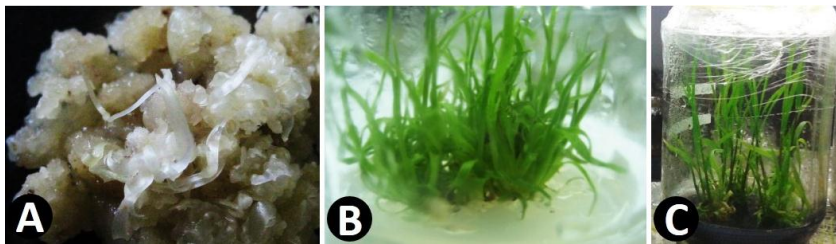


Gambar 4.3 Induksi kalus primer dan kalus embriogenik. A. Eksplan berupa gulungan daun (*leafrolls*) pada media induksi kalus (MIK). B. Kalus primer 8 MST di media MIK. C. Kalus embriogenik di media MIK. Tampak terjadi pembentukan tunas (tanda anak panah) pada kalus embriogenik. Media MIK mengandung 3 mg/l 2,4-D.

Induksi Tunas

Induksi tunas dilakukan sebagaimana diuraikan dalam Hapsoro *et al.* (2018). Kalus dari media MIK dipindahkan ke media induksi tunas (MIT) (Gambar 4.4). Media MIT (Lampiran 2) terdiri atas garam-garam mineral MS (Murashige and Skoog, 1962), 30 g/l sukrosa, 100 mg/l mio-inositol, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, dan 2,5 mg/l benziladenin (BA) (Hapsoro *et al.*, 2012;

2018). Cara pembuatan media adalah sebagaimana sudah diuraikan sebelumnya. Kalus dikulturkan dalam dompolan-dompolan (*callus clumps*) yang membentuk lingkaran dengan diameter 0,5 cm, satu dompolan per botol (ukuran 250 ml). Kultur diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan dengan pencahayaan dari lampu fluoresens kurang lebih 1000 lux dengan fotoperiodisitas 16 jam terang 8 jam gelap. Subkultur ke media yang sama dilakukan setiap 4 minggu.



Gambar 4.4 Induksi tunas pada kultur *in vitro* tanaman tebu. Kalus embriogenik (Gambar A) dikulturkan pada media induksi tunas (MIT) untuk merangsang pembentukan tunas (Gambar B). Media MIT mengandung 2,5 mg/l benziladenin (BA) (Gambar B). Kemudian tunas-tunas dikulturkan pada media induksi akar (MIA) untuk merangsang pengakaran (Gambar C). Media MIA mengandung 2 g/l arang aktif dan 5 mg/l IBA (*indolebutyric acid*) (Gambar C).

Pengakaran dan Aklimatisasi

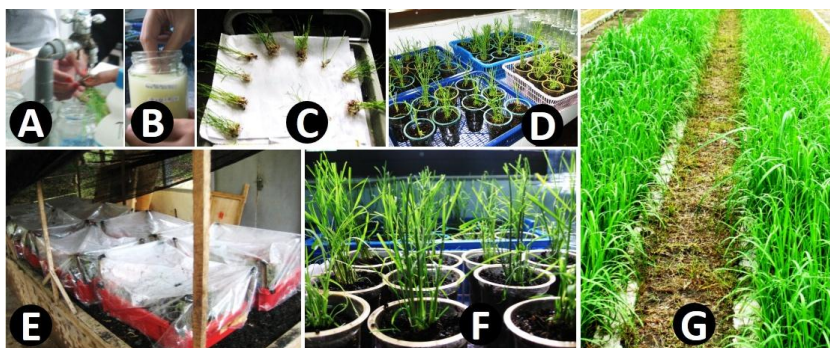
Tunas-tunas yang terbentuk pada media MIT dikulturkan selama 4 minggu pada media pemanjangan tunas (MPT) (Lampiran 3). Media MPT sama dengan media MIT kecuali bahwa media MPT tidak mengandung ZPT dan ke dalamnya ditambahkan 2 g/l arang aktif. Pengulturan pada media MPT dilakukan dalam dompolan tunas, bukan secara individual.

Tunas-tunas kemudian dikulturkan selama 4 minggu pada media induksi akar (MIA) untuk mendorong pembentukan akar. Media MIA terdiri dari atas garam-garam mineral MS (Murashige and Skoog, 1962), 30 g/l sukrosa, 100 mg/l mio-inositol, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, 5 mg/l *indolebutyric acid* (IBA), dan 2 g/l arang aktif (Hapsoro *et al.*, 2018). Pembuatan media dilakukan sebagaimana diuraikan sebelumnya. Media diletakkan di dalam botol ukuran 350 ml. Kultur diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan dengan pencahayaan dari lampu fluoresens kurang lebih 1000 lux dengan fotoperiodisitas 16 jam terang 8 jam gelap.

Setelah 4 minggu, tunas-tunas sudah berakar dan siap untuk dilakukan *hardening off*. Hal ini dilakukan dengan meletakkan kultur di bawah cahaya *diffuse* dari matahari selama 1 minggu. Misalnya kultur dapat

diletakkan di meja-meja di samping jendela laboratorium. Planlet, tetap dalam kelompok-kelompoknya, dikeluarkan dari botol kultur, lalu perakaran dicuci bersih di bawah air kran mengalir sampai bersih dari sisa-sisa media yang menempel. Bagian atas dari planlet dipotong sehingga tersisa kurang lebih 10 cm. Planlet direndam dalam larutan 2 g/l fungisida selama kurang lebih 10 menit, lalu dibilas dengan air bersih.

Dompokan planlet (*plantlet clusters*) diaklimatisasi pada media campuran pasir dan kompos (1:1, v/v) dalam pot berdiameter kurang lebih 6,5 cm, 1 dompol/pot. Tiap pot ditutup dengan plastik transparan untuk menjaga kelembapan agar cukup tinggi dan diletakkan di bawah naungan paranet. Aklimatisasi dilakukan di dalam rumah kaca. Setelah 1 minggu plastik dibuka dan tanaman dipelihara di rumah kaca selama 8 minggu. Selanjutnya tanaman, tetap dalam dompolan, dipindahkan ke media pembibitan (Gambar 4.5)



Gambar 4.5 Aklimatisasi planlet tebu hasil kultur *in vitro*. (A) Planlet dicuci dengan air kran yang mengalir sampai bersih dari sisa-sisa media agar yang menempel pada daerah perakaran. (B) Planlet dicelupkan ke dalam larutan fungisida 2%. (C) Planlet ditiriskan. (D) planlet ditanam pada pot-pot kecil dari gelas plastik. (E) Aklimatisasi. (F) Planlet yang sudah siap ditanam di pembibitan. (G) Tanaman tebu hasil kultur *in vitro* di bedeng pembibitan.

PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH PADA KULTUR *In Vitro* TANAMAN TEBU

Pada Bab 4 telah dipaparkan prosedur kultur *in vitro* tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui pembentukan kalus. Beberapa penelitian yang sama dari peneliti lain menunjukkan bahwa jalur yang ditempuh adalah jalur embriogenesis somatik. Secara teknis tahapan yang dilalui adalah sebagai berikut. Pertama induksi kalus, yang bertujuan agar terjadi pembentukan kalus pada eksplan yang dikulturkan. Kedua induksi tunas, yang bertujuan agar dari kalus terbentuk tunas-tunas. Ketiga pengakaran tunas, yang bertujuan agar tunas-tunas dapat berakar sehingga terbentuk tanaman kecil (planlet) yang lengkap, yaitu ada tajuk dan ada akar. Keempat adalah aklimatisasi, yaitu mengkondisikan planlet agar mampu hidup (*survive*) pada kondisi lapang. Empat tahap tersebut mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* tanaman tebu. Zat pengatur tumbuh berperan sangat penting pada tahap induksi kalus, induksi tunas, dan induksi akar.

Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah zat organik bukan hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan bagian-bagian tanaman atau tanaman secara keseluruhan. ZPT bisa alami maupun sintetik. ZPT alami artinya disintesis oleh tanaman, sedangkan yang sintetik tidak disintesis oleh tanaman. ZPT yang alami disebut fitohormon atau hormon. Jadi hormon pastilah ZPT. Tetapi ZPT belum tentu hormon. Yang dimaksud mempengaruhi pertumbuhan adalah bisa mendorong atau menghambat pertumbuhan. Contoh pertumbuhan adalah akar menjadi lebih panjang, batang menjadi lebih tinggi, daun menjadi lebih lebar, buah menjadi lebih besar, dan lain-lain. Demikian juga, yang dimaksud mempengaruhi perkembangan adalah bisa mendorong atau menghambat perkembangan. Contoh perkembangan adalah pembentukan bunga, pembentukan akar dari setek, pembentukan tunas dari kalus, dan lain-lain.

Pengaruh Pikloram dan 2,4-D terhadap Pembentukan Kalus

Pada kultur *in vitro* tanaman tebu, tahap pertama adalah induksi kalus primer dari eksplan. Eksplan yang digunakan adalah gulungan daun (*leaf roll*) (Bab 4). Jenis

dan konsentrasi ZPT mempengaruhi induksi kalus (Tabel 5.1). Dari Tabel 5.1 tampak bahwa peningkatan konsentrasi pikloram dari 1-4 mg/l tidak mempengaruhi bobot kalus, tetapi peningkatan pikloram sampai 5 mg/l menyebabkan peningkatan bobot kalus.

Dalam kultur *in vitro* tanaman dengan jalur embriogenesis somatik, pembentukan kalus embriogenik adalah krusial. Kalus embriogenik adalah kalus yang mempunyai potensi untuk berkembang menjadi embrio somatik, yang kemudian dapat berkembang menjadi tanaman. Kalus embriogenik dicirikan oleh struktur yang padat, berwarna keputihan, dan *opaque* (tidak transparan) (Hapsoro *et al.*, 2012; 2018). Data Tabel 5.1 menunjukkan, konsentrasi pikloram 1-4 mg/l menyebabkan pembentukan kalus embriogenik dengan persentase yang kurang lebih sama. Akan tetapi, peningkatan konsentrasi pikloram menjadi 5 mg/l menyebabkan peningkatan persentase kalus embriogenik secara signifikan (92%). Konsentrasi 2,4-D 3 mg/l menyebabkan pembentukan kalus embriogenik dengan persentase yang sama yaitu 92%. Campuran pikloram dan 2,4-D secara umum menyebabkan penurunan persentase kalus embriogenik.

Tabel 5.1 Pengaruh dua jenis ZPT, campuran ZPT dan konsentrasinya terhadap bobot kalus, dan persentase kalus embriogenik pada kultur *in vitro* tanaman tebu.

Perlakuan ZPT	Bobot Kalus pada 4 MST (gram)	Persentase Kalus Embriogenik pada 8 MST (%)
Pikloram 1 mg/l	0,88 a	75 bc
Pikloram 2 mg/l	1,06 a	67 b
Pikloram 3 mg/l	1,16 a	67 b
Pikloram 4 mg/l	0,87 a	75 bc
Pikloram 5 mg/l	1,68 b	92 c
2,4-D 3 mg/l	1,17 a	92 c
Pikloram 2 mg/l + 2,4-D 1 mg/l	0,87 a	67 b
Pikloram 1 mg/l + 2,4-D 2 mg/l	0,81 a	42 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata menurut uji-BNT0,05.

Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pembentukan kalus disajikan pada Tabel 5.2. Dari Tabel 5.2 tampak bahwa keberadaan 2,4-D dalam media esensial untuk pembentukan kalus primer pada eksplan tebu yang berupa gulungan daun. Tanpa 2,4-D, kalus tidak terbentuk sama sekali. Pemberian 2,4-D 1 mg/l dalam media MS merangsang pembentukan kalus. Peningkatan konsentrasi 2,4-D menyebabkan kenaikan bobot kalus. Bobot kalus tertinggi diperoleh dengan konsentrasi 2,4-D 3 mg/l.

Tabel 5.2. Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pembentukan kalus pada kultur *in vitro* tanaman tebu

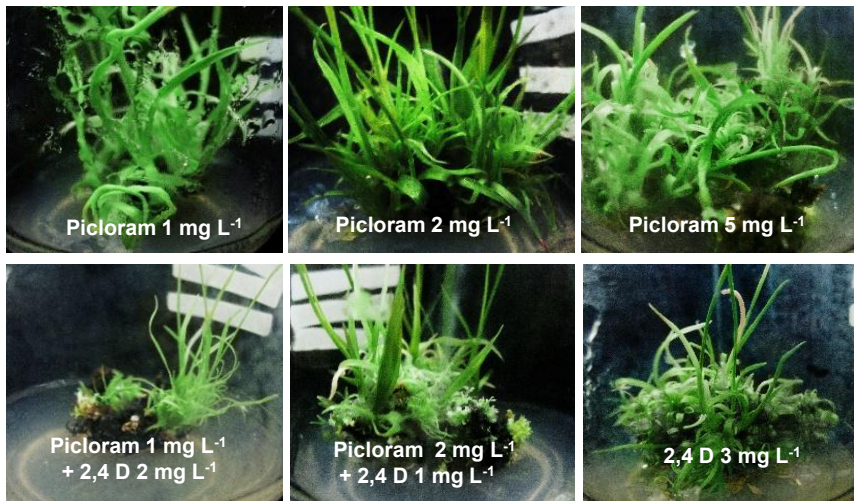
2,4-D (mg/l)	Skor Bobot Kalus *)
0	0,0 d
1	1,6 c
2	2,9 b
3	3,8 a

Keterangan: *) angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT0.05. Angka merupakan nilai skor berdasarkan kriteria: skor 0 = bobot < 0,25 g. Skor 1 = bobot 0,25 g sampai dengan < 0,50. Skor 2 = bobot 0,51 g sampai dengan < 0,75 g. Skor 3 = bobot 0,75 g sampai dengan 1 g. Skor 4 = bobot > 1 g.

Pengaruh ZPT pada Media Induksi Kalus dan Konsentrasi Benziladenin terhadap Pembentukan Tunas

Kalus-kalus embriogenik kemudian disubkultur ke media induksi tunas yang mengandung sitokinin (2,5 mg/l benziladenin) (Gambar 5.1). Tabel 5.3 menunjukkan bahwa konsentrasi pikloram yang digunakan untuk menginduksi kalus mempengaruhi regenerasinya membentuk tunas pada media induksi tunas. Tampak bahwa dibandingkan dengan konsentrasi pikloram lainnya, pikloram 5 mg/l pada media induksi kalus menghasilkan persentase pembentukan tunas tertinggi yaitu 100%. Penggunaan 2,4-D 3 mg/l pada media induksi kalus juga

menghasilkan persentase pembentukan tunas yang tinggi yaitu 92%. Campuran pikloram dan 2,4-D pada media induksi kalus menghasilkan persentase pembentukan tunas yang lebih rendah dibandingkan penggunaan pikloram saja. Dari data tersebut tampak bahwa penambahan 2,4-D memberikan efek antagonistik terhadap pikloram.



Gambar 5.1. Tunas-tunas tanaman tebu yang dihasilkan dari kalus-kalus embriogenik yang dikulturkan pada media induksi tunas. Kalus-kalus diinduksi pada media induksi kalus yang mengandung zat pengatur tumbuh pikloram dan 2,4-D sebagaimana yang tertulis pada gambar.

Tabel 5.3. Pengaruh jenis ZPT dan konsentrasinya pada media induksi kalus terhadap pembentukan tunas pada media induksi tunas

Perlakuan ZPT pada media induksi kalus	Persentase kalus yang membentuk tunas pada 20 MST pada media induksi tunas (%)
Pikloram 1 mg/l	83 b
Pikloram 2 mg/l	92 b
Pikloram 3 mg/l	83 b
Pikloram 4 mg/l	50 a
Pikloram 5 mg/l	100 b
2,4-D 3 mg/l	92 b
Pikloram 2 mg/l + 2,4-D 1 mg/l	50 a
Pikloram 1 mg/l + 2,4-D 2 mg/l	50 a

Keterangan: MST=minggu setelah tanam

Hapsoro *et al.* (2012) melaporkan bahwa konsentrasi benziladenin (BA) berpengaruh terhadap jumlah tunas dan rata-rata panjang tunas. Tanpa BA, terbentuk sedikit tunas. Pemberian 0,5 mg/l BA menyebabkan peningkatan jumlah tunas. Peningkatan konsentrasi BA dari 0,5-2,5 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas. Jumlah tunas terbanyak diperoleh dengan perlakuan 2,5 mg/l BA, yaitu 36,4 tunas per clump.

Pengaruh Konsentrasi IBA terhadap Pembentukan Akar pada Tunas dan Daya Hidup Planlet pada Waktu Aklimatisasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa IBA menyebabkan peningkatan jumlah akar per tunas (Hapsoro *et al.*, 2018). Peningkatan konsentrasi IBA sampai 5 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah akar per tunas, lalu jumlah akar cenderung menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi IBA sampai 10 mg/l. Persentase hidup planlet pada waktu diaklimatisasi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi IBA sampai 7,5 mg/l, lalu menurun pada waktu konsentrasi IBA ditingkatkan menjadi 10 mg/l.

Pembahasan

Data penelitian yang dipaparkan di atas menunjukkan bahwa 2,4-D atau pikloram adalah efektif untuk induksi kalus pada kultur *in vitro* tanaman tebu. Konsentrasi 2,4-D yang efektif adalah 3 mg/l (13,6 μ M). Sedangkan konsentrasi pikloram yang efektif adalah 5 mg/l (20,7 μ M) (Tabel 5.1). Jika dibandingkan, maka 2,4-D lebih efektif daripada pikloram dalam menginduksi kalus tebu *in vitro*. Hal ini ditunjukkan oleh penggunaan konsentrasi efektif 2,4-D yang lebih rendah, yaitu 13,6 μ M, dibandingkan pikloram yaitu 20,7 μ M.

Penggunaan 2,4-D saja pada induksi tunas primer dan induksi kalus embriogenik juga dilaporkan oleh peneliti lain (Tabel 5.4).

Tabel 5.4. Nama dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang efektif pada kultur *in vitro* tanaman tebu melalui jalur embriogenesis somatik.

No.	Induksi Kalus Primer	Induksi Kalus Embriogenik	Induksi Tunas	Induksi Akar	Pustaka
1	2,4-D 4 mg/l; KIN 0,5 mg/l	2,4-D 3 mg/l; KIN 0,5 mg/l	BA 0,5 mg/l	NAA 5 mg/l	Gill <i>et al.</i> , 2004
2	2,4-D 4 mg/l	2,4-D 0,5 mg/l	KIN 2 mg/l; IBA 2 mg/l; IAA 2 mg/l	IBA 1 mg/l	Khan <i>et al.</i> , 2006
3	2,4-D 3 mg/l	2,4-D 3 mg/l	BA 2 mg/l; IBA 0,5 mg/l	IBA 1 mg/l	Abu <i>et al.</i> , 2014
4	2,4-D 2,5 mg/l	2,4-D 2,5 mg/l	BA 2 mg/l; NAA 0,5 mg/l	NAA 3 mg/l	Bahera dan Sahoo, 2009
5	2,4-D 2,5-3 mg/l	2,4-D 2,5-3 mg/l	2,4-D 1,5 mg/l	NAA 4-5 mg/l	Ali <i>et al.</i> , 2010
6	2,4-D 3 mg/l; KIN 0,2 mg/l	2,4-D 3 mg/l; KIN 0,2 mg/l	BA 4 mg/l; IBA 0,5 mg/l	NAA 3 mg/l	Bisht <i>et al.</i> , 2011

No.	Induksi Kalus Primer	Induksi Kalus Embriogenik	Induksi Tunas	Induksi Akar	Pustaka
7	2,4-D 3 mg/l; BA 0,5 mg/l	2,4-D 3 mg/l; BA 0,5 mg/l	Media tanpa ZPT	Media tanpa ZPT	Michael <i>et al.</i> , 2007
8	2,4-D 2,5 mg/l	2,4-D 2,5 mg/l	BA 2 mg/l; GA 1 mg/l	NAA 0,5 mg/l; IBA 1 mg/l	Khan <i>et al.</i> , 2015
9	2,4-D 2,5 mg/l	2,4-D 2,5 mg/l	BA 2 mg/l; IBA 0,5 mg/l	NAA 2,5 mg/l	Dinesh <i>et al.</i> , 2015
10	2,4-D 5 mg/l	2,4-D 5 mg/l	BA 1 mg/l; NAA 2 mg/l	NAA 3,5 mg/l	Ullah <i>et al.</i> , 2016
11	2,4-D 5 mg/l	2,4-D 5 mg/l	BA 2,5 mg/l	NAA 0,5 mg/l	Nawaz <i>et al.</i> , 2013
12	2,4-D 1 mg/l	2,4-D 1 mg/l	BA 2 mg/l	Tanpa ZPT	Zamir <i>et al.</i> , 2012
13	2,4-D 3 mg/l	2,4-D 3 mg/l	Tanpa ZPT	Tanpa ZPT	Basnayake <i>et al.</i> , 2011
14	2,4-D 4 mg/l + KIN 0,5 mg/l	2,4-D 4 mg/l ; KIN 0,5 mg/l	BA 0,5 mg/l	NAA 3 mg/l; IBA 2 mg/l	Singh <i>et al.</i> , 2008
15	2,4-D 2 mg/l	2,4-D 2 mg/l	BA 5 mg/l; KIN 2 mg/l; IBA 1 mg/l	NAA 1 mg/l; IBA 1 mg/l	Yasmeen <i>et al.</i> , 2013
16	2,4-D 3 mg/l	2,4-D 3 mg/l	BA 2 mg/l; NAA 0,1 mg/l	NAA 4 mg/l	Huang <i>et al.</i> , 2014

No.	Induksi Kalus Primer	Induksi Kalus Embriogenik	Induksi Tunas	Induksi Akar	Pustaka
17	2,4-D 4 mg/l	2,4-D 4 mg/l	BA 2 mg/l; KIN 0,5 mg/l; 2,4-D 1 mg/l; NAA 1 mg/l	NAA 1 mg/l; IBA 3 mg/l; KIN 0,5 mg/l	Rasul <i>et al.</i> , 2014

Walaupun beberapa peneliti menggunakan 2,4-D bersama-sama dengan sitokinin, misalnya kinetin dan benziladenin, peranan 2,4-D tampaknya sentral untuk proses embriogenesis somatik tanaman tebu. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan untuk induksi kalus primer adalah antara 1-5 mg/l, sedangkan untuk induksi kalus embriogenik adalah antara 0,5-5 mg/l (Tabel 5.4).

Pada induksi tunas, BA 2,5 mg/l adalah efektif (Hapsoro *et al.*, 2018). Peneliti lain juga menggunakan BA untuk induksi tunas. Beberapa peneliti menggunakan ZPT lain bersamaan dengan BA, misalnya kinetin, NAA, IBA, atau GA. Meskipun demikian, BA adalah esensial. Konsentrasi BA yang digunakan adalah antara 0,5-5 mg/l (Tabel 5.4). BA juga efektif untuk pembentukan dan penggandaan tunas pada kultur *in vitro* tanaman lain dan sudah dilaporkan oleh banyak peneliti. Penulis juga melaporkan efektivitas BA untuk merangsang

pembentukan dan penggandaan tunas pada kultur *in vitro* tanaman pisang (Hapsoro *et al.*, 2010; 2017), vanili (Hapsoro *et al.*, 1997;1995; 1993), anturium (Yusnita *et al.*, 2010), melinjo (Yusnita *et al.*, 2017), dan lidah mertua (Yusnita *et al.*, 2013).

Pada induksi akar, IBA 5 mg/l adalah efektif (Hapsoro *et al.*, 2018). Peneliti lain menggunakan IBA saja, NAA saja, atau NAA bersama-sama dengan IBA untuk induksi akar tebu *in vitro*. Konsentrasi IBA untuk induksi akar adalah antara 1-5 mg/l, sedangkan untuk NAA adalah antara 0,5-5 mg/l. Induksi akar juga dapat dilakukan tanpa menggunakan ZPT (Tabel 5.4).

Daya hidup planlet meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi IBA sampai 7,5 mg/l, lalu menurun pada waktu konsentrasi IBA ditingkatkan menjadi 10 mg/l (Hapsoro *et al.*, 2018). Daya hidup planlet tampaknya berkorelasi dengan jumlah akar planlet, semakin banyak semakin tinggi daya hidup planlet. Hal ini kemungkinan besar terkait dengan serapan nutrisi dari media tanam. Semakin banyak akarnya tentunya semakin banyak nutrisi yang bisa diserap.

Hapsoro *et al.* (2012) menggunakan media yang mengandung 3 mg/l 2,4-D untuk induksi kalus dan 2,5 mg/l BA untuk induksi tunas. Data respons dari beragam

jenis klon terhadap media tersebut menunjukkan bahwa meskipun responsnya beragam tetapi jumlah tunas yang dihasilkan cukup memadai untuk perbanyakan, yaitu antara 29-41,33 tunas per clump (Hapsoro *et al.*, 2012). Dengan demikian prosedur induksi kalus dan induksi tunas tersebut dapat diaplikasikan pada cukup beragam klon tebu.

Kesimpulan

1. ZPT golongan auksin yaitu 2,4-D dan pikloram, dapat menginduksi pembentukan kalus embriogenik tanaman tebu dengan menggunakan eksplan gulungan daun muda (*leaf roll*). Konsentrasi efektif 2,4-D dan pikloram untuk induksi kalus embriogenik masing-masing berturut-turut adalah 3 mg/l dan 5 mg/l.
2. Benziladenin (BA), dapat merangsang pembentukan tunas dari kalus embriogenik tebu. Konsentrasi efektif BA untuk induksi tunas adalah 2,5 mg/l.
3. *Indolebutyric acid* (IBA) dapat merangsang pembentukan akar pada tunas tebu. Konsentrasi efektif IBA untuk pengakaran tunas tebu adalah 5 mg/l.

6 KULTUR *In Vitro* UNTUK MUTASI TANAMAN TEBU MENGGUNAKAN SINAR GAMMA

Kultur *in vitro* tanaman dapat digunakan sebagai sarana pemuliaan melalui mutasi (*mutation breeding*). Pada umumnya prosedur untuk mendapat keragaman baru pada tanaman dilakukan menggunakan kultur *in vitro* dengan pola regenerasi yang melalui pembentukan kalus. Kalus dipapar dengan suatu mutagen kimia (misalnya kolkisin, etilmetilsulfonat, dll.) atau fisika (misalnya sinar X, sinar gamma, dll.), lalu diregenerasikan menjadi tanaman utuh. Karena berasal dari kalus yang dipapar dengan mutagen, maka tanaman-tanaman regeneran diharapkan merupakan mutan, yang sebagiannya mempunyai karakter baru yang diinginkan.

Regenerasi tanaman dari kalus dapat melalui embriogenesis atau organogenesis. Pada jalur embriogenesis, eksplan membentuk kalus embriogenik; kalus berdiferensiasi menjadi embrio somatik; embrio somatik berkecambah membentuk planlet; planlet kemudian diaklimatisasi. Pada organogenesis, eksplan

membentuk kalus; kalus berdiferensiasi menjadi organ (tunas); tunas membentuk akar; planlet lalu diaklimatisasi.

Sebelum dilakukan pemaparan dengan mutagen, biasanya dilakukan studi *dose-response*. Tujuannya untuk mendapatkan dosis mutagen yang tepat untuk mutasi. Dosis ini merupakan dosis subletal, biasanya merupakan LD50 (*lethal dose 50%*). Sebagai contoh, ketika dipapar dengan sinar gamma 25 Gy, kalus yang tetap embriogenik adalah 50%-nya, lainnya mati, atau tidak mati tapi tidak embriogenik. Maka LD50 untuk iradiasi sinar gamma terhadap kalus embriogenik tanaman tebu adalah 50 Gy.

Berikut disampaikan prosedur mutasi *in vitro* tanaman tebu dengan sinar gamma berdasarkan hasil penelitian kami. Prosedur mutasi ini mensyaratkan sudah diketahuinya prosedur regenerasi tanaman tebu *in vitro*, yang meliputi induksi kalus embriogenik, induksi tunas, pengakaran tunas, dan aklimatisasi planlet (Bab 4). Secara garis besar prosedur mutasi tanaman tebu disajikan pada Gambar 6.1. Persiapan eksplan beserta sterilisasinya dan prosedur induksi kalus dilakukan sebagaimana diuraikan pada Bab 4. Kalus yang tumbuh dengan baik dikulturkan selama 8 minggu pada media induksi kalus dalam cawan petri. Kalus-kalus lalu diiradiasi dengan sinar gamma LD50.



Gambar 6.1. Tahap-tahap mutasi tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) dengan iradiasi sinar gamma menggunakan sistem *in vitro*. (1) Eksplan yang berupa gulungan daun dikulturkan pada media induksi kalus. (2) Kalus yang terbentuk diiradiasi dengan sinar gamma LD50. (3) Kalus diseleksi untuk mendapatkan kalus yang hidup dan embriogenik. (4) Kalus dikulturkan pada media induksi tunas. (5) Tunas-tunas dikulturkan pada media induksi akar. (6) Planlet diaklimatisasi. (7) Tanaman-tanaman tebu teraklimatisasi, yang dipelihara di polybag.

LD50 dapat diperoleh dengan *radio sensitivity experiment* (Tabel 6.1), misalnya seperti yang dilaporkan oleh Hapsoro *et al.* (2018). Kalus-kalus embriogenik diiradiasi dengan sinar gamma (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 Gy).

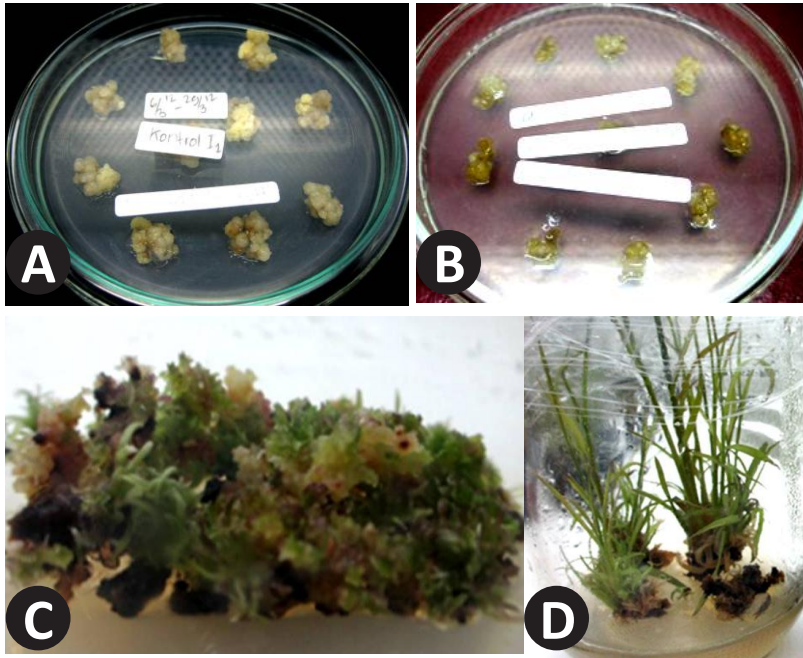
Tabel 6.1. Pengaruh dosis iradiasi sinar gamma terhadap persentase kalus yang hidup dan membentuk kalus embriogenik. Dari analisis regresi diperoleh nilai LD50=17 Gy (Hapsoro *et al.*, 2018)

Sinar Gamma (Gy)	Jumlah Clump kalus	Jumlah <i>clump</i> kalus yang mengandung kalus hidup	Persen <i>clump</i> kalus yang mengandung kalus hidup
0	60	51	85
5	120	64	53
10	100	45	45
15	100	45	45
20	100	48	48
25	80	35	44
30	110	50	45
40	80	29	36
50	120	0	0
60	90	0	0

Sehari kemudian kalus-kalus disubkultur ke media baru yang sama dan diinkubasi selama 4 minggu di ruang gelap pada suhu $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Jumlah *clump* kalus yang hidup dan membentuk kalus embriogenik dihitung untuk

mendapatkan persentasenya. Kalus-kalus embriogenik mempunyai ciri-ciri kompak, berwarna putih, dan tidak transparan (*opaque*). Eksperimen dilakukan dengan rancangan teracak lengkap dengan tiga ulangan. Setiap perlakuan terdiri atas 12 cawan petri, 10 clump kalus per cawan. Terhadap data dilakukan analisis regresi dengan memplot persentase clump kalus yang membentuk kalus embriogenik terhadap intensitas penyinaran (Tabel 6.1). Berdasarkan analisis regresi dapat ditentukan nilai LD50. Sebagaimana yang dilaporkan Hapsoro *et al.* (2018), diperoleh nilai LD50 17 Gy.

Kalus-kalus baru yang muncul dan bersifat embriogenik dipisahkan dan dikulturkan selama 4 minggu pada media baru yang sama agar memperbanyak diri. Kalus kemudian ditanam pada media induksi tunas (Bab 4) agar terbentuk tunas (Gambar 6.2). Tunas-tunas kemudian dikulturkan pada media induksi akar untuk menginduksi pembentukan perakaran. Planlet kemudian diaklimatisasi dan dipelihara di rumah kaca. Pada Gambar 6.3 menunjukkan penampilan tanaman-tanaman yang diregenerasikan dari kalus embriogenik yang diiradiasi sinar gamma.



Gambar 6.2. Perkembangan kalus embriogenik tebu (*Saccharum officinarum* L.) setelah diiradiasi dengan sinar gamma 30 Gy. A = kalus yang tidak diiradiasi yang dikulturkan pada media induksi kalus satu bulan setelah subkultur. B = kalus teriradiasi yang dikulturkan pada media induksi kalus pada umur satu bulan setelah subkultur. C = kultur kalus teriradiasi pada media induksi tunas pada kalus yang teriradiasi. D = pemanjangan tunas dari kalus yang teriradiasi sinar gamma pada media induksi tunas.



Gambar 6.3. Tanaman tebu hasil regenerasi kalus yang diiradiasi dengan sinar gamma (kiri dan tengah) dan tidak diiradiasi sinar gamma (paling kanan)

MUTAGENESIS *In Vitro* TANAMAN TEBU MENGGUNAKAN SINAR GAMMA dan PENGEMBANGANNYA

Pada Bab 6 diuraikan kultur *in vitro* untuk mutasi tanaman tebu melalui iradiasi sinar gamma. Pada bab ini diuraikan mengenai dasar genetika dari mutasi dan pengembangan mutagenesis *in vitro* tanaman tebu menggunakan sinar gamma.

Pengembangan metode mutagenesis didorong oleh aktivitas pemuliaan tanaman. Tujuan pemuliaan tanaman adalah menghasilkan populasi tanaman yang mempunyai sifat-sifat unggul. Sifat-sifat unggul, dengan cara-cara tertentu, dikumpulkan dalam suatu populasi tanaman. Populasi tanaman ini dapat meliputi individu-individu tanaman yang sama persis secara genetika satu dengan lainnya. Dengan perkataan lain, individu-individu tanaman dalam populasi itu mempunyai gen-gen yang sama. Dapat juga populasi tanaman yang dihasilkan terdiri atas individu-individu tanaman yang sebagian besar gen-gen yang dikandungnya adalah sama dan cukup untuk mencirikan karakter dari populasi itu.

Ada dua aktivitas utama dalam pemuliaan tanaman, yaitu membangun keragaman genetik dan melakukan seleksi. Seleksi dapat dilakukan jika ada keragaman genetik. Oleh karena itu kadang-kadang membangun keragaman genetik tidak dilakukan sebab keragaman genetik sudah ada, jadi tinggal melakukan seleksi saja. Membangun keragaman genetik dapat dilakukan dengan introduksi, hibridisasi, mutasi, dan rekayasa genetika. Membangun keragaman genetik bukan hanya bagaimana meningkatkan keragaman genetik dalam suatu populasi, tetapi yang lebih penting adalah bagaimana agar gen-gen unggul dapat berkumpul dalam populasi itu sehingga seleksi dapat dilakukan secara efektif.

Sebagaimana telah dikemukakan, mutasi adalah salah satu cara untuk membangun keragaman genetik. Pemuliaan tanaman yang menggunakan mutasi disebut pemuliaan mutasi (*mutation breeding*). Prinsipnya, suatu populasi tanaman varietas tertentu dipaparkan ke agen mutasi (*mutagenic agents*), lalu dilakukan seleksi untuk mendapatkan individu-individu tanaman yang memiliki sifat-sifat unggul yang diinginkan. Pada umumnya pemuliaan mutasi dilakukan untuk menambahkan suatu sifat unggul ke suatu varietas yang secara umum sudah unggul, tetapi mempunyai kelemahan karena tidak mempunyai sifat unggul yang ditambahkan itu.

Ada tiga agen mutasi, yaitu yang bersifat fisik (*physical agents*), kimia (*chemical agents*), dan biologis (*biological agents*). Pemicu-pemicu mutasi tersebut disebut mutagen. Mutagen fisika misalnya sinar gamma, kimia misalnya EMS, dan biologi misalnya transposon dan kultur *in vitro* yang menyebabkan terjadinya variasi somaklonal.

Mutasi, Genotipe, dan Fenotipe

Jenis mutasi ada dua, yaitu mutasi titik (*point mutation*) dan mutasi kromosom (*chromosomal mutation*). Mutasi titik adalah mutasi yang menyebabkan perubahan pada satu nukleotida pada gen. Gen adalah segmen DNA (*deoxyribonucleic acid*) yang mengkode rantai polipeptida (protein). Jadi DNA belum tentu gen sebab hanya yang mengkode polipeptida yang disebut gen. Agar suatu segmen DNA disebut gen maka dia harus mempunyai struktur tertentu sehingga pada kondisi fisiologi yang sesuai dapat terekspresikan. Artinya segmen DNA itu dapat mengalami transkripsi. Oleh karena itu gen juga disebut suatu unit transkripsi, yaitu suatu segmen DNA yang mempunyai urutan nukleotida tertentu yang menyebabkannya dapat ditranskripsi oleh mesin sel dan RNA yang terbentuk menentukan susunan asam-asam amino protein yang disintesis. Berdasarkan hal tersebut, struktur proteinnya seperti apa didikte oleh apa yang

‘tertulis’ pada gen. Jika terjadi perubahan struktur pada suatu gen, maka (1) gen dapat menjadi tidak terekspresikan sehingga tidak dihasilkan protein, (2) gen terekspresikan tetapi protein yang dihasilkan strukturnya berubah.

Bagaimana struktur protein didikte oleh gen adalah melalui proses yang disebut □*the central dogma of molecular biology*.□ Dogma sentral mengatakan bahwa sebagai unit transkripsi, gen (DNA) mengalami transkripsi sehingga dihasilkan mRNA (*messenger ribonucleic acid*). Lalu mRNA mengalami translasi, dihasilkan polipeptida (protein). Dalam proses ini struktur mRNA didikte oleh struktur DNA. Struktur protein didikte oleh struktur mRNA. Oleh karena itu struktur protein didikte oleh struktur DNA. Dengan perkataan lain struktur protein ditentukan oleh struktur gen yang mengkodanya.

Protein dalam tanaman (dan juga organisme hidup lainnya) berperan sentral. Pertama, protein dapat berfungsi sebagai enzim, yaitu katalisator (pemercepat reaksi kimia) dalam tanaman. Kumpulan reaksi-reaksi kimia dalam tanaman sering disebut metabolisme. Terjadinya metabolisme inilah yang membuat tanaman itu ‘hidup’. Enzim juga menjadi tempat untuk pengaturan

metabolisme. Melalui enzim suatu reaksi kimia dapat dipercepat atau diperlambat, atau berhenti.

Kedua, protein sebagai sarana transport. Protein seperti ini disebut protein transport. Protein transport membantu transport zat melewati membran. Protein transport bersifat spesifik terhadap zat yang ditransport. Ada yang spesifik untuk transport sukrosa, untuk ion H^+ , K^+ , NO_3^- , dan lain-lain. Ketiga, protein berperan struktural. Misalnya dia berfungsi sebagai bagian dari struktur membran. Tanpa protein ini membran kehilangan integritasnya atau kehilangan bentuknya. Jadi protein dapat berperan fungsional (enzimatis dan transport) dan struktural.

Kedua fungsi tersebut mengakibatkan tanaman menjadi sebagaimana yang tampak, atau memiliki karakter tertentu (fenotipe). Oleh karena struktur protein tergantung gen yang mengkodonya maka mutasi gen dapat mengakibatkan perubahan struktur protein dan oleh karena itu perubahan karakter tanaman, atau perubahan fenotipe. Mutasi gen sebetulnya tidak hanya dapat menyebabkan perubahan struktur suatu protein tetapi juga tidak terbentuknya protein. Ini juga dapat menyebabkan perubahan fenotipe.

Mutasi kromosom adalah mutasi yang melibatkan segmen panjang DNA. Ada 4 jenis mutasi kromosom, yaitu delesi, insersi, inversi dan translokasi. Pada delesi, suatu segmen DNA hilang. Pada insersi, suatu segmen DNA menyisip ke segmen DNA lain. Pada inversi, suatu segmen DNA menjadi terbalik urutan nukleotidanya. Pada translokasi, suatu segmen DNA terlepas dari suatu kromosom dan menyambung ke segmen DNA pada kromosom yang homolog. Mutasi kromosom tersebut dapat menyebabkan (1) perubahan struktur gen tetapi tetap bisa terekspresikan, (2) peningkatan (*over expression*), penghambatan, atau penghentian (*silencing*) ekspresi gen, dan (3) penghilangan suatu gen. Ketiga hal tersebut dapat menyebabkan perubahan metabolisme yang signifikan, sehingga dapat menyebabkan perubahan fenotipe tanaman. Jadi, mutasi dapat menyebabkan perubahan genotipe. Perubahan genotipe dapat menyebabkan perubahan fenotipe.

Sinar Gamma dan Mutasi

Pada waktu mengalami peluruhan, zat radio aktif memancarkan tiga jenis sinar yaitu sinar alfa, sinar beta, dan sinar gamma. Sinar alfa bermuatan positif. Sinar beta bermuatan negatif. Sinar gamma tidak bermuatan dan berenergi sangat tinggi. Jika mengenai suatu atom, sinar gamma menyebabkan terjadinya ionisasi pada atom

tersebut. Itu sebabnya sinar gamma digolongkan sebagai sinar yang mengionisasi (*ionizing radiation*). Energinya yang sangat besar menyebabkan elektron dari suatu atom keluar sehingga atom tersebut menjadi bermuatan positif dan mengandung satu atau lebih elektron yang tidak stabil (*impaired electron*). Atom dalam kondisi seperti itu disebut radikal bebas. Atau jika pada suatu molekul, satu atau lebih atom-atomnya kehilangan elektronnya maka molekul itu juga menjadi radikal bebas. Radikal bebas sangat reaktif, sangat mudah bereaksi dengan atom atau molekul lain.

Jika yang terkena sinar gamma adalah hidrogen misalnya, maka dapat dihasilkan radikal bebas yang dapat dilambangkan sebagai $H^{\bullet}$. Jika yang terkena adalah molekul oksigen, maka dapat dihasilkan radikal bebas yang dapat dilambangkan sebagai $O_2^{\bullet}$. Pada waktu sinar gamma mengenai sel hidup, maka terjadi dua efek, yaitu efek fisik dan efek kimia. Oleh karena sel hidup terdiri sebagian besar dari air maka molekul air akan berpeluang paling besar untuk terkena efek fisik dari radiasi sinar gamma, menyebabkan molekul air menjadi radikal bebas. Radikal bebas molekul air ini kemudian bereaksi secara kimia dengan molekul-molekul lain, terutama molekul besar sebagai komponen sel hidup. Inilah efek kimia dari sinar gamma. Molekul besar itu diantaranya adalah DNA

sehingga sel akan mengalami mutasi. Reaksi kimia antara radikal bebas dan DNA dapat menyebabkan DNA putus, terjadi *mismatch* basa-basa nitrogen, dan perubahan basa nitrogen.

Sinar gamma adalah mutagen fisik. Sejauh ini para ahli pemuliaan menggunakan mutagen fisik, kimia, dan biologi untuk menghasilkan tanaman mutan. Dari ketiganya, yang paling banyak digunakan adalah mutagen fisik. Dan di antara mutagen fisik, yang paling banyak digunakan adalah sinar gamma. Dari sebanyak 3303 varietas tanaman mutan unggul yang didata IAEA sebagian besar dihasilkan melalui *mutation breeding* yang menggunakan mutagen fisik (2558 varietas), mutagen kimia (378 varietas) dan sisanya adalah dengan cara-cara lainnya yaitu kombinasi antara mutagen fisik dan kimia serta variasi somaklon. Dan dari 2558 varietas mutan yang dihasilkan dengan mutagen fisik tersebut, sebanyak 1650 varietas dihasilkan dengan mutagen sinar gamma, 561 varietas dengan sinar X, dan sisanya dengan cara lainnya.

Varietas Tebu Mutan dan Bukan Mutan

Data yang disajikan oleh IAEA menunjukkan bahwa sejauh ini hanya 13 varietas mutan tebu yang dirilis: 8 varietas mutan dihasilkan dengan mutagen sinar gamma, sedangkan 5 lainnya tidak disebutkan apa

mutagennya (Tabel 7.1). Angka itu tentunya sangat sedikit jika dibandingkan dengan mutan tanaman sereal (biji-bijian) yang mencapai 1561 varietas, dimana di dalamnya tanaman padi 832, kedelai 173, jagung 96, dan kacang tanah 77.

Tabel 7.1. Varietas mutan tebu yang sudah dirilis antara tahun 1950-2019

No	Nama Varietas	Negara	Tahun Registrasi	Karakter Unggul	Mutagen
1	Co 6608 mutant	India	1966	resisten penyakit <i>red rot</i>	sinar gamma
2	Co 997 mutant	India	1967	resisten penyakit <i>red rot</i>	sinar gamma
3	Co 8153	India	1981	produksi tinggi dan kualitas jus tinggi	sinar gamma
4	Co 85017	India	1985	produksi tinggi, rendemen tinggi, adaptasi luas, resisten penyakit disebabkan <i>Ustilago scitaminea</i>	sinar gamma
5	Co 85035	India	1985	produksi tinggi, rendemen tinggi, Tanam awal daerah pantai timur, resisten penyakit disebabkan <i>Ustilago scitaminea</i> .	sinar gamma
6	Nanei	Japan	1986	produksi tinggi, rendemen tinggi, batang panjang	sinar gamma
7	Guifu 80-29	China	1989	matang akhir, rendemen tinggi, batang kecil.	sinar gamma
8	CCe 10582	Cuba	1990	produksi tinggi	tidak tersedia informasi
9	Yuetangfu 83-5	China	1992	tidak tersedia informasi	tidak tersedia informasi
10	CCe 183	Cuba	1993	resisten penyakit <i>eye spot</i>	tidak tersedia informasi
11	CCe 283	Cuba	1993	resisten penyakit <i>eye spot</i>	tidak tersedia informasi
12	Cce 483	Cuba	1993	resisten penyakit <i>eye spot</i>	tidak tersedia informasi
13	Guitang 22	China	2005	produksi tinggi, rendemen tinggi; sebagai sugar cane dan energy cane	sinar gamma

Sumber: (IAEA, 2019)

[https://mvd.iaea.org/#!/Search?page=1&size=15&sortBy=Name&sort=ASC&Criteria\[0\]\[field\]=FreeText&Criteria\[0\]\[val\]=sugarcane](https://mvd.iaea.org/#!/Search?page=1&size=15&sortBy=Name&sort=ASC&Criteria[0][field]=FreeText&Criteria[0][val]=sugarcane) Diakses 25 Juli 2019.

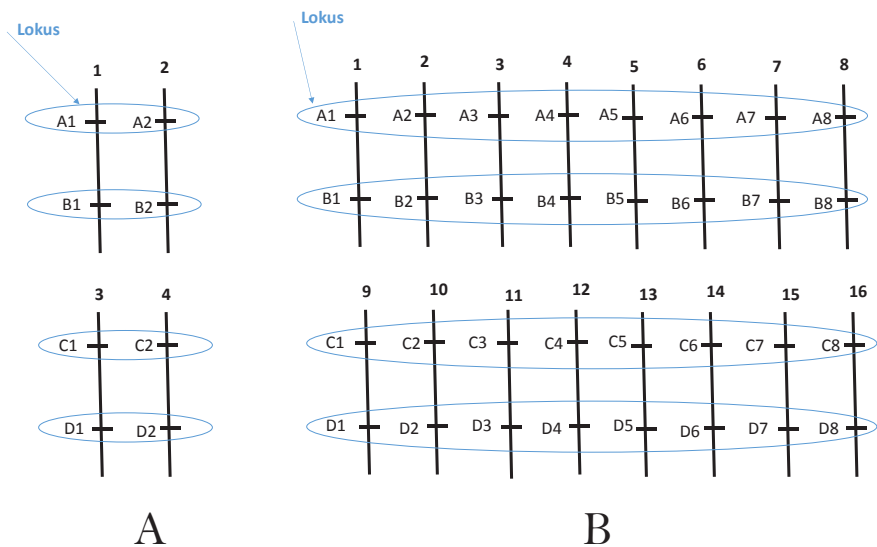
Dari Tabel 7.1 tampak bahwa belum ada lagi varietas mutan tebu yang terdaftar di IAEA sejak tahun 2005. Jadi sudah sekitar 14 tahun belum ada pendaftaran varietas tebu unggul yang dihasilkan melalui mutasi ke IAEA. Sementara itu data dari *Internastional Society of Sugarcane Technologists* (ISSCT) menunjukkan bahwa *top varieties* yang ditanam di negara-negara produsen tebu di dunia adalah dihasilkan melalui pemuliaan dengan metode persilangan (*hybridization*). Data dari lembaga tersebut menunjukkan bahwa terdapat 383 varietas tebu yang ditanam di 41 negara penghasil tebu (Tabel 7.2), dan semuanya dihasilkan dengan program pemuliaan melalui hibridisasi. Hal ini menunjukkan bahwa *mutation breeding* pada tanaman tebu belum berperan penting dalam produksi gula tebu dunia.

Tanaman tebu mempunyai jumlah kromosom yang banyak yaitu 80 kromosom dan dengan tingkat ploidi yang tinggi yaitu oktoploid. Kondisi ini barangkali yang menyebabkan pemuliaan mutasi pada tanaman tebu memiliki efektivitas yang rendah sehingga sulit untuk mendapatkan varietas unggul.

Tabel 7.2. Jumlah varietas tebu yang ditanam di negara-negara produsen tebu (ISSCT, 2019)

No	Negara	Jumlah varietas	No	Negara	Jumlah varietas	No	Negara	Jumlah varietas
1	Afrika Selatan	12	15	Indonesia	12	29	Pantai Gading	12
2	Argentina	7	16	Iran	7	30	Paraguay	4
3	Australia	17	17	Jamaika	11	31	Republik Dominika	14
4	Banglades	10	18	Jepang	10	32	Republik Kongo	4
5	Barbados	6	19	Kolombia	13	33	Reunion	10
6	Bolivia	6	20	Kosta Rika	10	34	Sudan	7
7	Brazil	6	21	Kuba	5	35	Thailand	7
8	Cina	13	22	Malawi	4	36	Uganda	6
9	Ekuador	6	23	Mauritius	10	37	USA	13
10	Fiji	10	24	Meksiko	6	38	Venezuela	6
11	Filipina	13	25	Mesir	6	39	Vietnam	20
12	Guatemala	11	26	Mozambique	5	40	Zambia	5
13	Guyana	9	27	Myanmar	14	41	Zimbabwe	7
14	India	7	28	Pakistan	22			

Pada kebanyakan organisme, kromosom berpasangan. Sepasang berarti ada dua kromosom. Tanaman kedelai mempunyai 40 kromosom, yaitu 20 pasang. Oleh karena itu dikatakan bahwa kedelai adalah organisme diploid dengan $2n$ kromosom, $n = 20$. Tanaman tebu memiliki 80 kromosom. Tetapi tebu bukan diploid, tapi oktaploid sehingga dia mempunyai 8n kromosom, $n = 10$. Jadi pada tebu “sepasang” itu bukan 2 kromosom tetapi 8 kromosom sebab tebu tanaman oktaploid. Kromosom-kromosom yang berpasangan dinamakan kromosom homolog (Gambar 7.1)



Gambar 7.1. Wujud skematis genom tanaman diploid (A) dan oktoploid (B). Pada gambar A $2n = 4$. Pada gambar B $8n=16$. Garis vertikal menggambarkan kromosom, yaitu kromosom no.1-4 (A) dan kromosom no.1-16 (B). Garis horizontal menggambarkan gen. Gen A1; A2; B1; B2; C1; C2; D1; dan D2 (A). Gen A1-A8; B1-B8; C1-C8; dan D1-D8 (B). Pada gambar A kromosom 1 dan 2 adalah kromosom homolog, demikian juga kromosom 3 dan 4. Kromosom 1 dan 2 di satu pihak dan kromosom 3 dan 4 di pihak lain adalah bukan kromosom yang homolog. Pada gambar B kromosom 1-8 adalah kromosom homolog, demikian juga kromosom 9-16. Lokus adalah lokasi gen-gen yang mengkode protein yang sama atau sejenis. Pada gambar A gen A1 dan A2 berada pada lokus yang sama, demikian juga gen B1 dan B2; C1 dan C2; serta D1 dan D2. Pada gambar B gen A1-A8 berada pada lokus yang sama, demikian juga gen B1-B8; C1-C8; dan D1-D8. Pada gambar A gen A1 mempunyai alel gen A2, demikian juga gen B1 mempunyai alel gen B2; gen C1 mempunyai alel C2, dan seterusnya. Pada gambar B gen A1 mempunyai alel gen-gen A2-A8; gen B1 mempunyai alel B2-B8, dan seterusnya.

Pada kromosom terdapat banyak gen. Karena kromosom berpasangan maka gen-gen juga berpasangan. Gen-gen yang berpasangan berinteraksi antarsesamanya untuk mempengaruhi sifat tanaman. Interaksi antargen seperti itu, yaitu interaksi antargen pada kromosom-kromosom homolog, disebut interaksi alelik (istilah alel dikemukakan pada Gambar 7.1). Di sini suatu gen bisa dominan, resesif, atau kodominan. Interaksi tentunya juga terjadi antargen yang berada pada kromosom non-homolog. Interaksi seperti itu disebut interaksi non-alelik, misalnya fenomena epistasis. Misalnya, baik gen A1 maupun A2 (Gambar 7.1 A) mengkode protein A, berarti gen A1 dan A2 adalah homozigot. Dengan perkataan lain A1 dan A2 adalah gen yang sama. Jika A1 mengalami mutasi dan menyebabkannya tidak terekspresikan, maka protein A yang dikode oleh A1 tidak disintesis tanaman. Tetapi karena gen A2 tidak mengalami mutasi, maka protein A tetap terbentuk karena merupakan hasil ekspresi gen A2. Oleh karena itu mutasi seperti itu tidak efektif sebab tidak menyebabkan perubahan sifat tanaman. Dengan perkataan lain, terjadi perubahan genetik, tetapi tidak terjadi perubahan fenotipe. Dalam kacamata genetika Mendel, A1 dan A2 adalah homozigot dominan. Jika A2 adalah gen resesif, maka mutasi pada A1 dapat menyebabkan perubahan sifat sebab protein A tidak

terbentuk. Fenotipenya seperti apa tergantung dari peran protein A dalam proses fisiologi tanaman.

Pada tanaman oktoploid seperti pada tanaman tebu, terjadinya mutagenesis yang menyebabkan perubahan fenotipe kecil peluangnya. Jika gen dominan A1 mengalami mutasi (Gambar 7.1B), maka perubahan sifat akan ditentukan oleh gen-gen alelnya yaitu gen A2-A8. Jika gen-gen alel tersebut sebagian besar adalah dominan, maka alangkah sulitnya menginduksi mutasi yang menyebabkan perubahan fenotipe.

Secara teori, kondisi *ploidy level* yang tinggi pada tanaman tebu sebetulnya tidak hanya menyebabkan sulitnya menghasilkan varian baru melalui pemuliaan mutasi, tetapi juga melalui hibridisasi. Sebagaimana akan diuraikan kemudian, bahwa melalui hibridisasi untuk menghasilkan satu varietas unggul tebu dibutuhkan waktu minimal 10 tahun. Pada tanaman yang *ploidy level* nya tinggi, jika interaksi antarelel bersifat dominan-resesif, maka fenotipe salah satu tetua yang dikendalikan oleh alel dominan akan muncul sepenuhnya pada turunannya. Ini artinya, jika alel dominan itu membawa sifat yang tidak dikehendaki, maka hibridisasi menjadi tidak berpengaruh, sebab hibridisasi tentunya dimaksudkan untuk memasukkan karakter yang dikehendaki dari salah satu

tetua ke turunannya. Tetapi hibridisasi akan berpengaruh, jika alel dominan membawa sifat yang dikehendaki. Jika interaksi antarelel bersifat kodominan, maka sifat dari kedua tetua dapat diturunkan ke progeninya, sehingga hibridisasi bermanfaat.

Yang diuraikan ini tentunya penjelasan sederhana mengenai kemungkinan yang terjadi jika dua tetua disilangkan. Persilangan tanaman tebu melibatkan bergabungnya ribuan gen yang antarsesamanya berinteraksi. Interaksinya bisa bersifat alelik (*alelic interaction*, yaitu interaksi antar gen-gen pada lokus yang sama) sebagaimana yang diuraikan di atas, bisa juga bersifat non alelik (*non-alelic interaction*, interaksi antargen yang beda-lokus), misalnya fenomena epistasis, yaitu sifat yang dibawa oleh suatu gen pada lokus tertentu menutup karakter yang dibawa oleh gen lain pada lokus yang lain.

Pemuliaan tanaman tebu, karena pembiakannya secara vegetatif, dapat dilakukan dengan pola-pikir sederhana. Yang biasa dilakukan adalah dengan menyilangkan dua tetua yang memiliki sifat-sifat unggul, lalu melakukan seleksi terhadap individu-individu turunannya (progeninya). Secara genetik populasi turunan sangat beragam sebab kedua tetuanya sangat heterosigot.

Tahap pertama pemuliaan tebu adalah mengoleksi plasma nutfah yang seberagam mungkin. Upaya untuk meningkatkan keragaman genetik pada tebu dapat dilakukan melalui introduksi klon-klon dari berbagai negara, hibridisasi dan mutasi spontan atau terinduksi. Selanjutnya dilakukan karakterisasi untuk menetapkan tetua persilangan berdasarkan karakter unggul yang dimiliki tetua terpilih. Karakter unggul itu misalnya ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, rendemen tinggi dan tonase tinggi, atau produksi biomassa yang tinggi. Analisis molekuler dapat dilakukan untuk mengetahui jarak genetik antar calon tetua, sehingga atas dasar itu dapat dipilih tetua-tetua dengan jarak genetik paling jauh. Selanjutnya dilakukan sinkronisasi pembungaan dan hibridisasi antar tetua-tetua terpilih, dengan cara menanam di daerah dengan fotoperiodisitas dan suhu rata-rata harian tertentu yang sesuai untuk induksi pembungaan tebu. Pembungaan tanaman tebu juga dapat dilakukan menggunakan lingkungan khusus terkontrol yang disebut dengan bangsal fotoperiod (BF), yaitu suatu bangunan yang tinggi (dari lantai ke plafon berjarak 8,75 cm), terdiri dari ruang-ruang yang suhu dan pencahayaan dapat diatur untuk memberi lingkungan mikro tanaman tebu agar dapat berbunga secara bersamaan, sehingga dapat dilakukan hibridisasi. BF juga

dilengkapi dengan rel yang dapat memudahkan pemindahan tanaman tebu dalam pot ke luar BF.

Biji yang dihasilkan dari hibridisasi dikecambahkan dan diseleksi. Seleksi progeni superior (unggul) untuk beberapa karakter dilakukan dalam beberapa generasi perbanyak vegetatif yang umumnya memerlukan waktu minimal 10 tahun. Setelah itu dilakukan karakterisasi final dan uji multilokasi untuk mengidentifikasi genotipe-genotipe yang menunjukkan karakter agronomi unggul dan menguji stabilitas, keseragaman, produktivitas sebelum akhirnya diusulkan pendaftaran varietas/klon dan diproduksi secara komersial. Pada umumnya, satu klon komersial tebu dapat dihasilkan dengan melakukan seleksi terhadap 250 000 seedling pada program pemuliaan tahap awal (T1). Proses seleksi dapat dilanjutkan ke tahap dua dan tahap tiga yang dilakukan menggunakan lokasi dengan kondisi lingkungan berbeda (Cheavegatti-Gianotto *et al.*, 2011). Sebagai contoh, di Afrika Selatan, waktu yang diperlukan sejak pengecambahan biji hasil persilangan hingga pelepasan varietas bekisar antara 10 tahun untuk tebu dengan siklus tanam 12 bulan, dan 20 tahun untuk tebu dengan siklus tanam 24 bulan (Zhang, *et al.* 2013).

Pengembangan Sistem Mutagenesis *In Vitro* Tanaman Tebu dengan Iradiasi Sinar Gamma

Dari Tabel 7.1 tampak bahwa *mutation breeding* dapat digunakan untuk menghasilkan varietas-varietas tebu yang unggul dalam hal sifat yang dikendalikan oleh satu gen (monogenik) dan yang dikendalikan oleh lebih dari satu gen (poligenik). Ketahanan terhadap penyakit tertentu dapat monogenik atau poligenik. Produksi (tonase) tinggi merupakan sifat poligenik. Dari Tabel 7.1 juga tampak bahwa sinar gamma dapat digunakan pada pemuliaan mutasi untuk menghasilkan varietas unggul tebu yang mempunyai sifat unggul monogenik maupun poligenik.

Sistem mutagenesis *in vitro* tanaman tebu dengan iradiasi sinar gamma pada umumnya melalui tahapan sebagaimana diuraikan pada Bab 6, yang secara skematis diuraikan pada Gambar 6.1. Pada prinsipnya sistem ini mensyaratkan (1) ditemukannya sistem regenerasi *in vitro* tanaman tebu dan (2) ditemukannya dosis subletal (LD50) dari sinar gamma yang diaplikasikan. Sistem ini sudah dilaporkan oleh sejumlah peneliti (Hapsoro *et al.*, 2018; Nikam *et al.*, 2015; Oloriz *et al.*, 2011; Patade *et al.*, 2006; Saif-Ur Rasheed *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2007).

Sistem regenerasi *in vitro* tanaman tebu pada umumnya menggunakan jalur embriogenesis somatik

tidak langsung, yaitu melalui pembentukan kalus, sebagaimana diuraikan pada Bab 4 dan 6. Tabel 5.4 memberikan gambaran bahwa genotipe yang berbeda membutuhkan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berbeda. Dengan perkataan lain, dibutuhkan “*fine tuning*” terhadap kebutuhan ZPT setiap kali dihadapkan pada genotipe tebu yang berbeda dari yang pernah dicoba sebelumnya. Mengenai LD₅₀ sinar gamma, genotipe tampaknya memberikan respons yang kurang lebih sama terhadap perlakuan sinar gamma (Tabel 7.3)

Kelebihan mutagenesis *in vitro* adalah bahwa teknik ini dapat digunakan sekaligus untuk melakukan seleksi terhadap mutan-mutan dengan karakteristik tertentu. Seleksi seperti ini disebut seleksi *in vitro* (*in vitro selection*). Seleksi *in vitro* misalnya dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman yang toleran terhadap kadar garam tinggi dan toleran kekeringan. Pada kasus tebu dapat dilakukan dengan tahapan sebagaimana ditampilkan pada Gambar 7. 2.

Tabel 7.3 LD50 sinar gamma pada mutagenesis *in vitro* sejumlah klon (genotipe) tebu

No.	Klon (Genotipe)	LD50 (Gy)	Pustaka
1	Ragnar	17	Hapsoro <i>et al.</i> , 2018
2	CoC671	20	Patade <i>et al.</i> , 2006
3	CP43/33	20	Saif-Ur-Rasheed <i>et al.</i> , 2001
4	Co86032	20	Nikam <i>et al.</i> , 2015
5	NI-98, NIA-2004, BL4	20	Khan <i>et al.</i> , 2007
6	B4362	10 dan 20 *	Oloriz <i>et al.</i> , 2011

*Bukan nilai LD50, tetapi nilai energi radiasi sinar gamma yang dikenakan pada kalus tebu pada mutagenesis *in vitro*.



Gambar 7.2 Ilustrasi mengenai tahap-tahap mutagenesis *in vitro* dan seleksi *in vitro* pada tanaman tebu. Dalam hal ini dapat digunakan pola embriogenesis somatik yang diuraikan pada Bab 4 dan 6. (1) Eksplan ditanam pada media induksi kalus. (2) Kalus yang terbentuk diiradiasi dengan sinar gamma. (3) Kalus yang survive dikulturkan pada media induksi kalus embriogenik lalu dipindah ke media yang mengandung NaCl (untuk ketahanan terhadap kadar garam tinggi) atau PEG (*polyethylene glycol*) (untuk ketahanan terhadap stres kekeringan). (4) Kalus yang *survive* diseleksi. (5) Kalus terseleksi disubkultur ke media induksi tunas. (6) Tunas dikulturkan pada media induksi akar. (7) Planlet diaklimatisasi. (8) Bibit-bibit di polybag yang mungkin toleran terhadap kadar garam tinggi atau stres kekeringan (*putative tolerant plants*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abu, G., F. Mekbib, and A.Teklewold. 2014. Effect of Genotype on *in vitro* propagation of elite sugarcane (*Saccharum Officinarum* L.) varieties of Ethiopian sugar estates. Inter. Journal of Technological Enhancements and Emerging Engineering Research 2 (6): 123-128.
- Ahmad, T. 2019. Morphology of sugarcane & critical growth stages. Technology Times. March 5, 2019. Availale at <https://www.technologytimes.pk/morphology-sugarcane-growth-stages>. Diakses 25 Juli 2019.
- Ali, S. and J. Iqbal. 2012. Influence of physical factors on callogenesis in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Sci.Int.(Lahore) 24(2): 167-170.
- Ali, S., J. Iqbal, and M. S. Khan. 2010. Genotype independent *in vitro* regeneration system in elite varieties of sugarcane. Pak. J. Bot., 42(6): 3783-3790.
- alinea.id, 2018. <https://www.alinea.id> Diakses 21 September 2019.
- Almaraj, V.A. and N. Balasundaram. 2006. On the taxonomy of the members of 'Saccharum complex'. Genet.Resour.Crop.Evol.53:35-41.

- Basnayake, S.W.V., R. Moyle, and R.G. Birch. 2011. Embryogenic callus proliferation and regeneration conditions for genetic transformation of diverse sugarcane cultivars. *Plant Cell Rep.* 30:439–448.
- Behera, K.K. and S. S. Sahoo. 2009. Rapid *in vitro* micro propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) Through Callus Culture. *Nature and Science*: 7(4): 1-10.
- Bisht, S.S., A.K. Routray, and R. Mishra. 2011. Rapid *in vitro* propagation technique for sugarcane variety 018. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2(4): 242-249.
- Bonnet, G.D., Nowak, E., Olivares-Villegas, J.J., Berding, N., Morgan, T., Aitken, K.S. 2008. Identifying the risk of transgene escape from sugarcane crops to related species, with particular reference to *Saccharum spontaneum* in Australia. *Trop. Plant. Biol.* 1:58-71.
- Cheavegatti-Gianotto, A., H.M.C. de Abreu, P. Arruda, J.C.B. Filho, W.L. Burnquist, S. Creste, L. di Ciero, J.A. Ferro, A.V.D. Figueira, T.D. Filgueiras, M.D.F. Grossi-de-Sa, E.C. Guzzo, H.P. Hoffmann, M.G.D.A. Landell, N. Macedo, S. Matsuoka, F.D.C. Reinach, E. Romano, W.J.D. Silva, M.D.C.S. Filho, and E.C. Ulian. 2011. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A reference study for the regulation of genetically

- modified cultivars in Brazil. *Tropical Plant Biol.* 4: 62-89.
- D'Hont, A., D. K. Ison, K. Alix, C. Roux, and J.C. Glaszmann. 1998. Determination of basic chromosome members in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. *Genome* 41:221-225.
- D'Hont, A., Grivet, L., Feldmann, P., Berding, N., Glaszmann, J.C. 1996. Characterization of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. *Molecular and General Genetics*, 250: 405-413.
- Daniels, J., and B.T. Roach. 1987. Chapter 2. Taxonomy and evolution. In *Developments in Crop Science*. Ed. J.H. Don. (Amsterdam, Elsevier): 7-84.
- databoks, 2019. <https://databoks.katadata.co.id> Diakses 21 September 2019.
- Devarumath, R.M., S.B. Kalwade, P.G. Kavar, and K.V. Sushir. 2012. Assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm using ISSR and SSR markers. *Sugar Tech.* 14(4):334-344.
- Dillon, S.L., F.M. Shapter, H.J. Robert, G. Cordeiro, I. Izquierdo, S.L. Lee, 2007. Domestication to crop improvement: genetic resources for *Sorghum* and *Saccharum* (Andropogonae). *Ann. Bot.* 5: 975-989.

- Dinesh, P., P. Thirunavukkarasu, A.R. Saraniya, and T. Ramanathan. 2015. *In vitro* studies of sugarcane variety Co-91017 through micropopagation of shoot tip culture. *Adv Plants Agric Res* 2015, 2(6):1-6
- Gill, N.K., R. Gill, and S.S. Gosal. 2004. Factors enhancing somatic embryogenesis and plant regeneration in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Indian J. Biotechnol.* 3: 119-123.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2016. Kultur Jaringan untuk Perbanyak Klonal Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Penerbit CV Anugrah Utama Raharja (AURA). Anggota IKAPI. 122 hal.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2018. Kultur Jaringan: Teori dan Praktik. Penerbit ANDI (Anggota IKAPI). Yogyakarta. 167 hal.
- Hapsoro, D., A.P. Febranie, and Yusnita. 2012. *In vitro* shoot formation on sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) callus as affected by benzyladenine concentrations. *J. Agron. Indonesia.* 40(1): 56-61.
- Hapsoro, D., M.I. Alisan, T. Ismaryati, and Yusnita. 2010. Effects of benzyladenine on *in vitro* shoot multiplication of banana (*Musa paradisiaca* Linn.) cv. Ambon Kuning and Tanduk. *Proceeding of International Seminar on Horticulture to Support Food Security 2010*. Bandar Lampung, Indonesia, 22-23 June 2010 (A-88).

- Hapsoro, D., H.A. Warganegara, S.D. Utomo, N. Sriyani, and Yusnita. 2015. Genetic diversity among sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) genotypes as shown by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Agrivita J. Agric. Sci.* 37(3):247-257.
- Hapsoro, D., D. Saputra, and Y. Yusnita. 2017. Pengaruh konsentrasi benziladenin (BA) dan sukrosa terhadap multiplikasi tunas pisng Raja Bulu (AAB) *in vitro*. Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Pertanian 2017. (hlm 59-64). Balunijuk, Pangkal Pinang, 20-21 Juli 2017.
- Hapsoro, D., T. Inayah, and Yusnita. 2018. Plant regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) calli *in vitro* and its response to gamma irradiation. *J. ISSAAS* 24 (1) : 58-66.
- Hapsoro, D., Yusnita, Ardian, K. Setiawan, dan R. Evizal. 1995. Pengaruh konsentrasi agar dan benziladenin terhadap perbanyakan tunas vanili (*Vanilla planifolia* Andr.) secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian* 3: 50-53.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 1993. Pengaruh benziladenin terhadap pembentukan tunas majemuk vanili (*Vanilla planifolia* Andr.) *in vitro*. Prosiding Seminar Penelitian Pertanian, BKS Barat, Palembang, 19-20 Februari 1993. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

- Hapsoro, D. and Yusnita. 1997. Micropropagation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andr.) using apical mesristems. Jurnal Agrotropika 2(1):1-5.
- Hodkinson, T.R., M.W. Chase, M.D. Lledo, N. Salamin, and S.A. Renvoize. 2002. Phylogenetics of *Mischanthus*, *Saccharum* and related genera (Saccharineae, Andropogoneae, Poaceae) based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and intergenic spacers. J. Plant Res. 115:381-392.
- IAEA. 2019. [https://mvd.iaea.org/#!Search?page=1&size=15&sortby=Name&sort=ASC&Criteria\[0\]\[field\]=FreeText&Criteria\[0\]\[val\]=sugarcane](https://mvd.iaea.org/#!Search?page=1&size=15&sortby=Name&sort=ASC&Criteria[0][field]=FreeText&Criteria[0][val]=sugarcane) Diakses 25 Juli 2019.
- Irvine, J.E. 1999. *Saccharum* species as horticultural classes. Theor. App. Genet. 98: 186-194.
- ISSCT, 2019. www.issct.org. Diakses 25 Juli 2019.
- Khan, F.A., A. Khan, F.M. Azhar, and S. Rauf. 2009. Genetic diversity of *Saccharum officinarum* accessions in Pakistan as revealed by random amplified polymorphic DNA. Genet. Mol. Res. 8(4):1376-1382.
- Khan, I.A. and A. Khatri. 2006. Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: histological studies. Pak. J. Bot. 38: 631-636.

- Khan, I.A., M.U. Dahot, and A. Khatri. 2007. Study of genetic variability in sugarcane induced through mutation breeding. *Pak. J. Bot.* 39(5):1489-1501.
- Manners, J., L. McIntyre, R. Casu, G. Cordeiro, M. Jackson, K. Aitken, P. Jackson, G. Bonnet, L.S. Lee, R.J. Henry. 2004. Can genomics revolutionize genetics and breeding in sugarcane?, in *Proceeding of the 4th int. Crop Science Congress (Brisbane, QLD)*.
- Michael, P.S. 2007. Micropropagation of Elite Sugarcane Planting Materials from Callus Culture *in vitro*. *Journal & Proceedings of the Royal Society of New South Wales* 140: 79–86.
- Ming, R., S.C. Liu, Y.R. Lin, J. Da Silva, W. Wilson, D. Braga, 1998. Detailed alignment of *Saccharum* and *Sorghum* chromosomes: Comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes. *Genetics* 150:1663 - 1682.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Nawazi, M., I. Ullah, N. Iqbal, M. Z. Iqbal, M. A. Javed. Improving in vitro leaf disk regeneration system of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) with concurrent shoot/root induction from somatic embryos 2013. *Turk J Biol* 37: 726-732.

- Nikam, A.A., R.M. Devarumath, A. Ahuja, H. Babu, M.G. Shitole, and P. Suprasanna. 2015. Radiation-induced *in vitro* mutagenesis system for salt tolerance and other agronomic characters in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). The Crop Journal 3: 46-56.
- Oloriz, M.I., V. Gil, L. Rojas, N. Veitia, M. Hofte, and E. Jimenez. 2011. Selection and characterisation of sugarcane mutants with improved resistance to brown rust obtained by induced mutation. Crop and Pasture Science 62: 1037-1044.
- Pakpahan, A. 2009. Industri nasional berbasis tebu. Kompas, 30 Oktober 2009.
- Panje, R.R. and C.N. Babu. 1960. Studies in *Saccharum spontaneum* distribution and geographical association of chromosome numbers. Cytologia 25: 152-172.
- Patade, V.Y., P. Suprasanna, V.A. Bapat, and U.G. Kulkarni. 2006. Selection for abiotic (salinity and drought) stress tolerance and molecular characterisation of tolerant lines in sugarcane. BARC Newsletter 273:244-256.
- Patade, V.Y. and P. Suprasanna. 2008. Radiation induced *in vitro* mutagenesis for sugarcane improvement. Sugar Tech. 10: 14-19.

- Piperidis, G., N. Piperidis, and A. D'Hont. 2010. Molecular cytogenetics investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane. *Mol. Genet. Genomics*. 284:65 – 73.
- Roach, B.T. and J. Daniels. 1987. A review of the origin and improvement of sugarcane. In. Copersucar International Sugarcane breeding workshop 1-31.
- Saif-Ur-Rasheed, M., S. Asad, Y. Zafar and R.A. Waheed. 2001. Use of radiation and *in vitro* techniques for development of salt tolerant mutants in sugarcane and potato. *IAEA-TEC DOC*. 1227: 51–60.
- Shafique, M., S. J. Khan, and N.H. Khan 2015. Appraisal of nutritional status and *in vitro* mass propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv. Us-633) through callus culture. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol.* 48(2): 48-52.
- Singh, G., S. K. Sandhu, M. Meeta, K. Singh, R. Gill, S. S. Gosal 2008. *In vitro* induction and characterization of somaclonal variation for red rot and other agronomic traits in sugarcane. *Euphytica* 160:35–47.
- Singh, R., B. Singh, and R.K. Singh. 2017. Study of genetic diversity of sugarcane (*Saccharum*) species and commercial varieties through TRAP molecular markers. *Indian Journal of Plant Physiology* 22(3):332-338.

- Sreenivasan, T.V., B.S. Ahloowalia, and D.J. Heinz. 1987. Chapter 5: Cytogenetics. In Development in Crop Science. Ed. J.H. Don (Amsterdam, Elsevier): 211 – 253.
- Suara Merdeka News, 2019. <https://suaramerdeka.com> Diakses 21 September 2019.
- Tabasum, S., F.A. Khan, S. Nawaz, M.Z. Iqbal, and A. Saeed. 2010. DNA profiling of sugarcane genotypes using randomly amplified polymorphic DNA. Genetics and Molecular Research. 9(1): 471-483.
- Ullah, M., H. Khan, M. S. Khan, A. Jan., K. Ahmad and A.W. Khan. 2016. *In vitro* plant regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.): the influence of variety, explant, explant position, and growth regulators. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science 11 (7): 267-273.
- Webster, R. and R.B. Shaw. 1995. Taxonomy of the native north American species of *Saccharum* (Poaceae : Andropogonae). Sida 16 (3):551-580.
- Yasmeen, S., S. Raza, N. Seem, M. A. Siddiqui, S. Bibi, G.S. Nizamani, I. A. Khan and A. Khatri. 2013. Effect of different hormones on early, mid, and late maturing sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) genotypes for callus and somatic embryogenesis. Pakistan Sugar Journal July-September: 10-15.

- Yusnita, Sismanto, and D. Hapsoro. 2010. *In vitro* propagation of *Anthurium plowmanii* cv. Wave of Love and plantlet acclimatization. Proceeding of International Seminar on Horticulture to Support Food Security 2010. Bandar Lampung, Indonesia, 22-23 June 2010 (A-95).
- Yusnita, Y., B. Sulistiyawan, A. Karyanto, and D. Hapsoro. 2017. Organogenesis pada eksplan daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) *in vitro* sebagai respons terhadap benziladenin (BA) dan asam naftalenasetat (NAA). Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Pertanian 2017. (hlm 392-399). Balunijuk, Pangkal Pinang, 20-21 Juli 2017.
- Yusnita, Y., T. Wahyuningsih, P. Sulistiana, and D. Hapsoro. 2013. Perbanyakan *In vitro* *Sansevieria trifasciata* 'Lorentii': Regenerasi Tunas, Pengakaran, dan Aklimatisasi Planlet. J. Agron. Indonesia 41 (1): 70 – 76.
- Zamir, R., S. A. Khalil, S.T. Shah, M. S. Khan, K. Ahmad, Shahenshah, and N. Ahmad. 2017. Efficient *in vitro* regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) from bud explants. Biotechnology & Biotechnological Equipment 26 (4): 3094-3099.
- Zhang, J., M. Zhou, J. Walsh, L. Zhu, Y. Chen, R. Ming. 2013. Chapter 23: Sugarcane Genetics and Genomics. In Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology.

DAFTAR ISTILAH

Aklimatisasi	:	Suatu proses memperlakukan planlet hasil kultur <i>in vitro</i> agar mampu tumbuh <i>ex vitro</i>
<i>Axillary branching</i>	:	Perbanyakan tunas samping.
Buku (<i>node</i>)	:	Terdapat pada batang tanaman. Merupakan tempat mata tunas berada.
<i>De novo</i>	:	Dibentuk baru. Pada organogenesis, tunas-tunas dibentuk <i>de novo</i> , bukan dari bakal tunas (misalnya mata tunas)
Diferensiasi	:	suatu proses pembentukan organ tertentu dari sel-sel yang sebelumnya belum jelas akan menjadi organ apa. Contoh diferensiasi adalah pembentukan kalus tebu menjadi embrio.
DNA	:	<i>Dioxyribonucleic acid</i>

Eksplan	:	Bagian tanaman untuk memulai suatu kultur <i>in vitro</i> . Misalnya eksplan dapat berupa potongan daun, ujung tunas, potongan kotiledon, dan lain-lain.
Ekspresi gen	:	Gen dikatakan mengalami ekspresi jika gen tersebut mengalami transkripsi dan translasi.
Embriogenesis somatik	:	Proses pembentukan embrio somatik pada tanaman. Embrio ini berasal dari sel-sel somatik, bukan sel-sel gamet. Bandingkan dengan embriogenesis zigotik, yaitu proses pembentukan embrio dari sel-sel yang merupakan hasil perpaduan antara gamet jantan dan gamet betina.
Enzim	:	Suatu struktur yang sebagian besar terdiri atas protein atau protein saja yang berfungsi untuk mempercepat reaksi kimia di dalam organisme.
<i>Ex Vitro</i>	:	Secara harfiah artinya di luar tabung atau botol. Dalam frase kultur <i>ex vitro</i> , artinya mengkulturkan misalnya tanaman di luar tabung atau botol kultur, misalnya di persemaian dan pembibitan.

Fenotipe	:	Sifat yang tampak atau dapat dideteksi pada organisme. Misalnya warna bunga, tinggi tanaman, ukuran daun, dll. Bisa juga misalnya laju fotosintesis, ada atau tidaknya protein transport tertentu, dll.
Fotoperiod	:	Periode dalam sehari tanaman mendapatkan lamanya sinar matahari. Misalnya 16 jam terang, 8 jam gelap; 12 jam terang 12 jam gelap, dan sebagainya.
Gen	:	Sepotong DNA yang mengkode satu rantai polipeptida. Untuk bisa mengkode polipeptida, maka strukturnya harus tertentu, yaitu dalam bentuk unit transkripsi (<i>transcriptional unit</i>).
Genotipe	:	Komposisi genetik genom organisme. Menggambarkan kondisi gen-gen dalam genom.
HEPA (<i>High Efficiency Particulate Air</i>)	:	Suatu saringan udara yang sangat halus yang mampu menahan partikel yang berukuran sangat kecil. Misalnya bakteri, hifa cendawan, spora cendawan tidak bisa melewati saringan tersebut.

Heterozigot	:	Suatu keadaan tanaman yang sepasang kromosomnya mempunyai alel yang tidak sama.
Hibridisasi	:	Persilangan antartanaman melalui penyerbukan.
Homozigot	:	Suatu keadaan tanaman yang sepasang kromosomnya mempunyai alel yang sama.
Hormon	:	Zat organik yang disintesis oleh tanaman yang dalam konsentrasi sangat rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hormon adalah zat pengatur tumbuh (ZPT). Tetapi ZPT belum tentu hormon. Jika ZPT disintesis oleh tanaman maka disebut hormon.
IAEA	:	International Atomic Energy Agency. Organisasi internasional independen. Kantor pusatnya di Wina, Austria.
<i>In Vitro</i>	:	Artinya di dalam tabung. Dari segi istilah, misalnya dalam frase kultur <i>in vitro</i> tanaman. Artinya mengkulturkan tanaman dalam tabung atau botol kultur sehingga tanaman dapat tumbuh dan berkembang seperti yang dikehendaki.

Kalus embriogenik	:	Kalus yang mempunyai kemampuan untuk menjadi embrio. Dari segi fisiologi, kalus seperti ini arah perkembangannya sudah ditentukan (<i>determined</i>) untuk menjadi embrio.
Klon	:	Populasi tanaman yang dihasilkan dari pembiakan vegetatif satu tanaman induk. Oleh karena itu individu-individu tanaman dalam satu klon secara genetik sama persis dan sama persis dengan induknya.
LD50	:	Lethal dose 50%. Dalam kasus penggunaan sinar gamma, LD50 adalah energi sinar gamma yang menyebabkan setengah dari kalus yang diiradiasi tidak bisa tumbuh dan berkembang. Misalnya LD50=20 Gy, itu artinya sinar gamma 20 Gy menyebabkan 50% dari kalus yang diiradiasi tidak tumbuh dan berkembang.
<i>Leaf roll</i>	:	Gulungan daun
Metabolisme	:	Reaksi-reaksi kimia yang terjadi di dalam organisme yang memungkinkan organisme itu hidup.

Mutagen	:	Suatu agen kimia atau agen fisika yang dapat menyebabkan mutasi pada makhluk hidup. Jadi ada mutagen kimia misalnya EMS (etil metil sulfonat) dan ada mutagen fisika misalnya sinar gamma.
Mutagenesis	:	Suatu proses atau peristiwa pembentukan mutan.
Mutagenesis <i>in vitro</i>	:	Proses pembentukan mutan secara <i>in vitro</i>
Mutasi kromosom	:	Mutasi yang terjadi melalui perubahan segmen DNA, misalnya insersi, delesi, inversi, dan translokasi.
Mutasi titik (<i>point mutation</i>)	:	Mutasi yang terjadi melalui perubahan satu nukleotida pada molekul DNA (gen).
<i>Mutation breeding</i>	:	Teknik pemuliaan tanaman melalui mutasi genetik.
Organogenesis Planlet	:	Proses pembentukan organ. Tanaman kecil hasil kultur <i>in vitro</i> yang mempunyai struktur tajuk dan struktur akar.
Poliploid	:	Keadaan dimana sel-sel suatu organisme memiliki kromosom homolog lebih dari 2 kromosom.

Protoplas	:	Sel tumbuhan yang tidak berdinding sel karena perlakuan enzimatik yang mendegradasi dinding selnya.
Regenerasi	:	Proses membentuk sesuatu yang baru. Jika tanaman padi berbunga, lalu menghasilkan banyak biji, biji jatuh ke tanah lalu berkecambah, dan kecambah-kecambah itu menjadi tanaman-tanaman, maka tanaman padi itu menjalani proses regenerasi.
Rekayasa genetika	:	Suatu teknologi memasukkan gen secara langsung ke genom suatu tanaman untuk memodifikasi sifat tanaman tersebut.
RNA	:	<i>Ribonucleic acid</i> . mRNA = <i>messenger</i> RNA. RNA pembawa pesan.
Ruas (<i>internode</i>)	:	Segmen antarbuku pada batang tanaman
<i>The central dogma of molecular biology</i>	:	Disebut dogma karena siapapun diharapkan harus langsung percaya dengan konsep ini. Kebenarannya masih teruji sampai sekarang. Konsep ini menyatakan bahwa bentuk protein didikte oleh susunan nukleotida pada mRNA. Susunan nukleotida pada mRNA didikte oleh

		susunan nukleotida pada DNA (gen). Sementara itu DNA mengalami replikasi yang menghasilkan dua DNA baru yang sama persis dan sama dengan DNA asalnya.
Totipotensi	:	Suatu teori yang menyatakan bahwa sel tanaman mempunyai perangkat genetik dan fisiologi yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh.
Transkripsi	:	Proses sintesis mRNA
Translasi	:	Proses sintesis protein
<i>True-to-type</i>	:	Populasi tanaman yang secara genetik sama persis dengan induknya.
Tunas majemuk (<i>multiple shoots</i>)	:	Tunas yang berjumlah lebih dari satu yang dihasilkan dalam kultur <i>in vitro</i> .
Zat pengatur tumbuh (ZPT)	:	Suatu zat kimia yang dalam konsentrasi sangat rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi media induksi kalus (MIK) pada kultur *in vitro* tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)

No.	Nama Zat	Konsentrasi (mg/L)
1	KNO ₃	1900
2	NH ₄ NO ₃	1650
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
4	KH ₂ PO ₄	170
5	H ₃ BO ₃	6,2
6	MnSO ₄ .4H ₂ O	15,6
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
8	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
10	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
11	KI	0,83
12	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
13	Disodium EDTA	37,3
14	Tiamin-HCl	0,1
15	Piridoksin-HCl	0,5
16	Asam Nikotinat	0,5
17	Glisin	2
18	Mio-inositol	100
19	Sukrosa	30000
20	Air kelapa	150 ml/l
21	2,4-D	3

Lampiran 2. Komposisi media induksi tunas (MIT) pada kultur *in vitro* tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)

No.	Nama Zat	Konsentrasi (mg/L)
1	KNO ₃	1900
2	NH ₄ NO ₃	1650
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
4	KH ₂ PO ₄	170
5	H ₃ BO ₃	6,2
6	MnSO ₄ .4H ₂ O	15,6
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
8	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
10	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
11	KI	0,83
12	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
13	Disodium EDTA	37,3
14	Tiamin-HCl	0,1
15	Piridoksin-HCl	0,5
16	Asam Nikotinat	0,5
17	Glisin	2
18	Mio-inositol	100
19	Sukrosa	30000
20	Benziladenin (BA)	2,5

Lampiran 3. Komposisi media pemanjangan tunas (MPT) pada kultur *in vitro* tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)

No.	Nama Zat	Konsentrasi (mg/L)
1	KNO ₃	1900
2	NH ₄ NO ₃	1650
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
4	KH ₂ PO ₄	170
5	H ₃ BO ₃	6,2
6	MnSO ₄ .4H ₂ O	15,6
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
8	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
10	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
11	KI	0,83
12	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
13	Disodium EDTA	37,3
14	Tiamin-HCl	0,1
15	Piridoksin-HCl	0,5
16	Asam Nikotinat	0,5
17	Glisin	2
18	Mio-inositol	100
19	Sukrosa	30000
20	Arang aktif	2000

Lampiran 4. Komposisi media induksi akar (MIA) pada kultur *in vitro* tanaman tebu, yang merupakan modifikasi media MS (Murashige dan Skoog, 1962)

No.	Nama Zat	Konsentrasi (mg/L)
1	KNO ₃	1900
2	NH ₄ NO ₃	1650
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
4	KH ₂ PO ₄	170
5	H ₃ BO ₃	6,2
6	MnSO ₄ .4H ₂ O	15,6
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
8	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
10	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
11	KI	0,83
12	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
13	Disodium EDTA	37,3
14	Tiamin-HCl	0,1
15	Piridoksin-HCl	0,5
16	Asam Nikotinat	0,5
17	Glisin	2
18	Mio-inositol	100
19	Sukrosa	30000
20	<i>Indolebutyric acid</i> (IBA)	5
21	Arang aktif	2000

INDEKS

A

Abiotik 3, 73
Akar setek (sett roots) 13, 14
Akar tunas (shoot roots), 13, 14
Aklimatisasi 25, 26, 29, 30, 35, 36, 37, 38, 45, 51, 52, 54, 55, 79, 91
Alel 69, 70, 71, 72, 73
Alelic interaction 73
Aneuploidi 8
Axillary branching 24, 25, 26

B

Bangsai fotoperiod 15, 73
Biotik 3, 73
Buku (*node*) 9, 10, 11, 13

C

Chromosomal mutation 60

D

De novo 26
Delesi 63
Diferensiasi 51, 52
DNA 60, 61, 63
Dominan 70, 72, 73
Dose-response 52

E

Eksplan 19, 24, 25, 26, 27
Ekspresi gen 67, 70
Embriogenesis 24, 26, 27
Embriogenesis somatik 26
Enzim 61, 62
Epistasis 70, 73

Erianthus aruninaceus 7

Ex Vitro 25

F

Fenotipe 60, 62, 63, 70,
72

Fotoperiod 15, 73

G

Gen 58, 59, 60, 61,
62, 63, 69, 70,
71, 72, 73, 76

Genotipe 60, 63, 75, 77,
78

H

HEPA (*High Efficiency
Particulate Air*) 23

Heterozigot 16

Hibridisasi 59, 68, 72, 73,
74, 75

Homolog 63, 69, 70, 71

Homozigot 70

Hybridization 68

I

IAEA 65, 66, 67

Inseri 63

Introduksi 58, 74

Inversi 63

Ionizing radiation 64

J

Jarak genetik 74

K

Kalus embriogenik 51,
52, 54, 55,
56

Katalisator 61

Klon 74, 75, 78

Kodominan 70, 73

L

LD50 76, 77, 78

Lokus 71, 73

M

Metabolisme 61, 62, 63

Miscanthus sinensis 7

mRNA 61

Multiple shoots 25

Murashige dan Skoog (1962) 23, 24

Mutagen 60, 65, 66

Mutagen fisika 60

Mutagen kimia 65

Mutagenesis 58, 71, 75, 76, 77, 78

Mutagenic agents 59

Mutasi kromosom 60, 62, 63

Mutasi titik (*point mutation*) 60

Mutation breeding 68, 76

N

Noble cane 7

Non-alelic interaction 72

O

Oktoploid 67, 68, 69, 71

Organogenesis 24, 25, 26, 27

Over expression 63

P

Planlet 25, 26

Ploidy level 72

Point mutation 60

Poliipeptida 60, 61

Progeni 72, 74

Protein transport 62

Protoplas 18, 19

R

Radikal bebas 64, 65

Regenerasi 21, 22, 23, 24

Rekayasa genetika 59

Rendemen 2, 3

Resesif 70, 72

RNA 60, 61

Ruas (*internode*) 9, 10, 11, 12

S

Saccharum barberi 9, 16,
17

Saccharum edule 9, 16,
17

Saccharum officinarum 7,
9

Saccharum robustum 7,
9, 16

Saccharum sinense 9, 16,
17

Saccharum spontaneum 16,
17

Serealia 66

Silencing 63

Sinar X 65

Sugarcane 7

T

Tetes 1

*The central dogma of
molecular biology* 61

Totipotensi 21, 22

Translokasi. 63

True-to-type 20,
25

Tunas majemuk (*multiple
shoots*) 25

U

Unit transkripsi 60,
61

V

Variasi somaklonal 60

TENTANG PENULIS



Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc. lahir 2 April 1961 di Pamalang, Jawa Tengah, sebagai anak kedua (6 bersaudara) dari pasangan Bapak Taryo (alm) dan Ibu Siti Ruminah (alm). Penulis adalah alumni SDN Pandangan dan SMPN Kragan, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah, serta alumni SMAN 1 Slawi, Jawa Tengah. Setelah tamat SMA, penulis melanjutkan kuliah di Institut Pertanian Bogor (IPB Bogor) bidang agronomi dan lulus dengan ijazah sarjana (Ir.) pada tahun 1985, lalu kuliah di University of Kentucky, Lexington, USA bidang fisiologi tumbuhan dan lulus dengan ijazah master of science (M.Sc.) pada tahun 1991. Penulis memperoleh gelar doktor (Dr.) bidang bioteknologi Tanaman dari IPB Bogor pada tahun 2005. Sebagian penelitian untuk disertasinya dilakukan di The University of Queensland (UQ), Brisbane, Australia. Penulis adalah dosen tetap pada Fakultas Pertanian Universitas Lampung (UNILA) sejak 1986. Penulis adalah Kepala Laboratorium Ilmu Tanaman UNILA dan pengajar pada program sarjana, pascasarjana dan doktor di UNILA. Mata kuliah yang diampunya diantaranya adalah fisiologi tumbuhan, bioteknologi pertanian, kultur jaringan, zat pengatur tumbuh, dan filsafat ilmu. Bidang penelitian penulis meliputi kultur *in vitro* tanaman untuk tujuan perbanyakan dan pemuliaan serta biologi molekuler tanaman. Buku ini merupakan buku ketiga penulis. Dua buku sebelumnya adalah Kultur Jaringan Untuk Perbanyakan Klonal Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) (2016) dan Kultur Jaringan: Teori dan Praktik (2018).