

**MODIFIKASI ZAT PENGATUR TUMBUH DALAM BUDIDAYA
JARINGAN UNTUK PERBANYAKAN BIBIT TEBU (*Saccharum
officinarum*)**

Supalal

SMA Negeri 1 Pemalang, Jalan Jendral Gatot Subroto Pemalang 52319
supalal_ns@yahoo.com

**GROWTH REGULATOR MODIFICATION IN TISSUE CULTURE FOR
SUGARCANE (*Saccharum officinarum*) MULTIPLICATION**

ABSTRACT

The aim was to obtain growth regulator effect in sugarcane multiplication's method. This research was expected to support particular sugarcane seedlings program. The sugarcane's clone used VMC as explant for this research. The explant used medium MS0, MS + 0,5 mg/l BAP, MS + 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA, MS + 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA. It's repeated 3 times and consisted 3 samples. Research's parameters observed percentage and growing shoot's speed, bud's number, and shoots. MS + 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA had the best growth and shoot's number among the other concentration; which was showed 66,67%.

Keywords: tissue culture, growth regulator, sugarcane shoot

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari peran zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin untuk memperbanyak bibit tebu dalam budidaya jaringan. Penelitian ini diharapkan dapat mendukung program swasembada gula, khususnya dalam hal penyediaan bibit tebu. Waktu penelitian sejak Juli 2012-Januari 2013, yang dilakukan di laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta dan Laboratorium Biologi SMAN 1 Pemalang. Tunas pucuk klon tebu yaitu VMC digunakan sebagai eksplan. Eksplan ditanam pada media MS0; MS dengan tambahan 0,5 mg/l BAP; MS dengan tambahan 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l IBA; dan MS dengan tambahan 1,5 mg/l BAP dan 0,5 mg/l IBA. Setiap perlakuan media diulang tiga kali dan masing-masing ulangan terdiri dari tiga tanaman contoh. Parameter yang diamati meliputi persentase dan kecepatan tumbuh tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas yang terbentuk. Media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA menghasilkan pertumbuhan eksplan dan jumlah tunas yang paling baik jika dibandingkan dengan media lainnya. Tingkat keberhasilan aklimatisasi planlet tebu dengan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA mencapai 66,67%

Kata kunci: budidaya jaringan, zat pengatur tumbuh, tunas tebu

PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu komoditas pertanian yang mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi, yaitu sebagai bahan baku perindustrian gula. Produksi gula tebu nasional sejak beberapa tahun terakhir meningkat. Kontribusi gula tebu pada tahun 2003 yang semula hanya 51,7% meningkat menjadi 61,3% pada tahun 2004 dan 63,0% pada tahun 2008. Akan tetapi, data Dewan Gula Indonesia menunjukkan bahwa produksi gula tebu tidak mampu mengimbangi peningkatan laju konsumsi gula nasional. Pada tahun 2004, impor gula hanya 1,29 juta ton, tetapi pada tahun 2008 impor gula mencapai 1,61 juta ton (Prabowo, 2009).

Tebu di masa mendatang mempunyai nilai ekonomi yang sangat penting, bukan hanya sebagai bahan dasar industri gula kristal putih, tetapi juga sebagai bahan dasar pengembangan bahan bakar nabati bio-ethanol. Hasil samping dalam industri gula kristal putih yang berupa tetes dan bagas merupakan bahan baku murah untuk memproduksi energi. Tetes merupakan bahan baku bio-ethanol yang paling murah, sedangkan bagas terbukti mempunyai nilai ekonomi yang tinggi sebagai bahan bakar ketel dan listrik pabrik. Dengan berbagai pertimbangan nilai ekonomi tebu, di masa mendatang pengembangan lahan tebu tidak dapat dihindarkan.

Pemerintah mencanangkan swasembada gula pada tahun 2014. Kebutuhan gula nasional tahun 2014 diperkirakan mencapai 5,7 juta ton. Untuk mencapai swasembada gula, hal yang harus dilakukan adalah melakukan peningkatan produksi melalui intensifikasi dan ekstensifikasi. Kedua faktor tersebut sangat dipengaruhi oleh pengadaan bibit dari varietas unggul. Pengadaan bibit dalam skala besar, waktu cepat, jenis yang seragam, dan bebas dari Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) sangat sulit dipenuhi melalui teknologi perbanyakan tebu secara konvensional. Solusi untuk menangani masalah tersebut adalah dengan teknologi kultur *in vitro* dan keberhasilan regenerasi untuk pengadaan bibit tebu unggul.

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

Kultur jaringan tanaman didasarkan pada pendapat bahwa tanaman dapat diisolasi bagian tanaman seperti organ, jaringan, atau sel yang dapat dimanipulasi secara *in vitro*. Media tumbuh tanaman terdiri dari 95% air, nutrisi mikro dan nutrisi makro, vitamin, dan gula. Hendaryono *et al.* (1994) mengemukakan secara alami dalam tanaman terdapat hormon yang merupakan senyawa organik yang dapat merangsang atau menghambat proses fisiologis tanaman. Hormon yang ditambahkan dari luar tubuh tanaman disebut zat pengatur tumbuh. Media budidaya jaringan biasanya dilengkapi oleh zat pengatur tumbuh terutama auksin dan sitokinin. Auksin terdiri dari IAA, IBA, NAA, dan 2,4 D. Sitokinin terdiri dari kinetin, *zeatin*, *ribosil*, *benzilaminopurin* (BAP) dan *6-Benzyl Adenin* (BA).

Menurut Suryowinoto (1990), dalam budidaya tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan, pemberian zat pengatur tumbuh dalam media juga perlu diperhatikan karena mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan tersebut menjadi bibit yang baru. Dalam kultur jaringan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin sangat berpengaruh. Auksin dan sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempengaruhi pertumbuhan dan organogenesis dalam kultur jaringan dan organ. Hendaryono *et al.* (1994) mengungkapkan auksin dalam budidaya jaringan berperandalam perkembangan dan pembesaran sel, sehingga tekanan dinding sel terhadap protoplasma berkurang. Hal ini mengakibatkan protoplast dapat mengabsorpsi air di sekitar sel, sehingga sel menjadi panjang terutama sel-sel di bagian meristem. Di sisi lain, auksin dapat juga mendorong terbentuknya sejumlah sel yang cukup banyak tetapi tidak membelah, kumpul dari sel ini yang disebut kalus. Sitokinin merupakan turunan dari adenin, golongan ini berperan penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Interaksi dan perimbangan antara auksin dan sitokinin yang diberikan dalam medium dan yang diproduksi secara endogen oleh tanaman, menentukan arah perkembangan suatu kultur yang ditanam. Sitokinin digunakan untuk merangsang pembelahan sel, terutama bila ditambahkan bersama-sama dengan auksin.

Morfogenesis eksplan tergantung pada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen di dalam tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena *et al.*, 1992). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh untuk perbanyak bibit tebu secara *in vitro*. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh, dalam hal ini auksin dan sitokinin, terbukti dapat menghasilkan pertumbuhan eksplan tebu yang maksimal. Selanjutnya, bibit tebu diaklimatisasi agar mampu hidup di lingkungan luar laboratorium.

MATERIAL DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan sejak Juli 2012 – Januari 2013. Adapun penelitian dibagi menjadi dua tempat penelitian, yaitu tahap pembuatan media dan penanaman dilakukan di Laboratorium kultur jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta serta tahap pengamatan dan analisis data dilakukan di Laboratorium Biologi, SMA Negeri 1 Pemalang.

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat yang terdiri dari gelas beker, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, pinset, skalpel, botol kaca, mikro pipet, alas pemotong, autoklaf, *magnetic stirrer*, *hot plate*, kertas pH, timbangan elektrik, timbangan analitik, lampu spirtus, *Laminar Air Flow* dan kamera digital (Canon Power Shoot 7,1 mega pixel). Bahan yang digunakan terdiri dari *aluminium foil*, *cling wrap*, stok makro MS, stok mikro MS, stok Fe-EDTA, stok myoinositol, stok vitamin MS, stok vitamin MS1, larutan NaOH/KOH, larutan HCl, 2,4-D, aquades, agar, sukrosa, tunas pucuk tebu, kloroks, alkohol, spirtus, detergen, bakterisida dan fungisida.

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penelitian eksperimental (*experimental research*). Menurut Arikunto (2006) metode penelitian eksperimental yaitu, suatu cara untuk mencari hubungan sebab-akibat (hubungan kasual) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan untuk mengetahui pengaruh media dengan empat kombinasi perlakuan media pada kultur jaringan tebu (MS0, MS dengan tambahan 0,5 mg/l BAP; MS dengan tambahan 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l IBA; dan MS dengan tambahan 1,5 mg/l dan 0,5 mg/l IBA) terhadap pertumbuhan eksplan, yang diamati melalui beberapa parameter pengamatan (persentase eksplan bertunas, kecepatan tumbuh tunas, jumlah tunas, tinggi tunas dan persentase keberhasilan aklimatisasi).

Penelitian ini menggunakan bahan tunas pucuk tebu klon VMC. Eksplan ditanam pada perlakuan (1) media MS0, (2) media MS dengan tambahan 0,5 mg/l BAP, (3) media MS dengan tambahan 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l IBA, dan (4) media MS dengan tambahan 1,5 mg/l dan 0,5 mg/l IBA. Setiap perlakuan media diulang tiga kali dan masing-masing ulangan terdiri dari tiga tanaman contoh.

Parameter penelitian yang diamati adalah (a) Persentase eksplan yang membentuk tunas yaitu banyaknya tunas yang terbentuk dari eksplan yang ditanam; (b) Kecepatan pembentukan tunas (hari); (c) Kecepatan pembentukan tunas dihitung sejak eksplan yang ditanam sampai muncul tunas untuk pertama kalinya, dinyatakan dalam hari; (d) Jumlah tunas yaitu banyaknya tunas yang terbentuk dari setiap eksplan yang ditanam; dan (e) Tinggi tunas (cm) yaitu pengukuran tinggi tunas yang diamati setiap 10 hari; (e) Persentase keberhasilan aklimatisasi (%) dihitung dengan pembagian jumlah tanaman (planlet) hidup setelah aklimatisasi setelah 14 hari sejak tanam dengan jumlah total tanaman yang diaklimatisasi dan dinyatakan dalam persen.

Alur Penelitian

1. Sterilisasi Alat

Pada tahap ini semua alat gelas dan logam dicuci dengan sabun sampai bersih, dikeringkan, dan dibungkus kertas. Alat-alat yang perlu disterilisasi dalam *autoklaf* seperti pinset, skalpel, cawan petri, dan botol berisi air aquades untuk air steril. Selain itu, botol-botol yang akan digunakan sebagai wadah media, kertas filter, dan *aluminium foil* sebaiknya juga disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi dilakukan pada temperatur 121°C selama 30 menit.

2. Pembuatan dan Sterilisasi Media Budidaya

Media dasar yang digunakan adalah media MS dengan penambahan ZPT sesuai perlakuan. Sebelum dilakukan pembuatan media, terlebih dahulu dibuat stok media yang terdiri dari unsur hara makro, hara mikro, dan vitamin yang kemudian disimpan dalam lemari es untuk menjaga keawetannya. Langkah selanjutnya yaitu melakukan pipetasi dari larutan stok-stok dan bahan-bahan lainnya sesuai urutannya. Setelah semua stok dimasukkan kemudian ditambahkan akuades. Campuran bahan-bahan tersebut diletakkan di atas *stirer hot plate* agar semua bahan merata. Khusus untuk pembuatan media tahap tiga, ditambahkan ZPT dengan konsentrasi tertentu sesuai perlakuan. Sambil pengadukan berjalan, dilakukan pengukuran pH sampai didapatkan pH optimal yaitu 5.5 – 5.8.

Setelah pengukuran pH selesai, ditambahkan gula dan agar ke dalam media secara perlahan-lahan, kemudian media dipanaskan. Bila sudah larut, media dimasak sampai mendidih. Media yang telah matang/mendidih tadi dituang ke dalam botol sebanyak 10 ml tiap botol. Selanjutnya media yang telah terisi dalam botol tersebut disterilisasi dalam *autoklaf* selama 20 menit pada temperatur 121⁰ C. Setelah dingin, media disimpan pada suhu ruang 24-26⁰ C selama tiga hari sebelum digunakan.

3. Pengambilan dan Sterilisasi Eksplan

Eksplan dipilih dari tanaman yang sehat, tidak terserang hama penyakit, jelas klonnya dan cukup umur (\pm berumur 3-6 bulan). Bahan tanam diambil dari bagian tunas pucuk, sedangkan tahapan selanjutnya meliputi pencucian

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

dari kotoran, dan Sterilisasi bahan tanam di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF).

Untuk pencucian kotoran, tunas pucuk ditempatkan di dalam baki yang selanjutnya dibawa ke ruang pencucian dan dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara disiram air mengalir dan disikat dengan spon dan sedikit sabun. Tunas tersebut kemudian dimasukkan ke dalam baki bersih, dan dibawa ke dalam LAF. Dalam LAF, tunas pucuk disemprot alkohol 96% kemudian dibakar di atas api bunsen, setelah itu dibuka pelepah daunnya. Perlakuan ini diulang sampai 3 kali.

4. Penanaman Eksplan

Sebelum penanaman eksplan, sebaiknya LAF telah disterilkan dengan alkohol dan sinar UV minimal selama ± 30 menit. Selanjutnya, eksplan yang telah steril, diambil dengan pinset kemudian dipotong-potong titik tumbuhnya menjadi ukuran 3 – 5mm. Selanjutnya potongan tersebut dimasukkan ke dalam botol media. Setelah penanaman selesai, botol-botol tersebut disusun di dalam almari gelap.

5. Aklimatisasi Planlet

Media tumbuh yang digunakan adalah arang sekam, cocopeat dan kompos dibungkus rapi dengan plastik untuk disterilkan terlebih dahulu di dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 60 menit. Selanjutnya membersihkan planlet dari botol kultur dengan aquades steril dengan maksud menghilangkan agar bekas media kultur. Daun dan akar dipotong terlebih dahulu sebelum disterilkan. Planlet disterilkan dengan direndam di dalam larutan fungisida Dithane M-45 sebanyak 2 cc/L air selama 5 menit. Lalu diletakkan di atas kertas koran dan dikering-anginkan.

Penanaman dilakukan dengan memindahkan planlet hasil kultur ke dalam media aklimatisasi yang telah disiapkan. Setelah planlet ditanam, planlet disungkup dengan plastik transparan untuk menjaga kelembabannya. Setiap dua hari sekali selama 1 minggu, sungkup dibuka untuk membiasakan planlet dengan kondisi autotrop. Untuk pemeliharaan tanaman, penyiraman dilakukan menggunakan handsprayer setiap pagi atau sore hari. Pemupukan dilakukan

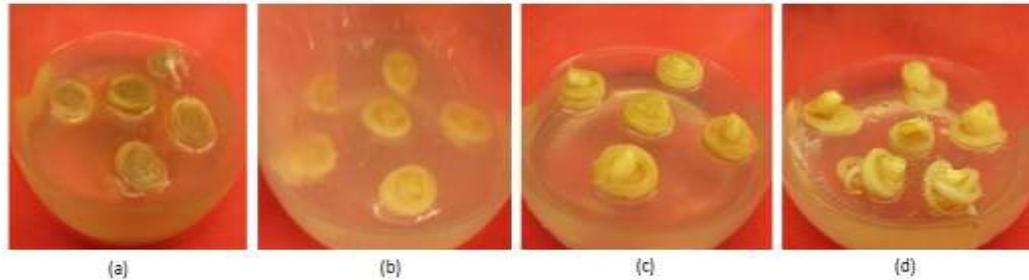
dengan penyemprotan pupuk daun Bayfolan 0,5 cc/L air setiap seminggu sekali. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan penyemprotan Dithane M-45 jika diperlukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam kultur jaringan, penggunaan zat pengatur tumbuh lazim digunakan untuk menentukan arah budidaya atau penelitian. Media Murashige and Skoog (MS) sering digunakan media dasar budidaya jaringan untuk regenerasi tanaman dari jaringan dan kalus. Dalam penelitian ini dilakukan penanaman eksplan tebu VMC pada media tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (MS0); media hanya dengan sitokinin saja untuk mengetahui peran sitokinin dalam kemunculan tunas pada eksplan tebu; dan media dengan dua kombinasi konsentrasi auksin dan sitokinin untuk mempelajari dan menghasilkan planlet tebu yang mampu tumbuh secara maksimal ketika ditumbuhkan pada media *in vitro*. Dalam penelitian ini, jenis sitokinin yang digunakan adalah BAP (*Benzil Amino Purin*) dan auksin yang digunakan adalah IBA (*Indole Butiric Acid*).

Penggunaan BAP sering digunakan dalam kultur jaringan. BAP merupakan salah satu golongan sitokinin, dengan fungsi utama menstimulasi pembelahan sel. BAP dapat mempengaruhi proses fisiologi tanaman, khususnya dalam pembentukan tunas. Sedangkan IBA berperan dalam perpanjangan sel, diferensiasi jaringan xilem dan floem, pembentukan akar adventif. Gunawan (1987) *cit* Kartina *et al.* (2011) menyatakan bahwa pemberian IBA akan mendorong pembentukan akar adventif. Media yang diperuntukkan untuk inisiasi akar juga mampu menghasilkan tunas yang baik. Hal ini karena IBA yang diberikan dalam media akan berinteraksi dengan sitokinin (endogen dan eksogen) untuk regenerasi tunas.

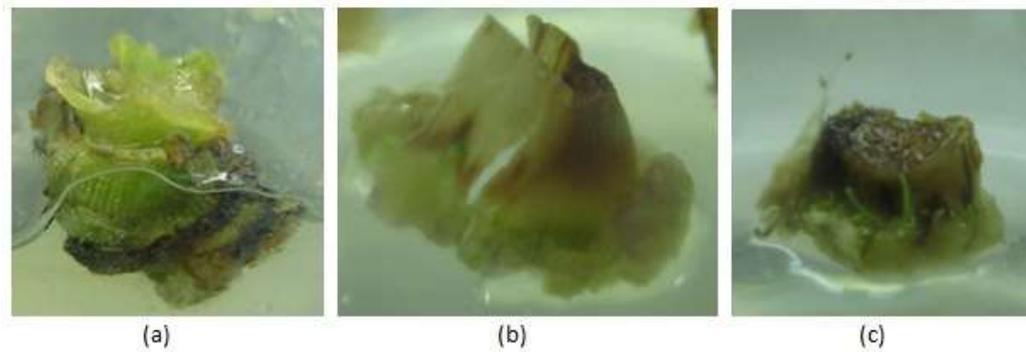
Respon Pertumbuhan



Gambar 1. Respon eksplan pada berbagai media pada hari ketiga setelah tanam; media MS0 (a), media MS+0,5 mg/l BAP (b); media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (c) dan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (d).

Gambar 1 menunjukkan respon eksplan tebu pada hari ketiga setelah tanam. Eksplan tebu diambil dari tunas pucuk tebu yang masih muda. Pemilihan tunas pucuk ini didasarkan pada banyaknya jaringan meristem pada tunas pucuk, di mana jaringan meristem ini merupakan jaringan muda yang memiliki banyak sel-sel yang aktif membelah yang melakukan pertumbuhan sehingga diharapkan eksplan tebu mampu tumbuh ketika ditanam secara *in vitro*. Respon eksplan tebu pada hari ketiga setelah tanam berbeda-beda tergantung media tanam yang digunakan. Media MS0, tanpa penambahan zat pengatur tumbuh belum menunjukkan adanya gejala (respon) pertumbuhan. Media dengan penambahan zat pengatur tumbuh, baik sitokinin jenis BAP saja maupun kombinasi antara auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) telah menunjukkan respon pertumbuhan.

Respon pertumbuhan pada eksplan menunjukkan bahwa eksplan mampu menyerap nutrisi yang terdapat di dalam media tanam. Adanya zat pengatur tumbuh mampu merangsang gejala pertumbuhan pada eksplan, dengan merangsang pembelahan pembesaran sel. Selanjutnya, pertumbuhan masing-masing eksplan bergantung dari keadaan eksplan saat tanam, kandungan media tanam dan faktor lingkungan.



Gambar 2. Respon eksplan pada berbagai media pada hari ke 30 setelah tanam; media MS+0,5 mg/l BAP (a); media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (b) dan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (c).

Dalam penelitian ini, kombinasi auksin dan sitokinin ditujukan untuk regenerasi eksplan melalui organogenesis secara langsung. Organogenesis ini membentuk organ tanaman tanpa melalui kalus. Pada proses organogenesis, eksplan akan menghasilkan tunas dan akar, namun keduanya tidak akan muncul bersamaan, biasanya tunas akan terbentuk terlebih dahulu. Gambar 2 merupakan proses pertumbuhan eksplan tebu pada hari ke 30 setelah tanam pada berbagai perlakuan media tanam. Massa eksplan bertambah besar menunjukkan proses pertumbuhan berlangsung dengan baik karena nutrisi yang terdapat pada media tanam dapat diserap oleh eksplan. Eksplan mulai berwarna hijau menunjukkan klorofil mulai terbentuk akibat rangsangan cahaya. Klorofil ini mutlak diperlukan oleh eksplan untuk berfotosintesis. Hanifa (2007) menyatakan pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat, cenderung menunjukkan warna hijau pada eksplan (atau kalus) lebih lama. Warna hijau ini merupakan efek sitokinin dalam pembentukan klorofil.

Pertumbuhan Eksplan Tebu

Gunawan (1987) menyatakan interaksi dan perimbangan antara auksin dan sitokinin, yang diberikan dalam media tanam dan yang diproduksi secara endogen oleh tanaman, menentukan arah perkembangan budidaya yang ditanam. Hasil penelitian kombinasi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tebu ditunjukkan pada tabel 1.

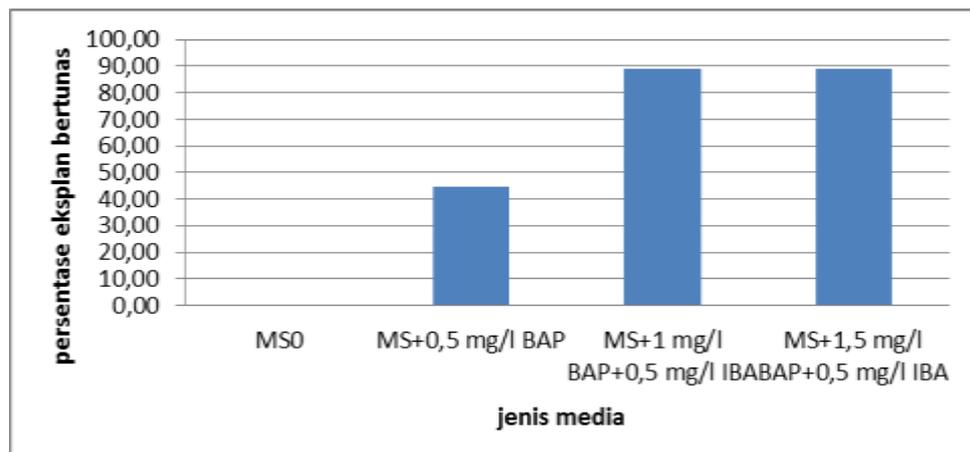
Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

Tabel 1. Besarnya rata-rata per parameter masing-masing media

JENIS MEDIA	% EKSPLAN BERTUNAS	HARI MUNCUL TUNAS	TINGGI TUNAS 60 HARI	TINGGI TUNAS 90 HARI	JUMLAH TUNAS
MS0	0,00	-	-	-	-
MS+0,5 mg/l BAP	44,44	23,67	3,80	7,92	24,17
MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA	88,89	14,00	3,51	10,33	25,28
MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA	88,89	12,67	7,61	16,99	112,83

Persentase Eksplan Bertunas

Besarnya persentase eksplan bertunas ditunjukkan pada Tabel 1, yang menunjukkan bahwa media MS0 tidak mampu memunculkan tunas tebu (0 %). Media dengan penambahan BAP saja (MS+0,5 mg/l BAP) mampu menghasilkan tunas tetapi persentase eksplan yang bertunas rendah, yaitu hanya mencapai 44,44 %; sedangkan media dengan kombinasi BAP dan IBA (MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA dan MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) mampu menghasilkan tunas dengan persentase eksplan bertunas tinggi, mampu mencapai 88,89%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas zat pengatur tumbuh sitokinin jika ditambahkan auksin ke dalam media tanam mampu merangsang kemunculan jumlah tunas pada eksplan tebu.



Gambar 3. Diagram persentase eksplan bertunas pada berbagai media tanam eksplan tebu

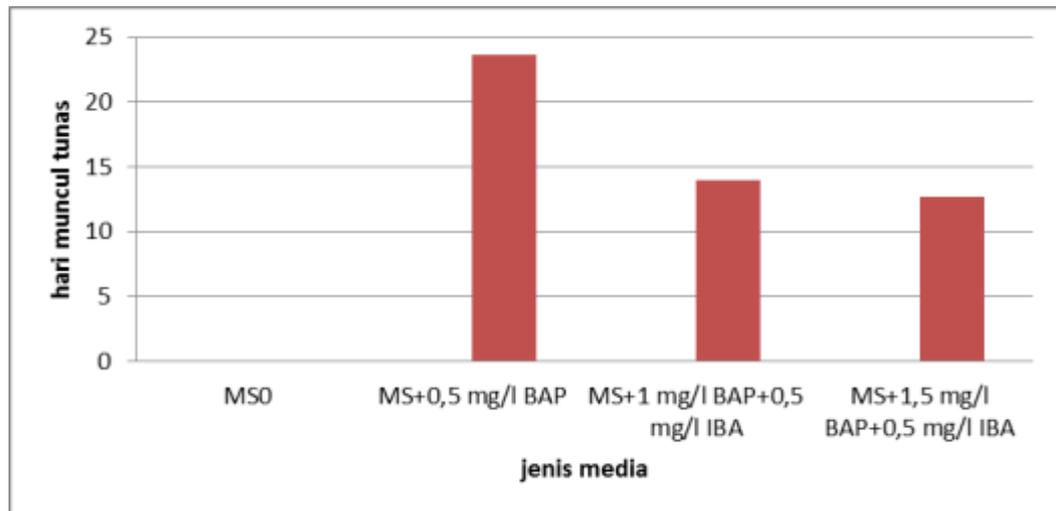
Gambar 3 menunjukkan besarnya persentase eksplan bertunas; pada media MS0 tidak menunjukkan adanya tunas pada eksplan tebu. Tunas tebu muncul

dengan penambahan sitokinin saja, dan besarnya kemunculan tunas hampir mencapai dua kali penambahan sitokinin dan auksin pada media kultur *in vitro*. Hal ini menunjukkan peranan zat pengatur tumbuh terhadap kemunculan tunas pada media kultur *in vitro*. Persentase eksplan bertunas dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang diberikan. Lizawati *et al.* (2012) menyatakan tingginya persentase eksplan berkalus diduga diperoleh saat komposisi zat pengatur tumbuh tepat; karena pembentukan tunas sangat dipengaruhi oleh jenis dan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang diberikan ke dalam media tanam. Konsentrasi zat pengatur tumbuh tersebut mampu menginduksi sel-sel yang berpotensi untuk melakukan pembelahan secara terus-menerus dalam waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hari Kemunculan Tunas

Tabel 1 menunjukkan hari kemunculan tunas pada eksplan tebu. Media MS0 tidak mampu memunculkan tunas pada eksplan sampai hari ke 30 sejak penanaman eksplan, yang selanjutnya eksplan tebu pada media MS0 mengalami kematian. Media dengan penambahan BAP saja (MS+0,5 mg/l BAP) memunculkan tunas tetapi pada hari ke 23,67. Media dengan kombinasi BAP dan IBA mampu mempercepat kemunculan tunas pada eksplan tebu, yaitu pada hari ke-14 pada MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA dan hari ke-12 pada MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas zat pengatur tumbuh sitokinin jika ditambahkan auksin ke dalam media tanam mampu mempercepat kemunculan tunas pada eksplan tebu.

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

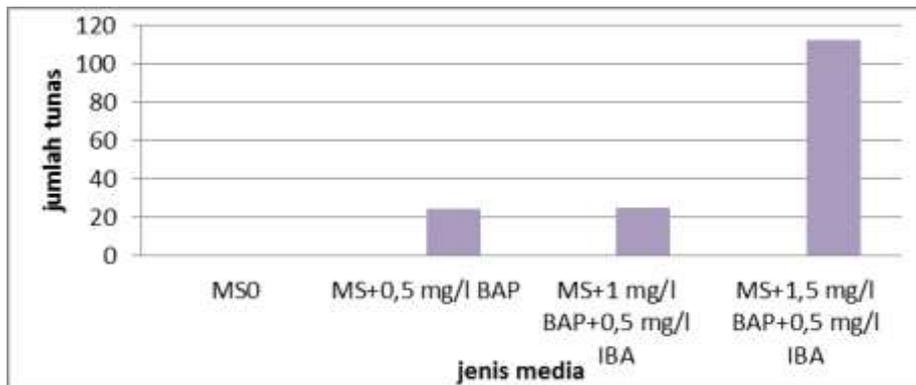


Gambar 4. Diagram hari munculnya tunas pada berbagai media tanam eksplan tebu

Gambar 4 menunjukkan hari munculnya tunas pada eksplan tebu. Eksplan tebu pada media MS0 tidak mampu memunculkan tunas pada eksplan tebu. Media MS0 tanpa penambahan zat pengatur tumbuh menunjukkan tidak ada respon pertumbuhan pada eksplan, yang pada akhirnya eksplan mengalami kematian. Penambahan sitokinin (BAP) saja menunjukkan respon yang lebih lama untuk parameter hari munculnya tunas, jika dibandingkan dengan media tanam yang ditambahkan sitokinin dan auksin. Dan dengan penambahan konsentrasi sitokinin pada media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA mampu memunculkan tunas lebih cepat dua hari jika dibandingkan media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA. Sejalan dengan George dan Sherrington (1984) *cit* Sari *et al.* (2011) menyatakan bahwa kemampuan suatu eksplan untuk berdiferensiasi tidak hanya tergantung pada hormon endogen yang terdapat pada tumbuhan itu sendiri tetapi juga bergantung pada penambahan hormon eksogen pada media pertumbuhan. Sitokinin jenis BAP dan kinetin sangat efektif untuk pembentukan tunas aksilar dan menghambat dominasi tunas apikal. Oleh karena itu, kedua jenis sitokinin ini efektif digunakan untuk memperbanyak tunas.

Jumlah Tunas

Parameter banyaknya jumlah tunas dapat diketahui melalui tabel 1. Banyaknya jumlah tunas yang muncul pada media MS+0,5 mg/l BAP sebanyak 24, 17 buah. Adanya penambahan auksin jenis IBA pada media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA tidak menunjukkan jumlah yang signifikan, yaitu hanya sekitar 25,28 buah. Namun penambahan konsentrasi sitokinin dan auksin pada media MS+1 mg/l,5 BAP+0,5 mg/l IBA menunjukkan hasil yang signifikan, yaitu mampu mencapai 112,83 buah jumlah tunas. Hal ini menunjukkan bahwa dengan kombinasi konsentrasi yang tepat antara sitokinin dan auksin pada media tanam mampu menghasilkan jumlah tunas yang maksimal pada eksplan tebu.



Gambar 5. Diagram jumlah tunas pada berbagai media tanam eksplan tebu

Gambar 5 menunjukkan histogram banyaknya jumlah tunas pada berbagai media tanam tebu. Banyaknya jumlah tunas yang dihasilkan oleh eksplan tebu untuk masing-masing perlakuan media menunjukkan kemampuan eksplan berdifirensiasi. Penambahan sitokinin saja mampu memunculkan tunas pada eksplan tebu, tetapi dengan kombinasi konsentrasi antara auksin dan sitokinin yang tepat yang mampu memunculkan jumlah tunas yang paling banyak. Media kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP yang besar (MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) mampu menghasilkan tunas paling banyak, mencapai kisaran 110 buah. Jumlah tersebut berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan media tanam lainnya, yaitu dengan penambahan sitokinin saja (jenis BAP) dan kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP kecil (MS+1 mg/l

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya

BAP+0,5 mg/l IBA), yaitu hanya sekitar 24 – 25 buah tunas saja. Hal ini menunjukkan aktivitas zat pengatur tumbuh mampu merangsang perkembangan eksplan.

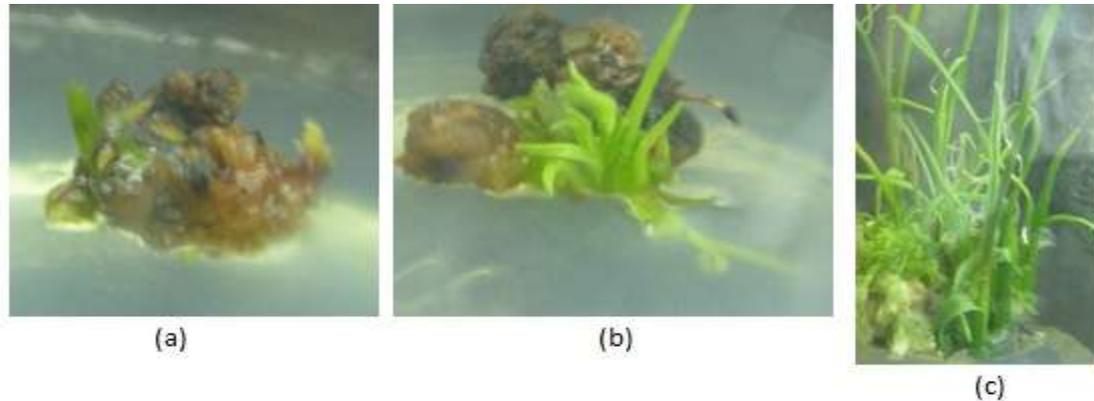
Banyaknya tunas yang dihasilkan pada perlakuan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA sangat menguntungkan dalam perbanyakannya dengan metode kultur jaringan. Dalam hal ini, tahapan multiplikasi yang merupakan menggandakan propagul atau calon tanaman, berupa tunas ataupun embrio Tunas-tunas ini dapat dipotong dan ditanam kembali dalam botol kultur jaringan baru sehingga dalam perkembangannya nanti dapat menghasilkan bibit tebu dalam jumlah yang sangat banyak. Untuk penelitian tertentu, tahapan multiplikasi dapat dihentikan sesuai dengan tujuan penelitian. Setelah munculnya tunas, biasanya masuk tahapan pengakaran yang selanjutnya planlet diaklimatisasi untuk penyesuaian dengan lingkungan luar.

Tinggi Tanaman

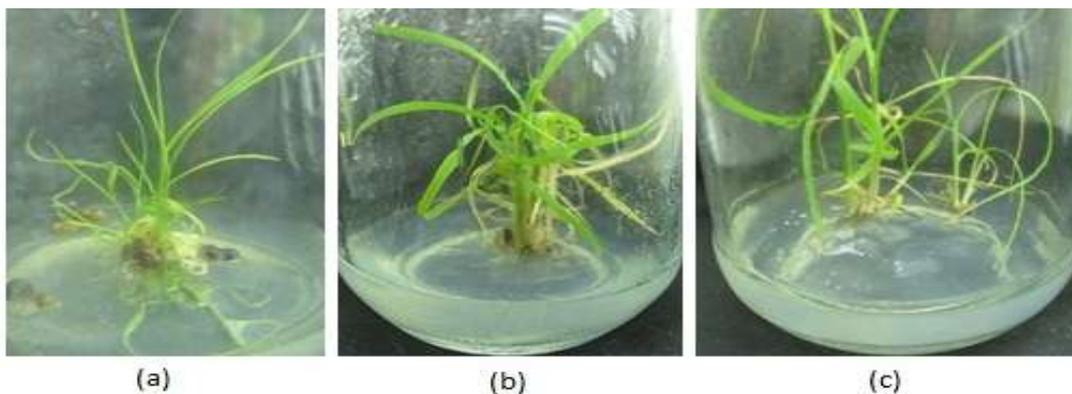
Pengamatan tinggi tunas pada hari ke 60 dan hari ke 90 setelah tanam dapat dilihat pada tabel 1. Pengamatan tinggi tunas pada hari ke 60, media kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP yang besar (MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) mampu menghasilkan tunas dengan tinggi tunas paling tinggi, yaitu mencapai 7,61 cm; jika dibandingkan dengan dua jenis media lainnya. Media dengan penambahan BAP saja, yaitu MS+0,5 mg/l BAP dan kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP kecil (MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) hanya mencapai tinggi tanaman sebesar 3,80 cm dan 3,51 cm.

Namun, pada pengamatan tinggi tunas pada hari ke 90 setelah tanam menunjukkan peningkatan tinggi tunas yang cukup signifikan pada kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP kecil (MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) mencapai kisaran 10,33 cm jika dibandingkan dengan media dengan penambahan BAP saja (MS+0,5 mg/l BAP), yaitu hanya sekitar 7,92 cm. Media kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP yang besar (MS+1,5

mg/l BAP+0,5 mg/l IBA) tetap mampu menghasilkan tunas dengan tinggi tunas paling tinggi, yaitu mencapai kisaran 16,99 cm.



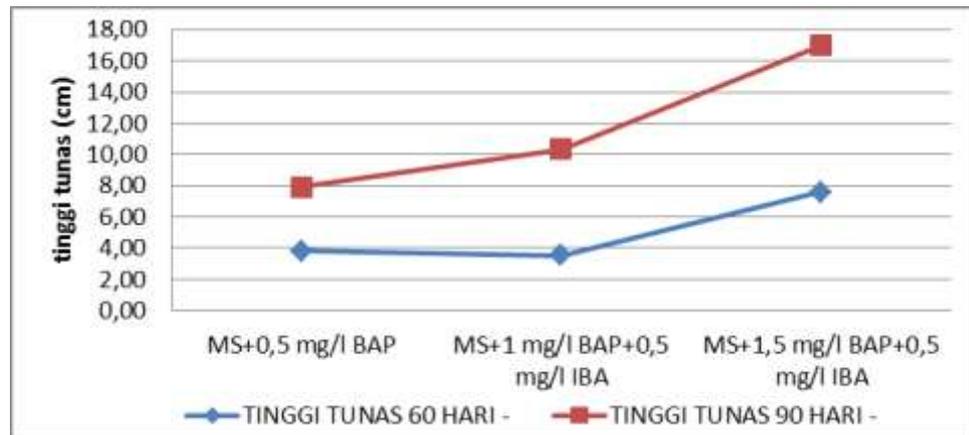
Gambar 6. Pengamatan tinggi tunas tebu hari ke 60 setelah tanam pada media MS+0,5 mg/l BAP (a); media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (b) dan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (c).



Gambar 7. Pengamatan tinggi tunas tebu hari ke 90 setelah tanam pada media MS+0,5 mg/l BAP (a); media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (b) dan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA (c).

Gambar 8 menunjukkan pertumbuhan tunas tebu pada hari ke 60 dan hari ke 90 setelah tanam pada berbagai media tanam. Secara umum, pengamatan tinggi tunas paling tinggi dicapai media kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi BAP yang besar (MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA), yaitu mampu menghasilkan tinggi tunas sekitar 7,6 cm pada hari ke-60 dan sekitar 17 cm pada hari ke-90. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi yang tepat mampu menghasilkan pertumbuhan tunas yang maksimal.

Supalal, Modifikasi Zat Pengatur Tumbuh dalam Budidaya



Gambar 8. Grafik tinggi tunas pada hari ke-60 dan hari ke-90 setelah tanam pada berbagai media tanam tebu

Pertumbuhan merupakan proses penambahan massa tanaman, meliputi ukuran dan volume yang *irreversible* (tidak dapat balik kembali). Penambahan tinggi tunas tebu dapat digunakan untuk menggambarkan pola pertumbuhan tanaman selama kultur *in vitro*. Pertambahan tinggi tunas ditunjukkan oleh semua perlakuan media tanam, yang artinya eksplan mampu menyerap nutrisi secara optimal sehingga dapat terus tumbuh. Penggunaan zat pengatur tumbuh berperan positif terhadap pertumbuhan eksplan. Peranan auksin dan sitokinin mampu menghasilkan pola pertumbuhan maksimal jika berada dalam konsentrasi yang tepat. Kombinasi konsentrasi pada media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA menghasilkan pertumbuhan tunas yang paling baik jika dibandingkan dengan perlakuan media lainnya.

Aklimatisasi Planlet

Tabel 2. Hasil aklimatisasi planlet tebu

MEDIA TANAM	Jumlah planlet yang dipindahkan	jumlah planlet yang hidup	Persentase hidup (%)
MS0	-	-	-
MS+0,5 mg/l BAP	9	4	44,44
MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA	9	6	66,67
MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA	9	6	66,67

Berdasarkan tabel 2, diketahui bahwa persentase hidup planlet yang diaklimatisasi mencapai 66,67% pada media MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA dan

MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBAdan terendah 44,44% untuk media MS+0,5 mg/l BAP. Hal ini berkaitan erat dengan kondisi planlet yang akan diaklimatisasi. Kelengkapan organ planlet sangat mendukung keberhasilan aklimatisasi untuk keberlangsungan hidup planlet, antara lain planlet telah memiliki daun, perakaran yang kuat dan tegar (tidak mudah patah).

Aklimatisasi merupakan suatu kegiatan pemindahan planlet dari lingkungan terkendali (kultur *in vitro*) ke lingkungan mandiri (*eks vitro*). Planlet yang pertumbuhannya telah optimal dan memiliki perakaran yang sempurna dapat dilakukan aklimatisasi. Ukuran planlet akan menentukan keberhasilan proses aklimatisasi. Biasanya ketika planlet mencapai ukuran 8 – 10 cm selanjutnya diaklimatisasi di rumah kaca. Daun berperan sebagai tempat fotosintesis sehingga mutlak diperlukan ketika planlet anggrek akan diaklimatisasi. Semakin banyak jumlah daun planlet, semakin besar pula planlet mampu menyediakan makanan sendiri, artinya semakin besar pula keberhasilan aklimatisasi. Begitu juga dengan akar, yang berfungsi sebagai alat mencari unsur hara dan air. Semakin panjang dan kompak perakaran planlet anggrek, semakin luas jangkauan bidang penyerapan unsur hara dan air, yang artinya mendukung keberhasilan aklimatisasi anggrek hasil kultur jaringan.

Zulkarnain (2009) menyebutkan masa aklimatisasi merupakan masa kritis karena bibithasil kultur jaringan menunjukkan beberapa sifat kurang menguntungkan, seperti lapisan lilin (kutikula tidak berkembang baik, kurangnya lignifikasi batang, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang dan stomata sering kali tidak berfungsi (tidak menutup ketika penguapan tinggi). Keadaan itu menyebabkan bibithasil kultur jaringan sangat peka terhadap transpirasi, serangan cendawan dan bakteri, cahaya dengan intensitas tinggi dan suhu tinggi. Oleh karena itu, aklimatisasi bibithasil kultur jaringan memerlukan penanganan khusus terhadap kondisi lingkungan terutama dalam kaitannya dengan suhu, kelembaban dan intensitas cahaya.

KESIMPULAN

Adanya pengaruh zat pengatur tumbuh, baik sitokinin saja maupun kombinasi auksin dan sitokinin, terhadap pertumbuhan eksplan tebu. Kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat akan menghasilkan pertumbuhan eksplan yang maksimal. Media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA menghasilkan pertumbuhan eksplan yang paling baik jika dibandingkan dengan media lainnya. Tingkat keberhasilan aklimatisasi planlet tebu dengan media MS+1,5 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA mencapai 66,67%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arikunto, S. 2006. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Rhineka Cipta. Jakarta.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Budidaya Jaringan Tumbuhan*. PAU Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hanifa. 2007. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In Vitro*. Skripsi Diterbitkan. Universitas Negeri Sebelas Maret. Surakarta.
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayanti, A. 1994. *Teknik Budidaya Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Kartina, A.M., Nurmayunis dan Susiyanti. 2011. Pengaruh IBA terhadap Pembentukan Akar pada Tanaman Aren. *Jurnal Agrivigor* 10 (2) : 208 – 218.
- Lizawati, Neliyati dan R. Desfira. 2012. Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr. Cv. Selat Jambi) pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP. *Fakultas Pertanian Universitas Jambi* 1 (1) : 1 – 7.
- Prabowo, H. E. 2009. *Gula: Dulu Eksportir, Kini Importir*. Kompas edisi Kamis, 23 Juli 2009.
- Sari, Y.P., H. Manurung dan V. Novita. 2011. Mikropropagansi Tanaman Angrek Tebu (*Grammatophyllum speciosum* BL.) secara *In Vitro* dari Sumber Eksplan Tunas Pucuk pada Media MS (*Murashige Skoog*) dengan Penambahan Madu. *Mulawarman Science* 10 (1) : 1-12.
- Suryowinoto, M. 1990. *Pemuliaan Tanaman Secara Invitro*. PPS-Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.A. Maatjik, Sjamsudin, N.M.A. Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. PAU Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Zulkarnain, H. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara. Jakarta.