

JURNAL ILMIAH SAINS & TEKNOLOGI

Ratih

PENGARUH pH FASE GERAK DAN PELARUT TERHADAP PROFIL KROMATOGRAM RISPERIDONE MENGGUNAKAN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Sis Soesetijo

ANALISIS HUBUNGAN KAUSALITAS ANTARA KONSUMSI DAYA LISTRIK DAN TRAFIK INTERNET SPASIAL KAMPUS

Popy Hartatie Hardjo

PERBANYAKAN MIKROTEBU (*Saccharum* spp. hybrids) MELALUI KULTUR KALUS

Maria Goretti M. Purwanto, Billy Nugraha

PENGARUH KONSENTRASI PAPAIN, RASIO BERAT UREA, MINYAK, DAN SUHU KRISTALISASI DALAM KOMPLEKSASI OMEGA-3 DARI LIMBAH MINYAK IKAN

Mariana Wahjudi

KAJIAN EKSPRESI PROTEIN YsdC, BSUW23_10175 DAN XynB DARI *Bacillus subtilis* subsp. spizizenii W23 SECARA ALAMI DAN DI DALAM SEL INANG *Escherichia coli* Origami

Harry Santosa, Tutuk Budiati

KARAKTERISASI DAN STUDI SPEKTRA BEBERAPA SENYAWA TURUNAN BENZOHIDRAZIDA HASIL SINTESIS MELALUI IRADIASI GELOMBANG MIKRO

Amelia Lorensia, Rizka Indra Wijaya, Benny Canggih

STUDI EFEKTIFITAS BIAYA TERKAIT PEMILIHAN OBAT ASMA BRONKIALE RAWAT INAP DI SUATU RUMAH SAKIT SWASTA DI SURABAYA

**JURNAL ILMIAH
SAINS & TEKNOLOGI**
ISSN 0216-1540

Terbit dua kali setahun pada bulan Juni dan Desember. Berisi tulisan yang berasal dari hasil penelitian, kajian atau karya ilmiah di bidang Sains dan Teknologi.

Ketua Penyunting

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

Penyunting Pelaksana

Benny Lianto
Nani Parfati

Staf Pelaksana

Tang Hamidy, Hadi Krisbiyanto, Sukono

Penerbit

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Surabaya

Alamat Penerbit/Redaksi

Gedung Perpustakaan Lt.IV, Universitas Surabaya
Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293
Telp. (031) 2981360, 2981365
Fax. (031) 2981373
Website : <http://lppm.ubaya.ac.id>
Email : lppm@ubaya.ac.id

Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi pernah terbit dengan nama Unitas (pertama kali terbit tahun 1992) oleh Lembaga Penelitian Universitas Surabaya.

**JURNAL ILMIAH
SAINS & TEKNOLOGI**
ISSN 0216-1540

Volume 7 Nomor 1, Desember 2013
Halaman 1-63

Ratih

PENGARUH pH FASE GERAK DAN PELARUT TERHADAP PROFIL KROMATOGRAM RISPÉRIDONE MENGGUNAKAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)
(hal: 1-5)

Sis Soesetijo

ANALISIS HUBUNGAN KAUSALITAS ANTARA KONSUMSI DAYA LISTRIK DAN TRAFIK INTERNET SPASIAL KAMPUS
(hal: 6-14)

Popy Hartatie Hardjo

PERBANYAKAN MIKRO TEBU (*Saccharum* spp. hybrids) MELALUI KULTUR KALUS
(hal: 15-20)

Maria Goretti M. Purwanto, Billy Nugraha

PENGARUH KONSENTRASI PAPAIN, RASIO BERAT UREA, MINYAK, DAN SUHU KRISTALISASI DALAM KOMPLEKSASI OMEGA-3 DARI LIMBAH MINYAK IKAN
(hal: 21-29)

Mariana Wahjudi

KAJIAN EKSPRESI PROTEIN YsdC, BSUW23_10175 DAN XynB DARI *Bacillus subtilis* subsp. spizizenii W23 SECARA ALAMI DAN DI DALAM SEL INANG *Escherichia coli* Origami
(hal: 30-43)

Harry Santosa, Tutuk Budiati

KARAKTERISASI DAN STUDI SPEKTRA BEBERAPA SENYAWA TURUNAN BENZOHIDRAZIDA HASIL SINTESIS MELALUI IRADIASI GELOMBANG MIKRO
(hal: 44-55)

Amelia Lorensia, Rizka Indra Wijaya, Benny Canggih

STUDI EFEKTIFITAS BIAYA TERKAIT PEMILIHAN OBAT ASMA BRONKIALE RAWAT INAP DI SUATU RUMAH SAKIT SWASTA DI SURABAYA
(hal: 56-63)

PERBANYAKAN MIKRO TEBU (*Saccharum* spp. hybrids) MELALUI KULTUR KALUS

Popy Hartatie Hardjo

Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya

E-mail: poppy_hardjo@staff.ubaya.ac.id

Abstract

The adventive shoot organogenesis from callus was observed by using combination of IAA 2.0 mg/L and glutamine (0, 25, 50, 100 mg/L). The best response of adventive shoot induction was observed on Murashige and Skoog (MS) medium with IAA 2.0 mg/L + glutamine 100 mg/L. When in vitro shoots were grown on to the half-strength MS basal media, rooting were more profuse. Rooted shoots were transplanted in the greenhouse for hardening and their survival rate was approximately higher than 95% in the field condition.

Keywords: glutamine, IAA, adventive shoot, callus, sugarcane

PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum* spp. hybrids) adalah tanaman perkebunan utama di daerah tropis dan sub tropis yang dibudidayakan dalam skala luas sebagai bahan baku gula, alkohol dan bahan lain termasuk asam asetat, butanol, kertas dan pakan ternak. Tebu dibudidayakan secara luas karena kemampuannya menyimpan sukrosa (gula) dalam konsentrasi tinggi di batang. Varietas tebu modern yang dibudidayakan saat ini adalah hibrida intespesifik yang kompleks karena berasal dari pemuliaan selektif dan intensif dalam spesies atau antar spesies pada genus *Saccharum* (www.oqtr.gov.au).

Kebutuhan pasokan gula di Indonesia akhir-akhir ini semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan pangan, sehingga perlu dilakukan upaya perbanyakan tanaman tebu dalam jumlah besar dan dalam waktu yang singkat. Penyediaan bibit unggul merupakan salah satu faktor pendukung keberhasilan pengembangan tanaman tebu. Usaha perbanyakan tanaman tebu menggunakan stek batang satu mata tunas memiliki kendala, yaitu menghasilkan tanaman dengan jumlah terbatas, dan membutuhkan

pohon induk yang banyak (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011).

Teknologi kultur jaringan memungkinkan untuk memperoleh bibit tebu yang banyak dalam waktu relatif singkat. Tahapan teknik kultur jaringan untuk tujuan perbanyakan yaitu penanaman eksplan, induksi kalus, proliferasi kalus, induksi tunas adventif, induksi akar, *hardening in vitro*, dan aklimatisasi yang selanjutnya diperoleh tanaman yang siap ditanam di lapang (George and Sherrington, 1984).

Menurut Bhaskaran dan Smith (1990), setiap tahapan mulai dari induksi kalus hingga pembentukan akar memerlukan media kultur dengan zat pengatur tumbuh (zpt) yang berbeda-beda baik jenis maupun konsentrasinya. Induksi kalus pada eksplan umumnya menggunakan zpt auksin atau dikombinasi dengan sitokinin, lebih lanjut induksi tunas dari kalus dibutuhkan zpt sitokinin, dan induksi akar pada tunas dibutuhkan zpt auksin dalam jumlah rendah atau sama sekali tanpa auksin.

Asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki berbagai fungsi pada tumbuhan diantaranya sebagai protein

transporter, perespon sel terhadap rangsangan, pergerakan, perlindungan terhadap penyakit, serta mempercepat reaksi-reaksi biokimia secara selektif. Glutamin merupakan salah satu jenis asam amino yang banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk induksi pembentukan maupun pertumbuhan tunas. Winarto (2011) menyatakan bahwa glutamin memberikan pengaruh yang signifikan untuk menstimulasi pertumbuhan tunas eksplan *Anthurium andreaeanum cv. Tropical*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran glutamin dalam mempercepat pertumbuhan tunas adventif dari kalus tebu, dan peran NAA pada media $\frac{1}{2}$ MS dalam mempercepat pertumbuhan akar planlet tebu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, PT. Perkebunan Nusantara (PTPN) XI di Surabaya. Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman tebu (*Saccharum spp. hybrids*) var. HW1 berumur \pm 6 bulan diperoleh dari PTPN XI (Kebun Jatiroto, Jember), dan diambil bagian pucuk. Sterilisasi pucuk tebu dilakukan di dalam laminar air-flow cabinet (LAF) dengan perendaman dalam alkohol 70%, lalu dibakar dan dikelupas keliling batang, Prosedur pembakaran dan pengelupasan dilakukan hingga tiga kali. Selanjutnya pucuk tebu dipotong-potong mulai dari jarak 2.0 cm setelah meristem apikal.

Prosedur percobaan terdiri dari tiga tahap yaitu (1) induksi kalus dari potongan daun menggulung (*spindle leaf*), (2) induksi tunas adventif dari kalus, dan (3) induksi akar dari tunas adventif.

Potongan daun yang masih menggulung ditanam di media MS mengandung auksin 2,4-dichlorophen-oxycetic acid (2,4-D) 3.0 mg/L dan sitokinin kinetin 0.1 mg/L serta tanpa kinetin untuk menginduksi pembentukan kalus.

Subkultur kalus dilakukan setelah 4 minggu ke medium yang sama bertujuan untuk memperoleh kalus yang seragam dan banyak selama 4 minggu. Kultur diinkubasi pada kondisi gelap. Parameter yang diamati adalah persentase eksplan berkalus dan morfologi kalus.

Kalus yang terbentuk kemudian dipindahkan ke media penginduksi tunas adventif yaitu media MS mengandung *indole acetic acid* (IAA) 2.0 mg/L yang dikombinasi dengan glutamin 25, 50, 100 mg/L, dan tanpa glutamin. Kultur diinkubasi di kondisi terang dengan lama penyinaran 16 jam. Kalus disubkultur setiap 4 minggu. Parameter yang diamati adalah persentase kalus bertunas, jumlah tunas per kalus, dan panjang tunas pada subkultur ke 3.

Tunas adventif yang terbentuk ditanam di media MS dan $\frac{1}{2}$ MS mengandung NAA 1.0 mg/L untuk menumbuhkan akar. Kultur diinkubasi di kondisi terang dengan lama penyinaran 16 jam. Parameter yang diamati adalah waktu pembentukan akar, persentase tunas berakar, dan jumlah akar per rumpun tunas pada subkultur ke 5.

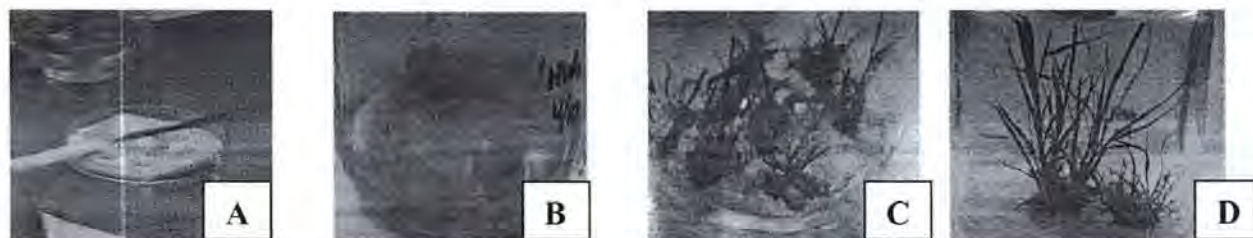
Tunas yang berakar dikeluarkan dari botol kultur dan diaklimatisasi di *greenhouse*. Parameter yang diamati adalah persentase planlet yang hidup setelah 4 minggu diaklimatisasi.

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 10 ulangan per perlakuan dari setiap tahap percobaan, dan data dianalisis dengan uji *analysis of variance* (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada $\alpha=0.05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses perbanyak mikro tanaman tebu melalui jalur organogenesis tak langsung yaitu

kalus, menggunakan eksplan pucuk dengan daun yang masih menggulung, ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Induksi kalus tebu (*Saccharum spp. hybrids*) dan organogenesis tunas adventif

- A. Pemotongan eksplan pucuk tebu 2,0 cm di atas titik tumbuh
- B. Potongan eksplan pucuk tebu yang diinduksi membentuk kalus
- C. Tunas adventif dari kalus tebu
- D. Tunas adventif di medium perakaran

Kalus mulai terbentuk 3 minggu setelah inkubasi pada medium MS yang mengandung 2,4-D 3.0 mg/L namun pada medium yang mengandung 2,4-D 3.0 mg/L dikombinasi kinetin 0.1 mg/L kalus terbentuk lebih awal yaitu 2 minggu setelah inkubasi eksplan (Tabel 1). Selain itu adanya kinetin 0.1 mg/L menyebabkan pertumbuhan kalus lebih baik dan lebih awal di mana diperoleh morfologi kalus berstruktur nodular. Hal yang sama dilaporkan oleh Liu and Chen (1984) dan

Bhansali and Singh (1984) bahwa dari eksplan daun muda tebu diperoleh kalus bila dikulturkan pada medium MS dengan penambahan 2,4-D dan air kelapa. Air kelapa mengandung sitokinin (George and Sherrington, 1984). Akan tetapi Yadav and Ahmad (2013) melaporkan induksi kalus tertinggi tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada medium MS yang mengandung 2,4-D 3.0 mg/L dibanding IBA dan NAA dengan konsentrasi yang sama.

Tabel 1. Persentase Eksplan berkalus dan morfologi kalus pada induksi kalus tebu

Konsentrasi zpt (mg/L)	Waktu terbentuk kalus (minggu)	%-ase eksplan berkalus	Morfologi kalus
2,4-D 3.0	3	100±0.58	Friabel, kompak
2,4-D 3.0 + kinetin 0.1	2	100±0.42	Friabel, nodular

Ket. Data rerata dari 10 ulangan, per ulangan 20 eksplan *spindle leaf*
± = standar error

Kalus subkultur pertama berumur 2 minggu ditanam di media MS yang mengandung IAA 2 mg/L dengan perlakuan glutamin 0, 25, 50 dan 100 mg/L. Kalus belum memunculkan calon tunas hingga 4

minggu setelah dikulturkan pada media MS mengandung IAA 2.0 mg/L tanpa pemberian glutamin, sebaliknya dengan glutamin 25, 50 dan 100 mg/L memunculkan banyak calon tunas dari kalus lebih awal mulai minggu ke 3.

Penambahan glutamin 50 dan 100 mg/L meningkatkan frekuensi pembentukan tunas adventif dari kalus tebu dibanding kontrol tanpa glutamin (Tabel 2). Glutamin merupakan asam amino yang langsung dapat dimanfaatkan oleh sel untuk sintesis senyawa

organik dalam pembentukan organ. Hal yang sama dilaporkan oleh Bader and Khierallah (2009) bahwa glutamin 1.4 mM meningkatkan jumlah tunas adventif tanaman kurma *Phoenix dactylifera* L.

Tabel 2. Multiplikasi tunas adventif dari kalus tebu pada media MS dengan berbagai konsentrasi glutamin pada akhir subkultur ke-3

Glutamin (mg/L)	%-ase kalus bertunas	Jumlah tunas per eksplan kalus	Panjang tunas per eksplan kalus (cm)
0	20 ^a ±1.5	2 ^a ±0.8	0.1 ^a ±0.002
25	38 ^a ±2.5	6 ^b ±1.4	0.15 ^a ±0.001
50	68 ^b ±3.6	9 ^c ±1.2	0.26 ^b ±0.002
100	90 ^c ±2.8	10 ^c ±1.9	0.64 ^c ±0.004

Ket. Data rerata dari 10 ulangan, per ulangan 20 eksplan kalus

± = standar error

Angka-angka yang diikuti oleh huruf berbeda dalam satu kolom berarti berbeda nyata dengan uji BNT $\alpha=0.05$

Tunas adventif tebu mudah berakar (>85%) setelah dikulturkan di medium MS tanpa penambahan zpt, namun dengan penambahan auksin NAA 0.1 mg/L dan menurunkan ½ konsentrasi mineral makro media MS (½ MS) semua tunas mampu berakar, akar lebih cepat muncul dan jumlah akar lebih banyak (Tabel 3). Penambahan NAA 0.1 mg/L baik pada media MS konsentrasi mineral makro penuh maupun ½ konsentrasi tidak berbeda nyata dalam hal jumlah akar per

rumpun tunas. Penurunan ½ konsentrasi mineral makro tanpa penambahan NAA menyebabkan jumlah akar terbentuk sama dengan seperti halnya bila ditambah NAA. Hal ini menunjukkan bahwa induksi akar pada tunas adventif tebu cukup hanya dengan menurunkan ½ konsentrasi mineral makro media MS seperti terlihat pada Tabel 3. Sha Valli Khan *et al.* (1999) juga menyatakan bahwa jumlah akar *Syzygium alternifolium* meningkat di medium ½ MS.

Tabel 3. Induksi akar tunas adventif tebu pada media MS mengandung NAA 0.1 mg/L pada akhir subkultur ke-5 dan keberhasilan planlet hidup saat aklimatisasi

Media MS	%-ase tunas berakar	Jumlah akar per rumpun tunas	Respon waktu muncul akar	%-ase planlet hidup saat aklimatisasi
MS + NAA	100 ^b ±1.5	8 ^b ±0.8	3 minggu	96
½MS + NAA	100 ^b ±2.5	10 ^b ±1.4	2 minggu	98
MS	86 ^a ±1.6	2 ^a ±1.2	5 minggu	90
½MS	100 ^b ±2.8	9 ^b ±1.9	2 minggu	96

Ket. Data rerata dari 10 ulangan, per ulangan 20 tunas

± = standar error

Angka-angka yang diikuti oleh huruf berbeda dalam satu kolom berarti berbeda nyata dengan uji BNT $\alpha=0.05$

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa persentase planlet berhasil hidup saat aklimatisasi > 95% diperoleh dari planlet yang dikulturkan dengan penambahan NAA 0.1 mg/L maupun juga hanya pada ½ konsentrasi mineral makro media MS. Glutamin 100 mg/L mempercepat pertumbuhan tunas adventif tebu yang berasal dari eksplan kalus, dan ½ konsentrasi mineral makro media MS mempercepat pertumbuhan akar dari tunas adventif tebu, sehingga planlet dapat

diaklimatisasi lebih awal dan persentase keberhasilan hidup saat aklimatisasi > 95%.

KESIMPULAN

Glutamin 100 mg/L dikombinasi dengan auksin IAA 2.0 mg/L meningkatkan pertumbuhan tunas adventif tebu asal kalus, dan media ½MS meningkatkan jumlah akar yang terbentuk pada planlet tebu.

Ucapan terima kasih:

Penelitian ini didanai oleh PTPN XI, Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2004. *The Biology and Ecology of Sugarcane (Saccharum spp hybrids) in Australia*. Australian Government Department of Health and Ageing : Office of The Gene Technology Regulator. www.ogtr.gov.au diakses pada Oktober 2010.
- Bader, S.M. and H.S.M. Khierallah. 2009. The role of silver thiosulphate and glutamine on direct organogenesis of two date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. *Journal of Biotechnology Research Center* Vo. 3(1):37-45.
- Bhansali, R.R. and K. Singh. 1984. Callus and shoot formation from leaf of sugarcane in tissue culture. *Phytomorphology* 167-170.
- Bhaskaran, S. and R.H. Smith. 1990. Regeneration in cereal tissue culture: A review. *Crop Science* 30:1328-1337.
- George, E.F and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics, Ltd.
- Liu ., M.C. and W.H. Chen. 1984. Tissue and cell culture an aid to sugarcane breeding, high sucrose and vigorously growing cell clone. *Journal of the Agricultural Association of China* 31(3):471-489.
- Sha Valli Khan, P.S., J.F. Hausman, and K.R. Rao. 1999. Effect of agar, MS medium strength, sucrose and polyamines on in vitro rooting of *Syzygium alternifolium*. *Biologia Plantarum* 42(3):333-340.
- Sukmadajaja, D. dan A. Mulyana. 2011. Regenerasi dan pertumbuhan beberapa varietas tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro*. *AgroBiogen* 7 (2) :106-118.
- Winarto. 2011. Pengaruh glutamin dan serin terhadap kultur anther *Anthurium andreanum* cv. *Tropical. Hortikultura* 21(4):295-305.
- Yadav, S and A. Ahmad. 2013. Standardization of callus culture techniques for efficient sugarcane micropropagation. *Cibtech Journal of Bio-Protocols* Vol. 2(2):29-32.