

PENYEDIAKAN BENIH TEBU KLONAL MENGUNAKAN TEKNIK KULTUR *IN* *VITRO* MENUNJANG PENCAPAIAN TARGET SWASEMBADA GULA

Ragapadmi Purnamaningsih

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber
Daya Genetik Pertanian*

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman penting yang bernilai ekonomi tinggi di berbagai negara, terutama di negara berkembang yang beriklim tropis seperti Indonesia. Tanaman tebu tergolong tanaman perdu dengan nama latin *Saccharum officinarum*. Tanaman tebu tumbuh di daerah tropika dan sub tropika sampai batas garis isotherm 20°C yaitu antara 19°LU–35°LS. Kondisi tanah yang baik bagi tanaman tebu adalah yang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah, selain itu akar tanaman tebu sangat sensitif terhadap kekurangan udara dalam tanah, sehingga pengairan dan drainase harus sangat diperhatikan.

Tanaman tebu dapat tumbuh baik pada berbagai jenis tanah seperti tanah alluvial, grumosol, latosol dan regusol dengan ketinggian antara 0–1400 m di atas permukaan laut. Akan tetapi lahan yang paling sesuai adalah kurang dari 500 m di atas permukaan laut, sedangkan pada ketinggian 1200 m di atas permukaan laut

pertumbuhan tanaman relatif lambat. Batang tebu dimanfaatkan terutama sebagai bahan dasar utama dalam industri gula dan bahan baku industri lainnya seperti farmasi, kimia, pakan ternak, pupuk, jamur, dan lain-lain. Pengembangan industri gula saat ini tidak hanya berperan penting dalam pertumbuhan perekonomian negara, tetapi juga berkaitan langsung dengan pemenuhan kebutuhan masyarakat (Indrawanto *et al.* 2010).

Tebu dapat diperbanyak secara vegetatif dan generatif. Perbanyak tebu secara komersial dilakukan secara vegetatif melalui setek. Di beberapa negara tropis, 2-3 bagian buku (nodus) batang tebu digunakan sebagai bahan tanaman baru (Jalaja *et al.* 2008), dengan cara menanam dua atau tiga mata tunas (budset). Satu tunas akan menghasilkan empat hingga lima tunas dalam satu tahun (Khan *et al.* 2009 dalam Getnet 2017), sehingga 1 ha benih tebu hanya cukup untuk menanam 10 ha lahan komersial dalam 7–10 bulan (Biradar *et al.* 2009 dalam Getnet 2017). Pengembangan varietas yang baru dirilis akan membutuhkan benih dalam jumlah yang banyak, dengan metode perbanyak benih secara konvensional diperlukan waktu 10 tahun untuk memproduksi benih dalam jumlah yang cukup (Sughra *et al.* 2014 dalam Getnet 2017), bahkan apabila laju perbanyak tanaman rendah diperlukan 10-12 tahun untuk pengembangan varietas baru (Lal *et al.* 2014). Metode perbanyak tebu secara konvensional memiliki kekurangan antara lain waktu perbanyak benih lama, membutuhkan tanaman induk dan tenaga yang banyak (Sukmadjaja & Mulyana 2011), meningkatnya serangan penyakit dan hama selama beberapa siklus produksi di lapangan (Getnet, 2017), dan ketergantungan musim tanam. Selain itu juga dapat terjadi degenerasi klonal yang dapat merugikan (Ekasugiyarta 2014).

Pertumbuhan penduduk Indonesia yang sangat cepat menyebabkan kebutuhan gula konsumsi yang semakin meningkat pula, kondisi ini menyebabkan produksi gula Indonesia tidak dapat memenuhi kebutuhan konsumsi gula nasional. Defisit ini terus

meningkat dan hanya bisa dipenuhi melalui impor gula. Dengan harga gula dunia yang tinggi dan defisit yang terus meningkat, mengakibatkan terjadinya pengurasan devisa negara. Pemerintah telah menetapkan swasembada gula konsumsi pada tahun 2019 dengan target produksi gula sebanyak 2,84 juta ton dan swasembada gula industri pada tahun 2029 sebanyak 2,86 juta ton (Kementan 2015). Salah satu upaya peningkatan produksi gula nasional adalah melalui pengembangan areal penanaman tebu, untuk itu dukungan pemenuhan bibit bermutu dalam jumlah besar sangat diperlukan (Minarsih *et al.* 2013).

Perkembangbiakan tebu secara konvensional menghadapi kendala tingkat propagasi rendah, tenaga kerja mahal, waktu lama, serta dapat terjadi penularan patogen melalui benih tebu dari generasi ke generasi, oleh karena itu permintaan benih yang besar akan sulit dipenuhi dengan metode propagasi konvensional. Faktor lain yang menyebabkan lambatnya pengembangan varietas baru adalah adanya tingkat penjenjangan pada produksi benih sebelum dapat digunakan sebagai tebu giling.

Aplikasi bidang bioteknologi tanaman melalui teknik kultur jaringan merupakan metode yang potensial dalam untuk mengatasi permasalahan produksi benih tanaman, termasuk tebu (Getnet 2017; Jalaja *et al.* 2008; Lal *et al.* 2014). Teknik kultur jaringan dapat digunakan pada perbanyakan tanaman tebu dalam menghasilkan benih dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat, pertumbuhan seragam, bebas patogen, dan produksi benih yang tidak tergantung musim (Jalaja *et al.* 2008, Tiwari *et al.* 2011). Teknik kultur jaringan terbukti merupakan metode yang lebih efisien dalam produksi benih berbagai tanaman dibanding dengan metode konvensional, benih yang dihasilkan juga bebas dari patogen sehingga kematian benih juga dapat diminimalkan (Lal *et al.* 2014).

TIPE KEMASAKAN TEBU

Umur panen tebu dapat dikelompokkan berdasarkan tipe kemasakannya. Kategori kemasakan tebu terkait dengan lama tanaman tebu yang telah berumur fisiologi dewasa (lebih dari 9 bulan) mengalami kondisi lengas tanah rendah (kurang dari 50% kapasitas lapang) dan menunjukkan tingkat kecepatan masakannya. Terdapat tiga tipe kemasakan pada tanaman tebu (Indrawanto *et al.* 2010), yaitu:

1. Varietas Genjah (masak awal), mencapai masak optimal +8–10 bulan.
2. Varietas Sedang (masak tengahan), mencapai masak optimal pada umur +10–12 bulan.
3. Varietas Dalam (masak lambat), mencapai masak optimal pada umur lebih dari 12 bulan.

Produktivitas suatu pertanaman tebu merupakan sinergi dari kemampuan suatu varietas dan pengelolaan lingkungan tumbuhnya. Penggunaan varietas yang sesuai disertai pengelolaan lingkungan tumbuh yang tepat akan menghasilkan produktivitas tanaman yang tinggi.

PENJENJANGAN BERTINGKAT PADA PRODUKSI BENIH TEBU

Suatu varietas baru harus melalui beberapa tingkat penjenjangan sebelum dapat digunakan untuk tebu giling. Tebu bibit dibudi dayakan melalui beberapa tingkat kebun bibit yaitu berturut-turut dari kebun bibit pokok (KBP), kebun bibit nenek (KBN), kebun bibit induk (KBI), dan kebun bibit datar (KBD), sebelum dapat digunakan sebagai sumber bibit bagi pertanaman atau Kebun Tebu Giling (KTG). Proses seleksi bertingkat dilakukan dari satu tingkat kebun bibit ketingkat berikutnya, sehingga diperoleh benih yang mempunyai kualitas baik dan dalam

jumlah yang banyak (Indrawanto *et al.* 2010). Proses penjenjangan bibit yang panjang serta terbatasnya jumlah benih yang dihasilkan merupakan salah satu kendala yang dihadapi dalam pengadaan benih tebu. Pembibitan tebu secara konvensional diperkirakan tidak akan cukup untuk memenuhi jumlah kebutuhan bibit tebu yang diperlukan (Sukmadjaja *et al.* 2014).

Secara umum, tidak tersedianya kualitas yang baik untuk bahan tanam varietas yang baru dirilis merupakan kendala utama dalam pengembangan varietas tersebut untuk penggunaan komersial, karena perbanyak benih secara konvensional akan menghadapi kendala penyebaran penyakit yang terbawa oleh benih. Oleh karena itu, program pengembangan dan peningkatan produktivitas tanaman tebu, termasuk penyediaan bibit dalam skala besar, cepat, murah, dan bebas penyakit menjadi hal yang sangat perlu dilakukan (Sukmadjaja & Mulyana 2011; Lal *et al.* 2014).

PERBANYAKAN TEBU MENGGUNAKAN METODE KULTUR *IN VITRO*

Teknik kultur jaringan tanaman memberikan metode alternatif untuk perbanyak tebu. Perbanyak benih tebu melalui kultur *in vitro* merupakan pilihan yang tepat untuk memproduksi benih secara cepat dan bebas penyakit, terutama untuk varietas tebu baru yang akan dikembangkan secara massal (Lal *et al.* 2014; Jalaja *et al.* 2008; Tiwari *et al.* 2011). Kultur jaringan terbukti dapat meningkatkan perbanyak tunas secara cepat, yang disebut dengan laju multiplikasi. Kaur & Sandhu (2015) menunjukkan laju multiplikasi kultivar CoPb91 adalah 4 kali setiap 14 hari, sedangkan laju multiplikasi kultivar CoJ 83 adalah 25 kali lipat/14 hari. Kelebihan benih tebu hasil kultur jaringan adalah mempunyai anakan, pertumbuhan yang baik, serta produktivitas yang

lebih baik dibandingkan benih tebu hasil perbanyak konvensional (Hamza *et al.* 2017).

Teknik kultur jaringan dimulai dengan mengisolasi bagian-bagian tanaman (sel, jaringan, organ) yang disebut eksplan, kemudian menumbuhkannya secara aseptis pada suatu media tumbuh sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri. Perkembangbiakan atau regenerasi dalam kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik, baik secara langsung maupun tidak langsung melalui tahap kalus (Jalaja *et al.* 2008, Kaur & Sandhu 2015).

Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem. Organogenesis langsung dapat diinisiasi dari tunas pucuk, meristem apikal, atau tunas adventif yang diinisiasi dari berbagai organ, antara lain daun, batang, akar, sedangkan organogenesis tidak langsung adalah pembentukan tunas adventif secara tidak langsung melalui fase kalus. Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Purnamaningsih 2002). Embrio somatik mempunyai struktur bipolar, yaitu mempunyai calon meristem akar dan meristem tunas. Secara spesifik tahap perkembangan tersebut dimulai dari fase globular, fase hati, fase torpedo, dan planlet. Berbagai metode yang dilakukan mempunyai tingkat kesamaan genetik yang berbeda-beda tergantung metode yang digunakan. Analisis ISSR menunjukkan bahwa tunas yang diregenerasi dari ujung tunas (Bhatia *et al.* 2009); nodus (Joshi & Dhawan 2007) dan tunas adventif (Liu *et al.* 2011; Yin *et al.* 2013) mempunyai kesamaan genetik 100% dengan induknya.

KULTUR TUNAS PUCUK

Tunas pucuk diisolasi dari pucuk batang tebu. Kultur tebu dengan menggunakan tunas pucuk mempunyai kelebihan yaitu benih yang dihasilkan serupa dengan induknya, keragaman genetik lebih rendah sehingga akan menjamin kualitas benih. Induksi tunas dan multiplikasi tebu dari tunas umumnya menggunakan BA 1–2 mg/l (Aamir *et al.* 2012), atau dikombinasikan dengan GA₃ (Zamir *et al.* 2012).

KULTUR MERISTEM APIKAL

Meristem merupakan kumpulan sel-sel yang aktif membelah pada tempat tertentu pada tanaman dan berukuran sangat kecil. Sel-sel pada meristem dapat membelah dengan cepat dan akhirnya akan membentuk organ-organ tanaman.

Meristem apikal disebut juga sebagai meristem ujung karena keberadaan jaringan meristem yang letak pada bagian ujung akar, ujung batang utama dan ujung batang lateral. Meristem apikal memiliki empat fungsi, yaitu inisiasi pembentukan organ dan jaringan baru, komunikasi sinyal ke seluruh bagian tanaman, dan mempertahankan diri sebagai daerah formatif (Jalaja *et al.* 2008).

Penggunaan kultur meristem sebagai bahan tanaman didasari hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bagian meristem tanaman tidak terinfeksi oleh virus. Bibit bermutu harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain bersifat sama dengan induknya (*true-to-type*), seragam, tegar, dan bebas penyakit. Melalui kultur meristem atau apeks, kriteria tersebut dapat terpenuhi.

Mikropropagasi tebu melalui metode kultur meristem atau apeks merupakan cara yang paling banyak diaplikasikan karena selain lebih menjamin stabilitas genetik dari tanaman yang dihasilkan (*true-to-type*), jumlah bibit yang dihasilkan pun lebih

banyak, serta tanaman akan bebas penyakit, terutama virus (Sukmadjaja *et al.* 2014). Menurut Tiwari *et al.* (2011), virus dapat dieliminasi dari tanaman dengan menggunakan beberapa metode, antara lain termoterapi dan kultur apeks atau meristem, atau kombinasi keduanya.

Perbanyakkan benih secara massal menggunakan kultur meristem mempunyai tingkat kesulitan regenerasi eksplan yang lebih besar dibandingkan dengan menggunakan tunas pucuk sebagai eksplan. Hasil penelitian Cheong *et al.* (2012) menunjukkan bahwa regenerasi apikal meristem dengan menggunakan tunas pucuk dan meristem apikal masing-masing 61-92% dan 77-100%. Hasil yang diperoleh juga menunjukkan bahwa tanaman yang berasal dari meristem apikal bebas dari virus dengan keberhasilan 90-100%. Ali *et al.* (2008) berhasil meregenerasikan meristem tunas apikal tebu varietas CO77,400 dan BL-4 pada media dasar MS yang ditambahkan kombinasi BAP, kinetin, dan GA3, serta dilanjutkan dengan pembentukan planletnya pada media MS yang mengandung NAA dan IBA.



Sumber: Djufry *et al.* (2017)

Gambar 2.7. Tunas *in vitro* berasal dari kultur meristem apikal

KULTUR KALUS

Kalus adalah suatu kumpulan sel yang belum terdiferensiasi yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Sel-sel penyusun kalus berupa sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Kalus biasanya terbentuk pada eksplan ditempat irisan. Pembelahan sel-sel pada kalus dipacu oleh hormon endogen dan eksogen yang ditambahkan pada media kultur. Beberapa kalus ada yang mengalami pembentukan lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Namun ada kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi fragmen-fragmen yang kecil, kalus yang demikian dikenal dengan kalus remah (*friable*) (George & Sherrington 1984).

Penambahan zat pengatur tumbuh untuk menginduksi pembentukan kalus dapat terdiri dari satu atau beberapa jenis, tergantung kepada jenis tanaman dan eksplan yang digunakan. Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin berupa 2,4-D merupakan jenis auksin yang paling banyak digunakan untuk menginduksi kalus pada tanaman famili Gramineae (Lee *et al.* 2011) termasuk tanaman tebu. Senyawa 2,4-D berperan dalam memacu hipermetilasi pada DNA, sehingga pembelahan sel selalu dalam fase mitosis, dengan demikian maka pembentukan kalus menjadi optimal (Meneses *et al.* 2005).

Kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung dari beberapa faktor, yaitu: (1) umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi; (2) musim pada waktu bahan tanaman diisolasi; (3) bagian tanaman yang dipakai; dan (4) genotipe tanaman.

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Daun muda diketahui merupakan eksplan yang lebih baik untuk inisiasi kalus karena mampu menghasilkan kalus morfogenik pada setiap level (Laksmanan *et al.* 2005). Abu

et al. (2014) menggunakan media dasar MS dan 2,4-D 2-3 mg/l untuk induksi kalus dari eksplan daun, dan MS + BA 1-2 mg/l untuk regenerasi kalus membentuk tunas.

Hasil penelitian Khan & Khatri (2006) menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D 4 mg/l dapat menginduksi pembentukan kalus embriogenik dari daun muda. Hasil yang berbeda diperoleh dari penelitian Raza *et al.* (2012) bahwa penggunaan 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi rendah mendukung perkembangan kalus embriogenik, sedangkan regenerasi kalus diperoleh menggunakan BA 0,2 mg/l.

EMBRIOGENESIS SOMATIK

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Embrio somatik dapat dicirikan dari strukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas. Dengan memiliki struktur tersebut maka perbanyakannya melalui embrio somatik lebih menguntungkan daripada pembentukan tunas adventif yang unipolar (Purnamaningsih 2002).

Tahap perkembangan embrio somatik pada tanaman monokotil dimulai dari pembentukan globular, skutelar, dan koleoptilar. Mekanisme penting selama proses embriogenesis somatik yaitu pembelahan sel secara asimetris dan elongasi sel. Auksin sintesis yang umumnya digunakan untuk menginduksi embriogenesis somatik dari berbagai tanaman adalah 2,4-D. Embriogenesis somatik telah dilaporkan dari sejumlah besar klon tebu komersial dan dapat diperoleh secara langsung atau tidak langsung dari jaringan daun (Wekesa *et al.* 2014; Raza *et al.* 2012). Ho & Vasil (1983) berhasil meregenerasikan eksplan daun muda tebu melalui metode embriogenesis somatik. Formulasi media

yang digunakan untuk induksi kalus embriogenik adalah media MS dengan penambahan 2,4-D 0.5-3 mg/l dan air kelapa 5%, sedangkan pengurangan 2,-D menjadi 0.25-0.5 mg/l dapat menginduksi pembentukan struktur embrioid. Khan & Khatri (2006) berhasil menginduksi pembentukan struktur embrioid tebu yang diinduksi dari daun muda dengan menggunakan media mengandung 2,4-D pada konsentrasi rendah, yaitu 0.5 mg/l, sedangkan regenerasinya membentuk planlet diperoleh dengan menggunakan media MS mengandung sukrosa 2%, kinetin, IAA, IBA masing-masing pada konsentrasi mg/l. Penguasaan metode embriogenesis pada tanaman tebu sangat diperlukan untuk merakit varietas tebu baru menggunakan rekayasa genetik (Lakshmanan 2006).mbryogenic

Perbanyakan benih tebu melalui teknik kultur *in vitro* telah banyak dilaporkan oleh peneliti. Umumnya, hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa keberhasilan regenerasi tanaman tebu tergantung pada genotipe tanaman, sumber eksplan yang digunakan, dan formulasi media untuk meregenerasikannya (Ali *et al.* 2008; Abu *et al.* 2014). Komposisi media dasar dan zat pengatur tumbuh, baik sitokinin maupun auksin, merupakan komponen yang paling banyak dipelajari dalam regenerasi tanaman tebu, selain itu bentuk fisik media dalam kultur *in vitro* (media dengan atau tanpa penambahan agar) merupakan faktor yang mempengaruhi regenerasi tanaman tebu. Media cair (media tanpa penambahan agar) seringkali lebih efektif digunakan untuk multiplikasi tunas tebu (Gambar 2.8 dan 2.9).

Penggandaan tunas tebu menggunakan media cair dengan sistem RITA (Réciipient à Immersion Temporaire Automatique) telah dilakukan oleh Snyman *et al.* (2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan metode tersebut dapat menghasilkan 18.000 tunas/potongan daun. Hasil penelitian Djufry *et al.* (2017) menunjukkan bahwa empat varietas tebu yang diperbanyak dengan menggunakan eksplan daun muda, menghendaki

formulasi media yang berbeda-beda. Umumnya media $\frac{1}{2}$ MS cair dengan penambahan BA 0.5 mg/l, IBA 0.1 mg/l, PVP 100 mg/l dan sukrosa 2% merupakan media terbaik. Induksi kalus pada tanaman tebu umumnya menggunakan 2,4-D, picloram atau kombinasi keduanya pada konsentrasi 1-3 mg/l tergantung kepada genotipe yang digunakan. Berbagai hasil penelitian untuk memperbanyak benih tebu melalui kultur jaringan disajikan pada Tabel 2.2.



Sumber: Djufry et al. (2017)

Gambar 2.8. Multiplikasi tunas tebu menggunakan media cair



Sumber: Djufry et al. (2017)

Gambar 2.9. Multiplikasi tunas tebu menggunakan media padat

Tabel 2.2. Formulasi media yang digunakan pada berbagai tahapan perkembangan kultur *in vitro* tebu

Tahapan kegiatan	Formulasi media (mg/l)	Publikasi
Induksi kalus	MS + 2,4-D 3	Suhesti <i>et al.</i> (2015)
	MS + 2,4-D 2-3	Abu <i>et al.</i> (2014)
	MS + 2,4-D 2,5	Behera & Sahoo (2009)
	MS + 2,4-D 3	Ali <i>et al.</i> (2008)
	MS + 2,4-D 2,5	Dinesh <i>et al.</i> (2015)
Pertumbuhan tunas	MS + BA 1-2	Abu <i>et al.</i> (2014)
	MS + BA 2 + NAA 0.5	Behera & Sahoo (2009)
	MS + BA 1	Ali <i>et al.</i> (2008); Biradar <i>et al.</i> (2009)
	MS + BA 0.25 + kinetin 0.25	Ali <i>et al.</i> (2008)
	MS + BA 2 + IBA 0.5	Dinesh <i>et al.</i> (2015)
Perakaran	MS + NAA 3	Behera & Sahoo (2009)
	MS + NAA 2	Ali <i>et al.</i> (2008); Biradar <i>et al.</i> (2009)
	½ MS + NAA 2,5	Dinesh <i>et al.</i> (2015)
	½ MS + NAA 4	Abu <i>et al.</i> (2014)
	MS + IBA 1	Abu <i>et al.</i> (2014)

PERSIAPAN BAHAN TANAMAN

Persiapan bahan tanaman yang akan digunakan dalam kultur *in vitro* merupakan tahap yang menentukan diperolehnya tunas *in vitro* yang steril dan sehat. Bahan tanaman yang dapat digunakan untuk memperbanyak tebu melalui kultur *in vitro* dapat berupa daun muda, tunas pucuk atau meristem apikal. Bahan tanaman yang sehat dipotong dari tanaman induk, kemudian dicuci dengan menggunakan deterjen. Selanjutnya bahan tanaman disterilisasi menggunakan alkohol dan pemutih. Bahan tanaman yang sudah steril ditanam pada media kultur (Hamza *et al.* 2017).

STERILISASI BAHAN TANAMAN

Sterilisasi adalah suatu proses untuk mematikan mikroorganisme yang menempel pada bahan tanaman (eksplan), alat serta bahan yang digunakan dalam penanaman eksplan sehingga

jika ditumbuhkan di dalam suatu medium tidak ada mikroorganisme yang dapat berkembang biak. Teknik aseptik merupakan salah satu kunci keberhasilan dalam kultur jaringan. Pada tahap ini dilakukan berbagai perlakuan untuk membersihkan kotoran yang ada di permukaan bahan tanaman (disinfestasi). Pemberian bahan anti bakterial dan fungisidal (Agrept dan Dithane M-45), juga dapat dilakukan untuk memberikan tingkat sterilisasi yang baik bagi eksplan yang akan dikulturkan. Perlakuan sterilisasi dapat berbeda untuk setiap jenis dan umur eksplan. Eksplan yang lebih tua menggunakan konsentrasi larutan zat sterilisasinya lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan yang lebih muda.

Sterilisasi tebu dilakukan dengan cara mencuci eksplan menggunakan air mengalir, setelah itu eksplan direndam dalam detergen dan dibilas dengan air. Larutan dithane M 45 atau fungisida dan agrept (bakterisida) serta alkohol dan bayclin pemutih) digunakan untuk mematikan mikroorganisme yang menempel pada eksplan. Tingkat kontaminasi eksplan, tergantung dari: (1) jenis tanaman; (2) bagian tanaman yang dipergunakan; (3) morfologi permukaan (berbulu atau tidak); (4) lingkungan tumbuhnya (rumah kaca atau lapangan); (5) musim waktu mengambil (musim hujan atau kemarau); (6) umur tanaman (bibit atau tanaman dewasa); dan (7) kondisi tanaman induk (sehat atau sakit). Beberapa jenis bahan disinfektan yang dapat digunakan untuk sterilisasi bahan tanaman.

INDUKSI KALUS ATAU INDUKSI TUNAS

Pada tahap ini digunakan media dasar yang ditambahkan zat pengatur tumbuh auksin atau sitokinin. Media dasar yang digunakan untuk tanaman tebu umumnya adalah Murashige-Skoog (MS). Auksin diperlukan untuk menginduksi pembentukan kalus pada eksplan, sedangkan sitokinin diperlukan untuk

menginduksi pembentukan tunas. Keseimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin akan menginduksi pembentukan kalus (George & Sherrington 1984).

MULTIPLIKASI

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk meningkatkan kecepatan pertumbuhan eksplan, baik berupa kalus, tunas, meristem, atau embriosomatik agar diperoleh jumlah yang diinginkan. Formulasi media yang digunakan adalah formulasi media yang sesuai untuk tahap perkembangan eksplan.

SUB KULTUR

Subkultur merupakan proses pindah tanam eksplan ke media baru untuk mendapatkan benih yang banyak dalam periode waktu tertentu. Waktu untuk melakukan sub kultur tergantung pada eksplan yang diregenerasikan, selain itu media yang digunakan untuk subkultur tergantung kondisi eksplan

Jumlah sub kultur yang diperlukan untuk masing-masing genotipe tebu berbeda-beda. Pertambahan tunas genotipe PS 862 mencapai tingkat maksimal pada subkultur keenam dan menurun pada subkultur ke sembilan. PSJK 922 menghasilkan pertambahan tunas per eksplan yang relatif tetap pada ke tiga taraf subkultur. Dalam kultur jaringan tebu, genotipe yang digunakan mempengaruhi regenerasi dan multiplikasi tunas *in vitro* (Sukmadjaja *et al.* 2014; Abu *et al.* 2014).

INDUKSI PERAKARAN

Pembentukan planlet tebu sebagai tahap akhir perbanyakkan secara *in vitro* diperoleh setelah tunas hasil multiplikasi ditanam pada media untuk induksi perakaran. Zat pengatur tumbuh

perlu ditambahkan pada media tumbuh untuk menginduksi pembentukan dan pertumbuhan akar. Penggunaan media MS (1, ½) yang ditambahkan auksin (NAA atau IBA) pada konsentrasi rendah (0,1-1 mg/l), dapat menghasilkan planlet dengan perakaran yang baik dan normal. Penggunaan jenis dan konsentrasi auksin dapat berpengaruh nyata terhadap jumlah biakan yang berakar (Tabel 2.2).

AKLIMATISASI

Aklimatisasi adalah tahap proses adaptasi planlet dari lingkungan laboratorium yang terjaga kelembabannya untuk ditumbuhkan ke kondisi lingkungan yang terbuka. Aklimatisasi planlet biasanya dilakukan di rumah kaca. Pemilihan tempat aklimatisasi yang tepat dapat meningkatkan keberhasilan aklimatisasi planlet tebu hasil kultur *in vitro*. Faktor fisik berupa tingkat kelembaban dan ketersediaan air yang terjaga dalam wadah seperti *polybag* sangat mempengaruhi pertumbuhan planlet dapat meningkatkan keberhasilan aklimatisasi. Keuntungan lain penggunaan *polybag* adalah memudahkan pada saat pemindahan benih ke lapangan karena tidak merusak perakaran sehingga benih tidak mengalami stagnasi akibat kerusakan pada akar.

KESIMPULAN

Penyediaan benih tebu secara *in vitro* lebih efektif dalam mendukung kebutuhan benih tebu dibanding perbanyakan secara konvensional. Perbanyakan tebu secara *in vitro* dapat dilakukan melalui pembentukan tunas aksilar menggunakan tunas pucuk atau meristem apikal, pembentukan tunas adventif secara langsung dan atau tidak langsung, serta embriogenesis somatik. Berbagai metode tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing tergantung kepada tujuan yang ingin dicapai.

Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan perbanyakan tebu melalui kultur jaringan adalah umur fisiologi eksplan, jenis eksplan, genotipe tanaman, fisik media, dan formulasi media yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu G, Mekbib F, Teklewold A. 2014. Effect of genotype on *in vitro* propagation of elite sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties of Ethiopian sugar estates. *Int J Technol Enhanc Emerg Eng Res.* 2:123-128.
- Ali A, Shagufta N, Siddiqui FA, Iqbal J. 2008. Rapid clonal multiplication of sugarcane (*Saccharum officinarum*) through callogenesis and organogenesis. *Pak J Bot.* 40:123-138.
- Azizi AAA, Roostika I, Efendi D. 2017. Multiplikasi tunas *in vitro* berdasarkan jenis eksplan pada enam genotipe tebu (*Saccharum officinarum* L.). *J Littri.* 23:90-97. DOI: <http://dx.doi.org/10.21082/littri>.
- Behera KK, Sahoo S. 2009. Rapid *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv.Nayana) through callus culture. *Nat Sci.* 7:1-10.
- Bhatia R, Singh KP, Jhang T, Sharma TR. 2009. Assessment of clonal fidelity of micropropagated gerbera plants by ISSR markers. *Sci Hortic.* 119:208-211.
- Biradar S, Biradar DP, Patil VC, Patil S, Kambar N. 2009. *In vitro* plant regeneration using shoot tip culture in commercial cultivar of sugarcane. *Karnataka J Agric Sci.* 22:21-24. jto
- Dinesh P, Thirunavukkarasu P, Saraniya AR, Ramanathan T. 2015. *In vitro* studies of sugarcane variety co-91017 through micropopagation of shoot tip culture. *Adv Plants Agric Res. :* 263-268.

- Djufry FR, Purnamaningsih, Mariska I, Sukmadjaja D, Rahayu S. 2017. Teknologi produksi benih galur-galur somaklon tebu. Laporan Akhir KP4S. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Ekasugiyarta. 2014. Konsep penataan varietas pada sistem budi daya tanaman tebu. <http://wordpress.com>.
- George EF, Sherington PD. (1984). Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Edington (UK): Exegetics Ltd. 274 pp.
- Getnet B. 2017. Review on *in vitro* propagation of sugarcane to advance the value of tissue culture. Agric Res Technol: Open Access Journal. 5:1-5.
- Hamza TA, AL. Alebjo. 2017. Sugarcane (*Saccharum officinarum* L) Tissue Culture In Ethiopia: Opportunities For Ethiopia's Sugar Industries. Int J Sci Technol Res. 8:2277-8616.
- Ho JW, Vasil IK. 1983. Somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) I. Morphology and physiology of callus formation and the ontogeny of somatic embryos. Protoplasma. 118:169-180.
- Indrawanto C, Purwono, Siswanto, Rumini W. 2010. Budi daya dan pasca panen tebu. Bogor (Indonesia): ESKA Media. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Jalaja NC, Neelamathi D, Sreenivasan TV. 2008. Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the Pacific. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome; Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology, New Delhi; AsiaPacific Association of Agricultural Research Institutions, Bangkok, p. i-x + 46.

- Joshi P, Dhawan V. 2007. Assessment of genetic fidelity of micropropagated *Swertia chirayita* plantlets by ISSR marker assay. *Biol Plant*. 51:22-26.
- Kaur A, Sandhu JS. 2015. High throughput *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) from spindle leaf roll segments: Cost analysis for agribusiness industry. *Plant Cell Tiss Organ Culture*. 120:339-350.
- Kementan 2015. Peningkatan Produksi, Produktivitas dan Mutu Tanaman Semusim: Pedoman Teknis Pelaksanaan Pengembangan Tanaman Tebu. Jakarta (Indonesia): Kementerian Pertanian. 65 hlm.
- Khan A, Khatri A. 2006. Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: histological studies. *Pak J Bot*. 38:631-636.
- Lakshmanan P, Geijskes RJ, Aitken KS, Grof CPL, GD.Bonnett, Smith GR. 2005. Sugarcane biotechnology: The challenges and opportunities. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 41:345-363.
- Lal M, Tiwari AK, Gupta GN, Kavita. 2014. Commercial scale micropropagation of sugarcane: constraints and remedies. *Sugar Tech*. Springer. DOI 10.1007/s12355-014-0345-y.
- Liu F, Huang LL, Li YL, Reinhoud P, Jongsma MA, Wang CY. 2011. Shoot organogenesis in leaf explants of *Hydrangea macrophylla* 'Hyd1' and assessing genetic stability of regenerants using ISSR markers. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 104:111-117.
- Meneses A, Flores D, Munoz M, Arrieta G, Espinosa AM. 2005. Effect of 2,4-D, hydric stress and light on indica rice (*Oryza sativa*) somatic embryogenesis. *Rev Biol Trop Int J*. 53:361-368.
- Minarsih, Riyadi H, Sumaryono I, Budiani A. 013. Mikropropagasi tebu (*Saccharum officinarum*.L) menggunakan sistem perendaman sesaat. *Menara Perkebun*. 81:1-8.

- Purnamaningsih R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Bul AgroBio*. 5:51-58.
- Raza S, Qamarunisa S, Hussain M, Jamil I, Anjum S, Azhar A, Qureshi JA. 2012. Regeneration in sugarcane via somatic embryogenesis and genomic instability in regenerated plants. *J Crop Sci Biotech*. 15:131-136.
- Snyman SJ, Nkwanyana PD, MP. Watt. 2011. Alleviation of hyperhydricity of sugarcane plantlets produced in RITA® vessels and genotypic and phenotypic characterization of acclimated plants. *South Afr J Bot*. 77:685-692.
- Suhesti S, Khumaida N, Wattimena GA, Syukur M, Husni A, Hadipoetyanti E, Hartati RRS. 2015. Induksi kalus dan regenerasi dua varietas tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro*. *J Littri*. 21:77-88.
- Sukmadjaja D, Ade M. 2011. Regenerasi dan pertumbuhan beberapa varietas tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro*. *J AgroBiogen*. 7:106-118.
- Sukmadjaja D, Supriati Y, Pardal SJ. 2014. Kultur apeks untuk penyediaan bibit unggul tebu varietas PS864 dan PS881'. *AgroBiogen*. 10:45-52.
- Tiwari AK, Tripathi S, Lal M, Sharma ML, Chiemsombat P. 2011. Elimination of sugarcane grassy shoot disease through apical meristem culture. *Arch Phytopathol Plant Prot*. 44:1942-1948.
- Wekesa R, Onguso JM, Nyende BA, Wamocho LS. 2015. Sugarcane *in vitro* culture technology: Opportunities for Kenya's sugar industry. *Afr J Biotechnol*. 14:3170-3178.
- Yin ZF, Zhao B, Bi WL, Chen L, Wang QC. 2013. Direct shoot regeneration from basal leaf segments of *Lilium* and assessment of genetic stability in regenerants by ISSR and AFLP markers. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 49:333-342.