

PEMBENTUKAN PLANLET MUTAN TEBU TOLERAN NATRIUM KLORIDA DENGAN MUTASI DAN SELEKSI *IN VITRO*

Mutant Planlet Formation of Sugarcane Tolerant Sodium Chloride Through In Vitro Selection and Mutation

ROSSA YUNITA¹⁾, RR SRI HARTATI²⁾, SRI SUHESTI²⁾, SYAFARUDDIN³⁾

¹⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A Bogor 16111

²⁾ Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Jl. Tentara Pelajar No. 1 Bogor 16111

³⁾Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (BALITTRI),
Jalan Raya Pakuwon Km. 2 Parungkuda, Sukabumi, 43357 Jawa Barat Indonesia

e-mail: rossa_yunita@yahoo.com

Diterima :25-05-2018

Direvisi :07-01-2011

Disetujui :15-04-2019

ABSTRAK

Kebutuhan komoditas tebu terus meningkat, sehingga diperlukan ekstensifikasi untuk memenuhinya dapat dilakukan dengan cara ekstensifikasi. Namun demikian, lahan yang tersedia adalah lahan sub optimal seperti lahan salin, untuk itu diperlukan varietas toleran salinitas. Untuk merakit varietas tebu yang toleran terhadap cekaman salinitas dapat menggunakan teknologi mutasi induksi dengan menggunakan sinar gamma yang dikombinasikan dengan seleksi *in vitro*. Sedangkan untuk menyeleksi kalus secara *in vitro* digunakan NaCl. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan planlet-planlet mutan tebu toleran salinitas hasil mutasi induksi dan seleksi *in vitro*. Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah kalus tebu varietas PS862 dan PSJT941. Rancangan lingkungan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Penelitian ini yang terdiri atas empat tahap kegiatan utama yaitu (1) induksi mutasi dengan menggunakan iradisi sinar gamma (5, 10, 15, 20, 25,30 dan 35 Gy) dan seleksi *in vitro* pada media yang mengandung NaCl; (2) regenerasi tunas pada media MS + BA 3 mg/l + Zeatin 0,3 mg/l + Prolin 100 mg/l untuk kalus tebu varietas PS862 dan MS + BA 3 mg/l + Zeatin 0,1 mg/l + Prolin 100 mg/l untuk kalus tebu PSJT941 dan (3) induksi akar pada media MS + IBA 1 mg/l. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah 122 planlet mutan yang berasal dari varietas PS862 dan 66 planlet mutan yang berasal dari PSJT941 yang toleran cekaman garam NaCl. Mutan yang diperoleh memiliki sifat toleran salinitas karena mampu tumbuh pada media yang mengandung NaCl. Untuk menghasilkan populasi yang toleran salinitas perlu dilakukan pengujian di rumah kaca dan di lapang yang tercekam salinitas.

Kata Kunci : Cekaman garam, iradisi, PS862, PSJT941, *Saccharum sp.*

ABSTRACT

The needs of sugarcane continue to increase so extensification of farming is needed to meet the demand. However, the available land is the sub-optimal land such as saline land. For this reason, salinity tolerant varieties are needed. To used create sugarcane varieties that are tolerant to salinity stress induction mutation technology using gamma rays combined with *in vitro* selection using NaCl can be used. The purpose of this study was to obtain sugarcane mutant planlets which were tolerant to the salinity resulted from the induction mutations and *in vitro* selection. The plant material used in this study were PS862 and PSJT941 sugarcane varieties. The environmental design used in this study was a completely

randomized design. This study consisted of four main stages of activity namely (1) mutation induction using gamma ray irradiation (5, 10, 15, 20, 25,30 and 35 Gy) and *in vitro* selection on media containing NaCl; (2) bud regeneration in MS medium + BA 3 mg / l + Zeatin 0.3 mg / l + Proline 100 mg / l for sugarcane callus PS862 and MS varieties + BA 3 mg / l + Zeatin 0.1 mg / l + Proline 100 mg / l for sugarcane callus PSJT941 and (3) root induction on MS + IBA 1 mg / l. The results of this study were 122 mutant plantlets originating from the PS862 variety and 66 mutant plantlets originating from PSJT941 which were tolerant to NaCl salt stress. The mutants obtained were salinity tolerant because they were able to grow on media containing NaCl. To produce a population that is salinity tolerant, it is necessary to test it in a greenhouse and in the field that is gripped by salinity.

Keywords : Salt stress, irradiation, PS862, PSJT941, *Saccharum sp*

PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum sp.*) merupakan salah satu komoditas yang cukup penting di bidang industri pertanian. Dalam perundingan organisasi perdagangan dunia (WTO), Indonesia menetapkan beberapa komoditas khusus (*special products*), salah satu di antaranya adalah tanaman tebu (Arifin 2008).

Produksi gula dalam negeri terus menurun dan belum mampu memenuhi kebutuhan nasional yang terus meningkat, salah satu penyebabnya adalah penurunan luas areal tanam. Pada tahun 2014 luas areal produksi gula seluas 478.008 ha dan mengalami penurunan pada tahun 2017 menjadi 430.111 ha (Kementerian Pertanian 2018).

Untuk memenuhi kebutuhan gula dalam negeri, maka perlu dilakukan peningkatan produksi dengan usaha ekstensifikasi yaitu dengan perluasan areal tanam (Bantacut 2013). Lahan-lahan pertanian yang tersedia dan dapat digunakan untuk usaha ekstensifikasi pada umumnya adalah lahan sub optimal (Haryono 2013).

Lahan sub optimal merupakan lahan yang mempunyai potensi rendah untuk lahan pertanian karena adanya cekaman abiotik, salah satunya adalah cekaman salinitas (Haryono 2013). Arah pengembangan tanaman tebu ke depan, yaitu ke pulau Madura (Kab. Bangkalan, Sampang, Pamekasan dan Sumenep), yang kondisi lahannya umumnya bersifat salin. Oleh karena itu, diperlukan varietas tebu yang toleran salinitas (Chevny 2013).

Tanaman tebu termasuk tanaman glikofita karena tidak toleran terhadap cekaman garam. Cekaman salinitas di sekitar daerah perakaran tebu dapat mengakibatkan menurunnya pertumbuhan tanaman dan hasil karena merusak klorofil (Cha-um *et al.* 2012; Gandonou *et al.* 2011).

Plasma nutfah tebu yang memiliki sifat toleran terhadap cekaman salinitas sangat terbatas, sehingga sulit untuk menghasilkan varietas toleran salinitas dengan metoda pemuliaan konvensional. Salah satu metode untuk menghasilkan varietas tebu toleran salinitas adalah dengan kombinasi perlakuan induksi (fisik maupun kimia) dan seleksi *in vitro* yang akan menghasilkan variasi somaklonal dengan keragaman genetik (Yunita 2009). Metoda ini telah digunakan untuk menghasilkan tanaman yang toleran terhadap salinitas pada *Saccharum officinarum* L (Patade *et al.* 2008) dan *Oryza sativa* (Yunita *et al.* 2016).

Variasi genetik yang dihasilkan oleh mutasi induksi secara fisik dan kimia bersifat acak, sehingga untuk mengidentifikasi mutasi yang dihasilkan ke arah perubahan yang diinginkan, dapat menggunakan seleksi *in vitro* (Yunita 2009). Populasi sel somatik yang mampu beregenerasi membentuk planlet pada media seleksi *in vitro* kemungkinan mempunyai sifat genetik yang toleran terhadap komponen seleksi. Seleksi *in vitro* dianggap lebih efisien karena kondisi lingkungan seleksi yang terkontrol dan efektivitas seleksi yang cukup tinggi. Oleh karena itu, mutasi fisik dan kimia yang kombinasi seleksi *in vitro* merupakan teknologi yang dapat digunakan untuk menghasilkan galur-galur harapan yang toleran cekaman salinitas (Patade *et al.* 2008; Penna *et al.* 2012).

Seleksi *in vitro* untuk mendapatkan tanaman yang toleran cekaman salinitas umumnya menggunakan agen seleksi NaCl. Pada umumnya respon pertumbuhan kalus yang dikulturkan pada media NaCl yang lebih tinggi akan terhambat dari pada kalus yang dikulturkan pada media yang mengandung NaCl yang lebih rendah. Penurunan pertumbuhan kalus ini dikarenakan ketidakmampuan sel dalam mengatur konsentrasi ion Na⁺ dan Cl⁻ dalam sitoplasma, sehingga sel mengalami keracunan NaCl yang mengakibatkan sel sulit

menyerap unsur hara pada media (Bariyyah 2015; Parnidi *et al.* 2016). Metode kombinasi antara mutasi dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi *in vitro* dengan menggunakan media yang mengandung NaCl, telah diterapkan pada kalus embriogenik tebu yang telah diradiasi sinar gamma yang mampu beregenerasi membentuk tunas pada media seleksi yang mengandung NaCl (Nikam *et al.* 2014; Patade, *et al.* 2008). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh planlet-planlet mutan tebu hasil mutasi induksi dan seleksi *in vitro* yang toleran terhadap salinitas pada media seleksi.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah kalus tebu varietas PS 862 dan PSJT 941. Varietas ini digunakan karena memiliki produktivitas yang tinggi dan banyak digunakan oleh petani tebu.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Desember 2017, di Laboratorium Kultur Jaringan Kelti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), dan Unit Pengelola Benih Unggul Tanaman Perkebunan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Iradiasi sinar gamma dilaksanakan di Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Jakarta. Penelitian ini terdiri atas beberapa kegiatan utama yaitu Induksi Kalus.

Induksi kalus

Kalus diperoleh dari daun muda yang dikulturkan pada media MS yang mengandung 2,4D 3 mg/l. Untuk kegiatan induksi kalus dilakukan di Unit Pengelola Benih Unggul Tanaman Perkebunan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.

Iradiasi sinar gamma dan seleksi kalus

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan acak lengkap dengan perlakuan dosis iradiasi. Iradiasi sinar gamma dilaksanakan di Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Jakarta. Dosis iradiasi sinar gamma yang diberikan adalah 5, 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 Gy dan setiap perlakuan terdiri atas 5 ulangan. Kalus tebu yang terbentuk diberi

perlakuan iradiasi dengan dosis yang telah ditentukan. Kalus yang sudah diberi perlakuan iradiasi dipindahkan ke media yang sama (MS + 24D 3 mg/l) dan diinkubasi selama 4 hari untuk pemulihan dan kemudian dipindahkan ke media seleksi, yaitu MS yang mengandung NaCl sesuai dengan nilai LC₅₀ masing-masing varietas yaitu untuk tebu varietas PS862 adalah 81,593 mg/l dan untuk varietas PSJT941 adalah 97,516 mg/l. (Yunita *et al.* 2017). Setelah 2 minggu pada media seleksi, kalus disub kultur pada media yang sama dengan kandungan NaCl yang sama, dan diinkubasikan selama 2 minggu. Seleksi dilakukan selama 2 periode, masing-masing periode selama 2 minggu. Peubah yang diamati adalah persentase kalus yang berubah menjadi coklat dan penampilan kalus.

Regenerasi tunas

Kalus hasil seleksi pada media NaCl selama 4 minggu, disub kultur pada media regenerasi tunas, yaitu MS + BA 3 mg/l + Zeatin 0,3 mg/l + Prolin 100 mg/l untuk kalus dari kalus tebu varietas PS862 dan MS + BA 3 mg/l + Zeatin 0,1 mg/l + Prolin 100 mg/l untuk kalus tebu PSJT941. Peubah yang diamati adalah persen kalus yang beregenerasi membentuk tunas dan jumlah tunas. Pengamatan jumlah tunas yang terbentuk pada media regenerasi dilakukan 8 minggu kalus di subkultur pada media regenerasi.

Induksi akar

Tunas yang dihasilkan pada umumnya belum memiliki akar, maka dilakukan induksi akar pada media induksi akar yaitu MS + IBA 1 mg/l. Tunas tebu yang belum memiliki akar di subkultur pada media induksi akar. Masing masing botol kultur ditanam 2 tunas dengan 40 ulangan (botol). Parameter yang diamati adalah jumlah tunas yang memiliki akar. Pengamatan dilakukan 4 minggu setelah tunas ditanam pada media perakaran. Planlet yang telah memiliki akar dan tingginya \pm 5 cm dapat diaklimatisasi untuk menghasilkan tanaman yang sempurna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi mutasi dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi *in vitro*

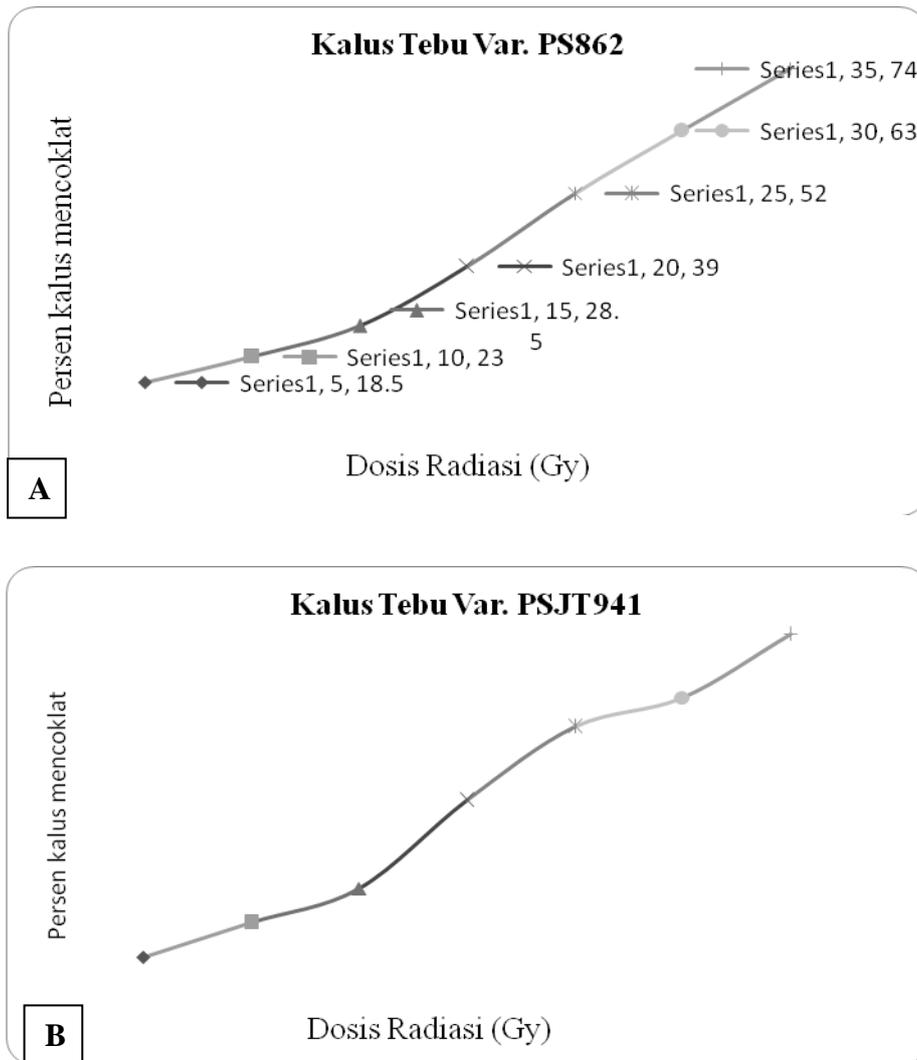
Setelah perlakuan iradiasi dan seleksi *in vitro* pada media yang mengandung NaCl, sebagian besar kalus tebu terlihat berwarna coklat dan strukturnya lembek. Hal ini menunjukkan sel-sel kalus mulai

mengalami kerusakan akibat cekaman radiasi dan seleksi. Semakin meningkat dosis iradiasi maka semakin tinggi persentase kalus yang mencoklat (Gambar 1 dan 2). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Patade *et al.* (2008), yaitu semakin tinggi dosis iradiasi semakin menurun kemampuan kalus untuk hidup. Pada kalus tebu varietas PS 862, persentase terendah kalus yang mencoklat diperoleh pada perlakuan 5 Gy, yaitu sebesar 18,5%, sedangkan persentase tertinggi pada perlakuan dosis iradiasi 35 Gy, yaitu sebesar 74% (Gambar 1 A). Kondisi yang hampir sama juga terjadi pada kalus varietas PSJT 941; perlakuan dosis iradiasi 5 Gy mengakibatkan kalus mati sebesar 16% dan perlakuan iradiasi 35Gy mengakibatkan kalus mati sebesar 81,9% (Gambar 1 B).

Perlakuan dosis iradiasi 15-25 Gy mengakibatkan peningkatan persentase kalus mencoklat cukup besar, yaitu sebesar 52% untuk varietas PS862 dan 63% untuk varietas PSJT941. Peningkatan kalus yang mencoklat menunjukkan semakin besar jumlah sel yang rusak dan mati akibat iradiasi. Hal ini disebabkan karena iradiasi mengakibatkan kerusakan pada DNA, sehingga pembelahan dan pertumbuhan sel terganggu (Sianipar *et al.* 2013). Selain itu, dampak tidak langsung dari iradiasi adalah terjadinya karacunan pada sel karena adanya radikal bebas ion H₂O₂ dan OH⁻ yang diproduksi dari radiolisis air (Agisimanto *et al.* 2016).

Pencoklatan pada kalus juga disebabkan adanya cekaman garam (NaCl) dalam media seleksi. Cekaman garam pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan penyerapan hara dan pengambilan air terhambat sehingga pertumbuhan kalus menjadi abnormal, lambat atau mati. Sel-sel embrionik tebu yang terpapar oleh cekaman garam (NaCl) diperkirakan membutuhkan lebih banyak energi untuk mengatur penyesuaian osmotik dari pada melakukan metabolismenya, sehingga berdampak pada pertumbuhan sel somatik yang tidak normal (Babu *et al.* 2007).

Perubahan warna kalus embriogenik tebu varietas PS863 sudah mulai terlihat pada perlakuan dosis 25-35 Gy, yaitu dari putih kekuningan menjadi coklat atau hitam, sedangkan pada varietas PSJT941 terjadi pada perlakuan iradiasi 30-35Gy (Tabel 1 dan Gambar 2). Hal ini mengindikasikan kalus embriogenik varietas PSJT941 sedikit lebih toleran terhadap garam NaCl dibandingkan kalus embriogenik varietas PS862. Pencoklatan pada kalus karena adanya oksidasi fenol setelah degradasi membran sel atau disorganisasi sel (Hasbullah *et al.* 2012; Shahid *et al.* 2011).



Gambar 1. Persentase kalus mencoklat akibat iradiasi sinar gamma pada (A) Kalus varietas PS862 (B) Kalus varietas PSJT941.

Figure 1. Percentage of brown callus due to gamma ray irradiation at (A) Callus of PS862 variety (B) Callus of PSJT941 variety.

Tabel 1. Respons kalus tebu terhadap iradiasi sinar gamma dan seleksi pada media NaCl

Table 1. Response of sugarcane callus caused by gamma irradiation and selection on NaCl medium

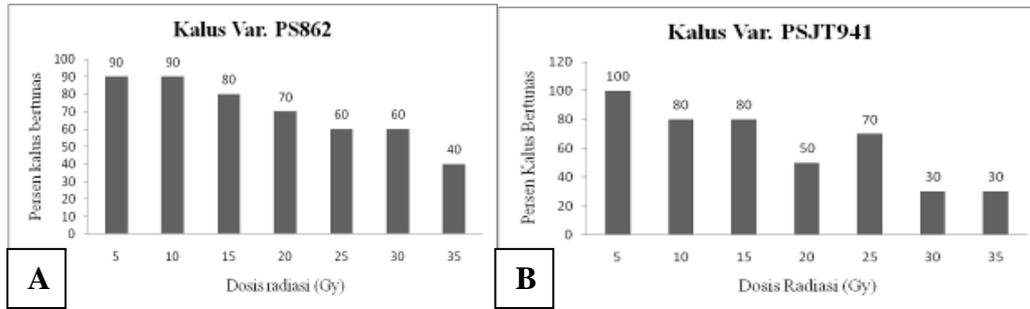
Dosis radiasi (Gy) Irradiation Dose (Gy)	Varietas PS862 PS862 variety	Varietas PSJT941 PSJT941 variety
5	putih kekuningan -putih bintang-bintik coklat	putih kekuningan -putih bintang-bintik coklat
10	putih kekuningan -putih bintang-bintik coklat	putih kekuningan -putih bintang-bintik coklat
15	putih bintang-bintik coklat	putih bintang-bintik coklat-mencoklat
20	putih spot coklat	Putih bintang-bintik coklat
25	putih ada bintang-bintik coklat-putih kecoklatan	Mencoklat
30	putih kecoklatan -mencoklat	mecoklat-hitam
35	mecoklat-hitam	mecoklat-hitam

Regenerasi Tunas

Proses regenerasi kalus tebu terjadi setelah 6 minggu setelah kalus disub kultur pada media regenerasi tunas yang ditandai oleh adanya bercak-bercak hijau. Pada minggu kedelapan setelah subkultur, telah terbentuk kalus nodular dan bahkan tunas adventif.

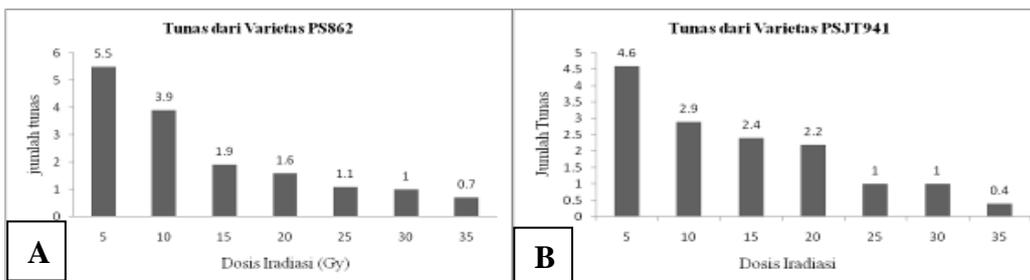
Persentase keberhasilan regenerasi kalus tebu yang diiradiasi 5 Gy mencapai 90% dan jumlah tunas

5,5 untuk varietas PS862, sedangkan untuk varietas PJST941 mencapai 100% dan jumlah tunasnya 4,6 (Gambar 3 dan 4). Regenerasi kalus menjadi tunas semakin terhambat dengan semakin tingginya dosis iradiasi. Penghambatan paling tinggi terjadi pada perlakuan dosis iradiasi 35 Gy karena sebagian besar kalus menghitam dan hanya sedikit tunas yang terbentuk.



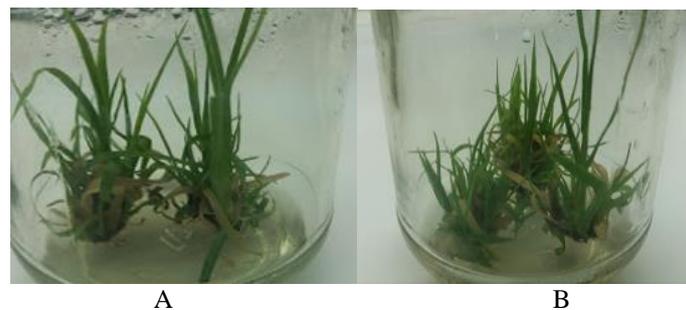
Gambar 3. Persentase kalus tebu yang membentuk tunas pada minggu ke-8 setelah tanam. Kalus varietas PS862 (A) dan Kalus varietas PSJT941 (B)

Figure 3. The percentage of sugarcane callus that forms buds at 8th week after planting. PS862 callus (A) and PSJT941 Callus (B).



Gambar 4. Regenerasi kalus tebu hasil seleksi yang membentuk tunas pada minggu ke-8 setelah tanam. Kalus varietas PS862 (A) dan Kalus varietas PSJT941(B).

Figure 4. The regeneration of sugarcane callus was selected from those which formed shoots at 8 weeks after planting. PS862 Callus (A) and PSJT941 Callus (B).



Gambar 5. Pertumbuhan tunas hasil regenerasi dari kalus tebu yang diiradiasi 5Gy dan diseleksi pada NaCl. Kalus varietas PS862(A) dan Kalus varietas PSJT941(B).

Figure 5. Growth of regenerated shoots from callus irradiated 5Gy and selected on NaCl (A) Callus of PS862 variety (B) Callus of PSJT941 variety

Pengaruh iradiasi sinar gamma bersifat acak dan dapat menyebabkan perubahan genetik, baik yang diharapkan atau abnormal yang menghasilkan fenotipe dengan sifat yang diharapkan maupun menghasilkan fenotipe yang tidak diharapkan. Persentase kalus yang dapat beregenerasi semakin menurun seiring dengan meningkatnya dosis iradiasi. Kalus secara nyata mulai terhambat kemampuan beregenerasi pada dosis 20 Gy, terlihat dari persentase berenergerasi sebesar 70% untuk PS 8562 dan 50% untuk PSJT941.

Terhambatnya kemampuan regenerasi kalus kemungkinan disebabkan karena banyaknya sel yang rusak akibat perlakuan iradiasi sinar gamma dan keracunan NaCl pada media seleksi. Kerusakan pada sel diakibatkan karena iradiasi yang merupakan salah satu bentuk stres abiotik (Roostika *et al.* 2013). Hasil yang sama juga diperoleh Moallem *et al.* (2013) pada

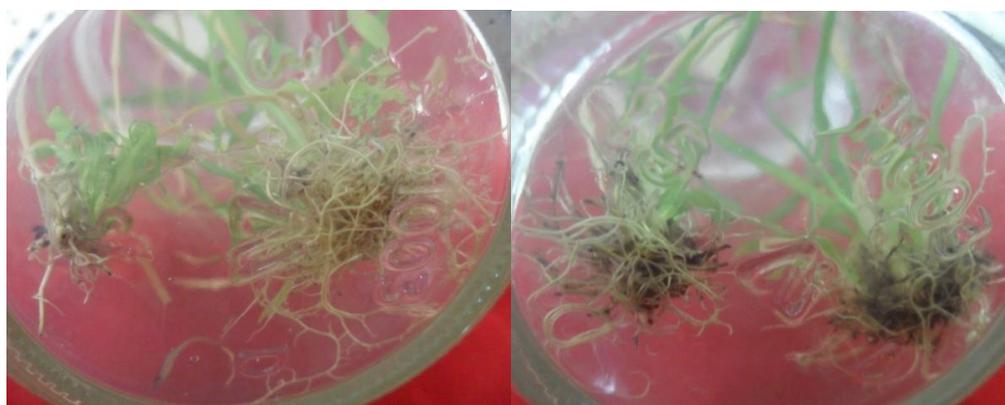
kalus *Rosa canina* dan Yunita *et al.* (2012) pada kalus padi.

Induksi Perakaran

Pertumbuhan tunas mutan pada media yang mengandung IBA (*indole butyric acid*) dapat menginduksi pembentukan akar, hampir terjadi pada semua perlakuan dosis iradiasi rendah, sedangkan pada perlakuan dosis tinggi (35 Gy) tidak ada yang terbentuk (Tabel 2). IBA merupakan salah satu zat pengatur tumbuh jenis auksin yang umum digunakan pada tanaman tebu untuk menginduksi perakaran secara *in vitro*. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan IBA untuk induksi perakaran lebih efektif dari pada IAA dan NAA (Suhesti *et al.* 2015; Sukmadjaja dan Mulyana 2011).

Tabel 2. Induksi perakaran tunas mutan tebu varietas PS862 dan PSJT941 pada media yang mengandung IBA
Table 2. Root Induction of mutant shoots on media containing IBA

Dosis Iradiasi <i>Irradiation Dose</i>	<i>jumlah tunas membentuk akar</i> <i>the number of shoots forms the roots</i>	
	Varietas PS862 <i>PS862 Variety</i>	Varietas PSJT941 <i>PSJT941 Variety</i>
	5	5
10	17	8
15	62	13
20	14	5
25	8	10
30	16	15
35	0	0



A

B

Gambar 6. Pertumbuhan akar tunas mutan toleran NaCl(A) akar varietas PS862 (B) akar varietas PSJT941
Figure 6. Root growth of NaCl tolerant mutant shoots (A) roots of PS862 variety (B) roots of PSJT941 variety

Pada Tabel 2 terlihat bahwa kemampuan tunas mutan membentuk akar sangat bervariasi. Tunas mutan varietas PS862 yang mampu menghasilkan akar tertinggi berasal dari perlakuan radiasi dosis 15 Gy yaitu sebanyak 62 tunas (Gambar. 6A). Sedangkan pada varietas PSJT941 perlakuan yang paling banyak membentuk akar adalah pada tunas hasil iradiasi pada dosis 5 Gy dan 30 Gy, yaitu sebanyak 15 tunas (Gambar. 6B). Berdasarkan data pada Tabel 2 juga telah dihasilkan sebanyak 122 planlet mutan tebu yang berasal dari varietas PS862 dan 66 planlet mutan yang berasal dari PSJT 941.

Penelitian ini telah menghasilkan planlet-planlet yang kemungkinan besar telah mengalami mutas, namun pada penelitian ini belum dilakukan aklimatisasi planlet mutan untuk menghasilkan nomor-nomor tebu mutan toleran salinitas yang berasal dari varietas PS862 dan PSJT 941. Karena itu diperlukan aklimatisasi untuk mendapatkan nomor-nomor mutan yang akan diuji lebih lanjut berupa seleksi toleransi terhadap salinitas di rumah kaca dengan menggunakan larutan yosida yang mengandung NaCl dan pengujian di lahan salin, agar dapat dilepas sebagai varietas tebu toleran salinitas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Mutasi dengan menggunakan iradiasi sinar gamma yang dikombinasi dengan seleksi *in vitro* pada konsentrasi NaCl letal (LC50) terhadap kalus tebu varietas PS862 menghasilkan 122 planlet mutan, sedangkan dari varietas PSJT941 sebanyak 66 planlet mutan. Planlet mutan yang dihasilkan merupakan calon galur harapan yang memiliki tingkat toleransi salinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tetuanya. Perlu dilakukan adaptasi pada mutan tahan salinitas sebelum diseleksi pada kondisi rumah kaca.

DAFTAR PUSTAKA

Agisimanto, D., Noor, N. M., Ibrahim, R. & Azhar Mohamad, A. (2016) Gamma irradiation effect on embryogenic callus growth of citrus reticulata cv. limau madu. *Sains Malaysiana*. 45 (3), 329–337.

Arifin, B. (2008) Ekonomi swasembada gula Indonesia. *Economic Review*. (211), 1–12.

Babu, S., Sheeba, A., Yogameenakshi, P., Ambumalarmathi, J. & Rangasamy, P. (2007) Effect of salt stress in the selection of salt tolerant hybrids in rice. *Asian Journal of Plant*

Sciences. 6 (1), 137–142.

Bantacut, T. (2013) Pengembangan pabrik gula mini untuk mencapai swasembada gula. *Pangan*. 19(3):245-256.

Bariyyah, K. (2015) Pengaruh NaCl Terhadap Kalus Tebu Varietas Bululawang. *Jurnal Agroekotek*. 7 (3), 1–5.

Cha-um, S., Chuencharoen, S., Mongkolsiriwatana, C., Ashraf, M., & Kirdmanee, C. (2012) Screening sugarcane (*Saccharum sp.*) genotypes for salt tolerance using multivariate cluster analysis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. [Online] 110 (1), 23–33. Available from: doi:10.1007/s11240-012-0126-9.

Chevny, A. A. (2013) MADURA, dari Pulau Garam menjadi Pulau Gula (Tebu). <https://ekonomi.bisnis.com/read/20130123/99/132780/madura-dari-pulau-garam-menjadi-pulau-gula-tebu>

Gandonou, C.B., Bada, F., Gnancadja, S. L., Abrini, J. & Skali-Senhaji, N. (2011) Effects of NaCl on Na + , Cl -and K + ions accumulation in two sugarcane (*Saccharum sp.*) cultivars differing in their salt tolerance. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. [Online] 3 (10), 155–162. Available from: <http://www.academicjournals.org/IJPPB>.

Haryono. 2013. Strategi kebijakan kementerian pertanian dalam optimalisasi lahan suboptimal mendukung ketahanan pangan nasional. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal "Intensifikasi Pengelolaan Lahan Suboptimal dalam Rangka Mendukung Kemandirian Pangan Nasional"*, Palembang 20-21 September 2013

Hasbullah, N.A., R. M. Taha, R. M., Saleh, A. & Mahmad, N. (2012) Irradiation effect on in vitro organogenesis, callus growth and plantlet development of *Gerbera jamesonii*. *Horticultura Brasileira*. [Online] 30 (2), 252–257. Available from: doi:10.1590/S0102-05362012000200012.

Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Statistik Pertanian 2018. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia

Moallem, S., Behbahani, M. & Mousavi, E.S. (2013) Effect of Gamma Radiation on Callus Induction and Regeneration of *Rosa Canina* Through In vitro Culture. 11 (2), 158–162.

Nikam, A. A., Devarumath, R. M., Shitole, M. G.,

- Ghole, V. S., Tawar, P. N. & Suprasanna, P. (2014) Gamma radiation, in vitro selection for salt (NaCl) tolerance, and characterization of mutants in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. [Online] 50 (6), 766–776. Available from: doi:10.1007/s11627-014-9630-4.
- Parnidi, Shofianita, N. & Nurhidayati, T. (2016) Penentuan konsentrasi kematian kalus tebu (*Saccharum officinarum*) varietas BL dan PS-862 pada seleksi in vitro untuk ketahanan terhadap salinitas. *Agric*. 62 (2), 7–16.
- Patade, V.Y., Suprasanna, P. & Bapat, V. A. (2008) Gamma Irradiation of Embryogenic Callus Cultures and In vitro Selection for Salt Tolerance in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Agricultural Sciences in China*. [Online] 7 (9), 1147–1152. Available from: doi:10.1016/S1671-2927(08)60158-3.
- Penna, S. Vitthal, S. B. & Yada, P.V. (2012) In Vitro Mutagenesis and Selection in Plant Tissue Cultures and their Prospects for Crop Improvement. *Bioremediation, Biodiversity and bioavailability*. 6 (1), 6–14.
- Roostika, I., Darwati, I. & Yudiwanti (2013) Peningkatan Keragaman Genetik Purwoceng Melalui Iradiasi Sinar Gamma Dan Seleksi In Vitro. *Jurnal Littri*. 19 (2), 88–98.
- Shahid, M., Singh, A. & Shukla, P. (2011) Callus induction in sugar cane genotypes. *Trends in Biosciences*. 4 (1), 21–22.
- Sianipar, N.F., Wantho, A., Rustikawati, & Maarisi, W. (2013) The Effects of Gamma Irradiation on Growth Response of Rodent Tuber (*Typhonium flagelliforme* Lodd.) Mutant in In Vitro Culture. *HAYATI Journal of Biosciences*. [Online] 20 (2), Institut Pertanian Bogor, 51–56. Available from: doi:10.4308/hjb.20.2.51.
- Suhesti, S. Khumaida, N., Watimena, G. A., Syukur, M., Husni, A., Hadipoentyanti, E. & Hartati, R. R. S. (2015) Induksi Kalus dan Regenerasi Dua Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *Jurnal Littri*. 21 (2), 77–88.
- Sukmadjaja, D. & Mulyana, A. (2011) Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *Jurnal AgroBiogen*. [Online] 7 (2), 106. Available from: doi:10.21082/jbio.v7n2.2011.p106-118.
- Yunita, R. (2009) Pemanfaatan variasi somaklonal dan Seleksi in vitro dalam perakitan Tanaman toleran cekaman abiotik. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(4), 132-148
- Yunita, R., Lestari, E.G. & Dewi, I.S. (2012) Regenerasi tunas dari kalus yang telah diberi perlakuan iradiasi pada padi varietas Fatmawati [Shoot Regeneration of the Fatmawati Rice Variant Radiated Calli]. *Berita Biologi*. 11 (3), 359–366.
- Yunita, R., Khumaida, N., Sopandie, D. & Mariska, I. (2016) Establishment number of salinity of salinity tolerant rice varieties Ciherang, Inpara 13 and Inpara 3 by Induced Mutation and In vitro Selection. In: *Contribution of Breeding Research for Sustainable Agricultural Production under Changing Environment For Food Security in Asia and Oceania*. (May), pp.185–190.
- Yunita, R., Hartati, R. R. S., Syafaruddin, Suhesti, S., & Susila, E. T. (2017) Kajian pengaruh perlakuan NaCl terhadap pertumbuhan kalus tebu varietas Bululawang, PS862 dan PSJT149. In: *Penyediaan Inovasi dan strategi pendampingan untuk pencapaian swasembada pangan*. Bogor, Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, pp.909–916.