

INDUKSI KALUS DAN INISIASI PLANLET TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 2,4-D DAN TDZ SECARA *IN VITRO*



AMALIA YUSUF

G011201051



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

INDUKSI KALUS DAN INISIASI TUNAS TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 2,4-D DAN TDZ SECARA *IN VITRO*

AMALIA YUSUF

G011201051



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

INDUKSI KALUS DAN INISIASI PLANLET TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 2,4-D DAN TDZ SECARA *IN VITRO*

AMALIA YUSUF

G011201051

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Agroteknologi

Pada

DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

INDUKSI KALUS DAN INISIASI TUNAS TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 2,4-D DAN TDZ SECARA *IN VITRO*

AMALIA YUSUF
G011201051

Skripsi,

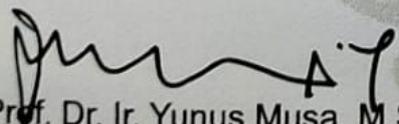
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 29 November 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

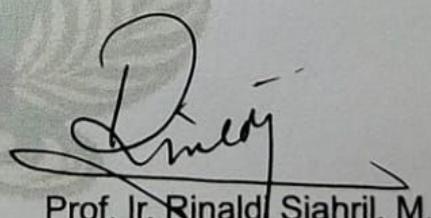
pada

Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping


Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc.
NIP. 19541220 198303 1 001


Prof. Ir. Rinald Sjahril, M.Agr., Ph.D.
NIP. 19660925 199412 1 001

Mengetahui:
Ketua Program Studi Agroteknologi

Ketua Departemen Budidaya
Pertanian


Dr. Ir. Abd. Haris B., M. Si
NIP. 19670811 199403 1 003


Dr. Hari Iswoyo, S. P., M. A.
NIP. 19760508 200501 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Induksi Kalus dan Inisiasi Planlet Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan TDZ secara *In Vitro*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc. sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D. sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 29 November 2024




AMALIA YUSUF
G011201051

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc. sebagai pembimbing utama dan Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D. sebagai pembimbing pendamping. Terima Kasih untuk Dosen Penguji Prof. Dr. Ir. H. Nasaruddin, MS., Prof. Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si., dan Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, MP. yang telah memberikan saran dan kritik dalam penulisan skripsi ini. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Pihak PTPTN XIV Takalar, yang telah memberikan izin dalam pengambilan eksplan tebu. Penghargaan yang besar pula saya sampaikan kepada Ibu Elly Nurdin, S.P yang telah membantu dan membimbing peneliti selama melaksanakan penelitian di laboratorium.

Kepada Kemendikbud, saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa KIP Kuliah yang diberikan selama menempuh program pendidikan sarjana. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin, Fakultas Pertanian, Departemen Budidaya Pertanian, dan Program Studi Agroteknologi Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program sarjana serta para dosen. Tidak lupa pula saya ucapkan banyak terima kasih rekan-rekan seperjuangan dalam penelitian di laboratorium Feni Putri Antika, Andre Dharmawan Tjora, serta kakak-kakak dan teman-teman di Ruang E13.

Kepada kedua orang tua tercinta bapak M. Yusuf dan Ibu Hasdianah saya mengucapkan terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada kakak dan adik serta seluruh keluarga atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai. Akhirnya, kepada sahabatku Junarti Grace Patandung, Nurul Hikma, Santun Hablumminallah, Nur Hidayah, Irnawati Anwar dan Nurul Huriyah serta teman-teman Eksis terima kasih atas kebersamaan dan saling memberi motivasi selama menumpuh pendidikan dan penelitian.

Kepada teman-teman Hid20gen, agroteknologi B, teman-teman KKN posko 13 Desa Sopa dan keluarga Sopa, terima kasih telah kebersamai dan memberi motivasi selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin. Doa terbaik untuk kalian semua, semoga sukses. Terhusus kepada diri sendiri, terima kasih telah berjuang dan tetap kuat sampai akhirnya skripsi ini terselesaikan. Ini merupakan salah satu langkah menuju kesuksesan, terus berkembang dan semoga membuahkan hasil yang manis.

Walaupun telah berusaha menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya, saya menyadari skripsi ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk memperbaiki segala kekurangan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis,

Amalia Yusuf

ABSTRAK

AMALIA YUSUF. **Induksi kalus dan inisiasi planlet tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D dan TDZ secara *in vitro*** (dibimbing oleh Yunus Musa dan Rinaldi Sjahril).

Latar Belakang. Produksi gula belum mampu memenuhi kebutuhan gula di Indonesia. Bahan tanam diperlukan sangat banyak untuk menghasilkan bibit tebu dengan stek. Kultur jaringan dapat menjadi solusi untuk mengurangi penggunaan bahan tanam dan menghasilkan bibit tebu yang lebih banyak. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan berbagai konsentrasi TDZ terhadap inisiasi planlet tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.). **Metode.** Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak kelompok, induksi kalus menggunakan 2,4-D (1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹ dan 4 mg L⁻¹) dan inisiasi planlet menggunakan TDZ (TDZ 0 mg L⁻¹, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹, dan 4 mg L⁻¹). **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D 1 mg L⁻¹ dan 2 mg L⁻¹ memunculkan kalus tercepat dengan waktu 10,50 HST, warna kalus pale yellow, dengan tekstur kalus yang remah. Konsentrasi 2,4-D 1 mg L⁻¹ memiliki bobot kalus terberat yaitu 3,22 g/botol. Konsentrasi TDZ 4 mg L⁻¹ memunculkan tunas tercepat yaitu 16,33 HST dan jumlah tunas terbanyak yaitu 13,78 (tunas/100 mg kalus), sedangkan konsentrasi 0 mg L⁻¹ memunculkan akar tercepat yaitu 14,44 HST dengan jumlah akar terbanyak yaitu 16.00. konsentrasi TDZ 1 mg L⁻¹ merupakan konsentrasi tercepat dalam membentuk planlet yaitu 21,11 HST. **Kesimpulan.** Konsentrasi 2,4-D 1 mg L⁻¹ memberikan hasil optimal pada parameter waktu muncul kalus dan bobot kalus tanaman tebu. Rata-rata warna kalus yang dihasilkan adalah *pale yellow* dan tekstur kalus yang dihasilkan adalah remah. Konsentrasi TDZ 4 mg L⁻¹ memberikan hasil optimal terhadap waktu muncul tunas dan jumlah tunas. Penggunaan TDZ pada kultur *in vitro* tebu masih terbilang sedikit, sehingga pada penelitian lebih lanjut dibutuhkan parameter lain untuk melihat pengaruh TDZ terhadap kultur *in vitro* tanaman tebu.

Kata kunci: 2,4-D; Kultur Jaringan; TDZ; Tebu.

ABSTRACT

AMALIA YUSUF. **Callus induction and initiation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets at various concentrations of 2,4-D and TDZ in vitro** (supervised by Yunus Musa and Rinaldi Sjahril).

Background. Sugar production has not been able to meet the sugar needs in Indonesia. Planting materials are needed in large quantities to produce sugarcane seedlings with cuttings. Tissue culture can be a solution to reduce the use of planting materials and produce more sugarcane seedlings. **Objective.** This study aims to determine the effect of various concentrations of 2,4-D on callus induction of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) and various concentrations of TDZ on plantlet initiation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Method.** The study was conducted using a randomized block design, callus induction using 2,4-D (1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹ and 4 mg L⁻¹) and plantlet initiation using TDZ (TDZ 0 mg L⁻¹, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹, and 4 mg L⁻¹). **Results.** The results showed that 2,4-D concentrations of 1 mg L⁻¹ and 2 mg L⁻¹ produced the fastest callus with a time of 10.50 HST, pale yellow callus color, with a crumbly callus texture. The 2,4-D concentration of 1 mg L⁻¹ has the heaviest callus weight, namely 3.22 g/bottle. The TDZ concentration of 4 mg L⁻¹ gave rise to the fastest shoots, namely 16.33 HST and the highest number of shoots, namely 13.78 (shoots/100 mg callus), while the concentration of 0 mg L⁻¹ gave rise to the fastest roots, namely 14.44 HST with the highest number of roots, namely 16.00. TDZ concentration of 1 mg L⁻¹ is the fastest concentration in forming plantlets, namely 21.11 HST. **Conclusion.** Concentration of 2,4-D 1 mg L⁻¹ provides optimal results on the parameters of callus emergence time and callus weight of sugar cane plants. The average color of the callus produced is pale yellow and the texture of the callus produced is crumbly. A TDZ concentration of 4 mg L⁻¹ provides optimal results regarding the time of shoot emergence and number of shoots. The use of TDZ in in vitro sugarcane culture is still relatively small, so further research requires other parameters to see the effect of TDZ on in vitro culture of sugarcane plants.

Key words: 2,4-D; Tissue Culture; TDZ; Sugarcane.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Landasan Teori	2
1.3. Tujuan dan Manfaat	5
1.4. Hipotesis	5
BAB II METODE PENELITIAN	6
2.1. Tempat dan Waktu	6
2.2. Bahan dan Alat	6
2.3. Metode Penelitian	6
2.4. Sumber Eksplan	7
2.5. Pelaksanaan Penelitian	7
2.6. Pengamatan dan Pengukuran	9
2.7. Analisis Data	10
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	11
3.1. Hasil	11
3.2. Pembahasan	17
BAB IV KESIMPULAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	29
RIWAYAT HIDUP	40

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Warna dan tekstur kalus	12
2. Rata-rata bobot kalus.....	12
3. Rata-rata jumlah tunas.....	15

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Rata-rata waktu muncul kalus	11
2. Rata-rata waktu muncul tunas	13
3. Rata-rata waktu muncul akar	14
4. Rata-rata jumlah akar	16
5. Rata-rata waktu terbentuk planlet.....	17

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Tabel	Halaman
1.a	Rata-rata waktu muncul kalus (HST)	29
1.b	Sidik ragam rata-rata waktu muncul kalus (HST).....	29
2.a	Rata-rata bobot kalus (g/botol).....	30
2.b	Sidik ragam rata-rata bobot kalus (g/botol)	30
3.a	Rata-rata waktu muncul tunas (HST).....	31
3.b	Sidik ragam rata-rata waktu muncul tunas (HST)	31
4.a	Rata-rata waktu muncul akar (HST).....	32
4.b	Rata-rata waktu muncul akar (HST) (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	32
4.c	Sidik ragam rata-rata waktu muncul akar (HST) (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	32
5.a	Rata-rata jumlah tunas.....	33
5.b	Rata-rata jumlah tunas (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	33
5.c	Sidik ragam rata-rata jumlah tunas (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	33
6.a	Rata-rata jumlah akar (helai).....	34
6.b	Rata-rata jumlah akar (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	34
6.c	Sidik ragam rata-rata jumlah akar (data setelah ditransformasi \sqrt{x})	34
7.	Rata-rata waktu terbentuk planlet	35
8.	Komposisi media <i>Murashige Skooge</i> (MS)	36

Nomor urut	Gambar	Halaman
1.	Denah penelitian tahap induksi kalus.....	37
2.	Denah penelitian tahap inisiasi planlet.....	37
3.	Warna dan tekstur kalus yang terlihat pada berbagai konsentrasi 2,4-D	38
4.	Inisiasi dan pertumbuhan planlet tebu asal eksplan kalus konsentrasi 2,4-D 1 mg L ⁻¹ pada berbagai konsentrasi TDZ.....	38
5.	Pengambilan eksplan di lahan (a), pembersihan eksplan (b), eksplan yang telah dibersihkan (c), dan eksplan yang siap diinduksi (d).....	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk kedalam tanaman penghasil gula yang mempunyai peran strategis dalam perekonomian di Indonesia. Industri gula berbahan baku tebu merupakan salah satu sumber pendapatan bagi ribuan petani tebu dan pekerja di industri gula. Gula juga merupakan salah satu kebutuhan pokok bagi sebagian besar masyarakat dan sumber kalori yang relatif murah. Luas areal perkebunan tebu di Indonesia seluas 490,01 ribu ha (Badan Pusat Statistik tahun, 2022). Produksi gula nasional pada tahun 2022 sebesar 2,35 juta ton. Sementara itu, kebutuhan gula mencapai sekitar 6,48 juta ton. Kebutuhan gula belum terpenuhi karena produktivitas tebu yang kian menurun (Kemenperin, 2022). Produktivitas tanaman tebu di Indonesia pada tahun 2022 hanya sebesar 67,88 ton/ha. Hal tersebut berada jauh di bawah produktivitas tebu dunia yang dapat mencapai produktivitas diatas 100 ton/ha (Kementerian Pertanian, 2022). Produktivitas tebu sangat dipengaruhi oleh tipe lahan tempat penanaman dan beberapa faktor lain, seperti pemakaian sarana prasarana selama proses produksi dan teknik budidaya yang digunakan (Tranggono et al., 2023).

Umumnya teknik perbanyakan tebu dilakukan secara vegetatif dengan menggunakan stek batang atau dikenal sebagai bibit bagal. Bahan tanam dengan menggunakan bibit bagal digunakan 2-3 mata tunas, sehingga diperlukan sekitar 6-8 ton bibit tebu/ha (Liliyah et al., 2022). Besarnya jumlah bahan tanam menjadi kendala besar dalam pengangkutan, penanganan dan penyimpanan bibit tebu (Alwani et al., 2019). Selain itu, pembibitan tanaman tebu membutuhkan waktu yang cukup lama yaitu 6 bulan untuk satu kali periode tanam, dipengaruhi oleh cuaca dan iklim, membutuhkan areal yang luas, tenaga yang besar, serta kontaminasi patogen yang sangat sulit dihindari (Ilhamsyah et al., 2022).

Kultur jaringan tanaman dapat menjadi solusi untuk mengatasi permasalahan penyediaan bibit tebu. Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, organ, yang kemudian ditumbuhkan dalam media tanam yang sengaja dibuat dalam kondisi aseptik dan lingkungan yang dikendali. Perbanyakan tanaman melalui metode kultur jaringan memiliki banyak manfaat, diantaranya dapat memperoleh bibit dengan jumlah yang besar dengan tanaman induk yang terbilang sedikit serta dapat menghemat waktu. Selain itu, tanaman hasil dari kultur jaringan memiliki kelebihan seperti lebih tahan serangan hama dan penyakit tanaman seperti pembusukan, cacat bentuk, serta bintik pada daun tanaman tebu (Pratama, 2022).

Salah satu metode kultur jaringan yang dapat dilakukan untuk memperoleh bibit tebu yang berkualitas adalah dengan menginduksi somatik embrogenesis (SE) secara tidak langsung yang terbentuk melalui fase pengkalusan (Alfian et al., 2015). Induksi kalus merupakan langkah penting dalam perbanyakan kultur jaringan. Hal

ini dikarenakan eksplan membentuk kalus dan dapat beregenerasi menjadi tanaman baru dengan terbentuknya akar, tunas, dan daun. Induksi kalus bertujuan untuk mendapatkan kalus embrionik yang akan diregenerasikan menjadi tunas. Selain itu, bahkan perbanyakkan tanaman tebu melalui induksi kalus dapat diperoleh hingga 600 tanaman per batang tebu (Pranayadipta dan Andy, 2020).

Kemampuan suatu tanaman membentuk kalus dan beregenerasi menjadi tunas baru terutama ditentukan oleh media yang digunakan dan komposisi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media tersebut. Inisiasi tunas dan akar dikendalikan oleh interaksi auksin dan sitokinin pada medium (Pranayadipta dan Andy, 2020). Penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Level zat pengatur tumbuh ini akan menjadi faktor pemicu untuk proses-proses tumbuh dan morfogenesis (Kusumawati et al., 2015). Sitokinin dan auksin merupakan dua golongan ZPT dalam kultur jaringan yang memiliki peranan sangat penting. ZPT auksin dapat merangsang pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju pada diferensiasi. Sitokinin yang diberikan dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan, dan perkembangan kultur sel tanaman (Kartika et al., 2019)

Golongan ZPT auksin 2,4 *Dichloropenoxyacetic acid* (2,4-D) dan sitokinin *Thidiazuron* (TDZ) telah banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk induksi kalus dan inisiasi tunas pada berbagai macam tanaman. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Busaifi dan Hirjani (2018), menyatakan bahwa Perlakuan 2,4-D 2 mg L⁻¹ mampu menginisiasi kalus tebu dengan baik, banyak, dengan inisiasi yang cepat dan optimal. Menurut penelitian Lizawati (2012), Pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yang berbeda bersama dengan TDZ mempengaruhi kecepatan pembentukan kalus pada eksplan ujung pucuk apikal tanaman jarak pagar. Menurut Kholifah et al. (2022), waktu muncul tunas tercepat tanaman kencur terdapat pada perlakuan TDZ 2 mg L⁻¹ dengan rerata waktu muncul tunas 12,50 HST.

Berdasarkan uraian diatas, penelitian mengenai induksi kalus dan inisiasi tunas pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) dilakukan untuk mengetahui pengaruh serta Konsentrasi 2,4-D dan TDZ terbaik atau optimal terhadap pertumbuhan kalus serta tunas pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.).

1.2. Landasan Teori

1.2.1. Induksi kalus dan Inisiasi Tunas Tanaman Tebu

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakkan tanaman secara vegetatif. Metode kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman baru secara in vitro dengan jumlah yang tidak terbatas. Dasar dari teknik kultur jaringan ini adalah kemampuan sel suatu tanaman yang dapat tumbuh menjadi tanaman sempurna apabila ditempatkan dilingkungan yang tepat. Kultur in vitro adalah salah satu teknik mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan dan organ yang kemudian menumbuhkannya dalam medium buatan dengan kondisi aseptik dan terkedali (Hairuddin dan Jufri, 2016).

Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa syarat yang harus dipenuhi, salah satu syarat tersebut meliputi pemilihan eksplan sebagai dasar untuk pembentukan kalus (Kartika dan Eka, 2019). Kalus berperan sangat penting dalam regenerasi tanaman karena semua tanaman mempunyai sel yang perlu membelah. Induksi kalus merupakan langkah penting dalam hibridisasi sel somatik dan terjadi melalui fusi protoplas untuk menghasilkan tanaman hibrida dan pembentukan embrio dalam embriogenesis somatik. Induksi kalus juga dapat digunakan untuk produksi tebu secara massal dalam waktu singkat. Umumnya kalus dengan tekstur remah dapat distimulasi dengan konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin. Induksi kalus sangat dipengaruhi oleh komposisi media, kondisi lingkungan budidaya, zat pengatur tumbuh, jenis eksplan dan genotipe (Waryastuti et al., 2017).

Induksi kalus pada tanaman tebu berpotensi menjaga ketersediaan bibit tanaman tebu. Hasil induksi kalus pada tanaman tebu dapat menjadi sumber bibit tanaman yang mirip dengan tanaman induknya. Teknik kultur jaringan dengan induksi kalus sangat efektif karena kalus dapat diinisiasi dari berbagai bagian tanaman seperti daun, batang, dan akar (Pratama, 2022). Untuk induksi kalus pada tebu, bahan tanam yang sering digunakan adalah bagian daun muda yang masih menggulung yang terdapat pada pucuk tebu dan dipotong tepat di atas meristem apikal. Kalus yang dihasilkan dari bahan tanam berupa daun muda yang masih menggulung tersebut memiliki sifat yang embrioid sehingga memiliki kemampuan lebih tinggi dalam membentuk planlet (Mardiana et al., 2024).

Inisiasi tunas dan akar sangat dipengaruhi oleh interaksi auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media. Dalam inisiasi tunas, keberhasilan kultur kalus sangat ditentukan oleh kemampuan regenerasi. Kemampuan regenerasi kalus dipengaruhi oleh umur kalus, genotipe, sumber eksplan dan kondisi kultur termasuk lingkungan dan media kultur yang digunakan. Kemampuan regenerasi suatu kalus akan menurun seiring dengan lamanya periode kultur kalus, bahkan yang paling fatal daya regenerasi kalus dapat menghilang. Dengan penambahan ZPT eksogen dengan kondisi tertentu yang diberikan ke media kultur sangat berpengaruh terhadap daya regenerasi tunas tanaman tebu (Arsyam et al., 2020). Penambahan ZPT eksogen akan mengubah level ZPT endogen sel, yang akan menjadi faktor pemicu untuk proses pertumbuhan dan morfogenesis (Kusumawati et al., 2015).

1.2.2. Zat Pengatur Tumbuh

ZPT termasuk kedalam golongan senyawa organik bukan nutrisi yang jika diberikan pada tanaman dalam konsentrasi rendah dapat mendorong, menghambat secara kualitatif, mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Safitri, 2022). ZPT memiliki peranan yang sangat penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta mempunyai kemampuan mempengaruhi dan mengendalikan pertumbuhan tanaman mulai dari perkembangan benih dan perubahan tanaman selama fase pertumbuhan vegetatif (Islamia et al., 2022). Sitokinin dan auksin merupakan dua golongan ZPT dalam kultur jaringan yang memiliki peranan yang sangat penting. ZPT auksin dapat merangsang pertumbuhan

serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju pada diferensiasi sedangkan ZPT sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan, dan perkembangan kultur sel tanaman (Kartika et al., 2019).

Auksin mempunyai peranan terhadap pertumbuhan sel, dominasi apikal dan pembentukan kalus (Manurung et al., 2018). 2,4-D merupakan golongan auksin sintesis yang mempunyai sifat stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi. 2,4-D merupakan ZPT yang paling sering digunakan untuk induksi dan pertumbuhan kalus karena efektif untuk tahap inisiasi khususnya pada jaringan yang belum dewasa (Ayunigrum et al., 2015). Penambahan 2,4-D dalam media akan menstimulasi pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus (Fitroh et al., 2018). Kalus yang remah dapat distimulasi dengan konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin. Induksi kalus sangat dipengaruhi oleh komposisi media, kondisi lingkungan kultur, zat pengatur tumbuh, jenis dan genotipe eksplan. Kalus dapat dipacu pembentukan dan pertumbuhannya dengan pemakaian ZPT 2,4-D. Konsentrasi auksin 2,4-D yang dibutuhkan untuk tanaman monokotil berkisar antara 2 ppm \pm 5 ppm (Waryastuti et al., 2017).

Sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang berperan dalam mengatur pembelahan sel serta mempengaruhi diferensiasi tunas pada jaringan kalus (Manurung et al., 2018). *Thidiazuron* merupakan turunan senyawa urea yang dapat digunakan sebagai ZPT. TDZ dapat berperan dalam menstimulasi produksi sitokinin endogen dan memiliki peran sebagai inhibitor sitokinin oksidase yang merupakan enzim menghilangkan keaktifan sitokinin tipe adenin bebas. Oleh karena itu, TDZ dapat meningkatkan kerja sitokinin lain, baik sitokinin eksogen ataupun sitokinin endogen. Sitokinin tipe urea seperti TDZ, memiliki aktivitas lebih kuat dibanding tipe adenin atau purin seperti BAP (Restanto et al., 2018). TDZ awalnya digunakan sebagai defoliant (penggugur daun) pada tanaman kapas. Namun TDZ terbukti mampu memberi efek yang mirip seperti sitokinin pada konsentrasi yang rendah. TDZ juga dapat meniru efek yang sama seperti auksin, yaitu dapat menginduksi kalus dan embriogenesis somatik. TDZ memodulasi level hormon auksin dan sitokinin endogen dalam somatik embriogenesis. Konsentrasi TDZ yang digunakan untuk menginduksi somatik embriogenesis sangatlah beragam tergantung dari eksplan yang digunakan dan hormon tumbuhan lain yang dikombinasikan (Christin, 2020).

1.3. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan berbagai konsentrasi TDZ terhadap inisiasi planlet tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.).

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan penulis maupun pembaca tentang pengaruh konsentrasi ZPT 2,4-D dan TDZ terhadap induksi kalus dan inisiasi planlet tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.), serta diketahui konsentrasi ZPT 2,4-D dan TDZ terbaik terhadap induksi kalus dan inisiasi planlet tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.).

1.4. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat satu atau lebih konsentrasi 2,4-D yang memberikan pengaruh optimal terhadap induksi kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.).
2. Terdapat satu atau lebih konsentrasi TDZ yang memberikan pengaruh optimal terhadap inisiasi planlet tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian skala laboratorium dilakukan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, yang bertempat di gedung *Teaching Industry*, Universitas Hasanuddin. Pelaksanaan penelitian ini mulai dari bulan Desember 2023 hingga Agustus 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah gulungan daun muda tanaman tebu, larutan stok media Murashige dan Skoog (MS), agar-agar, gula pasir, ZPT 2,4-D dan TDZ, aquades, alkohol 70 dan 96%, HCl, NaOH, tisu, label, aluminium foil, spiritus, korek, *plastic wrapping*, dan sabun cuci piring.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, LAF (*Laminar Air Flow*), *hand sprayer*, timbangan analitik ($\pm 0,000$ g), gelas Beker, gelas ukur, Erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, spatula, pH meter, botol kultur, bunsen, tabung reaksi, cawan Petri, pinset, *scalpel*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, gunting, batang pengaduk, panci, kompor, oven, rak dorong, kulkas, sendok, alat pencuci, alat tulis dan *handphone*.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian pada tahap induksi kalus, dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan konsentrasi 2,4-D (a) yang terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu:

- a1 : 1 mg L⁻¹
- a2 : 2 mg L⁻¹
- a3 : 3 mg L⁻¹
- a4 : 4 mg L⁻¹

Setiap taraf diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh 12 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 4 unit sehingga jumlah seluruhnya terdapat 48 unit percobaan.

Perbanyak pada tahap inisiasi planlet, dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan konsentrasi TDZ (t) yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu:

t0	: TDZ 0 mg L ⁻¹
t1	: TDZ 1 mg L ⁻¹
t2	: TDZ 2 mg L ⁻¹
t3	: TDZ 3 mg L ⁻¹
t4	: TDZ 4 mg L ⁻¹

Setiap taraf diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh 15 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 3 unit sehingga jumlah seluruhnya terdapat 45 unit percobaan.

2.4 Sumber Eksplan

Eksplan Tebu berasal dari Perkebunan Tebu di Kabupaten Takalar. Varietas tebu yang digunakan adalah Kidang Kencana. Eksplan berupa pucuk daun muda yang masih menggulung. Waktu pengambilan eksplan dilakukan pada pukul 7-9 pagi, dengan kondisi eksplan tidak terkena hujan 3 hingga 4 hari sebelumnya.

Pemilihan dan Pembersihan Eksplan

1. Eksplan dipilih dengan umur sekitar 3-4 bulan.
2. Pemilihan eksplan mulai pucuk (3-5 daun).
3. Eksplan dipotong tepat dibagian bawah meristem.
4. Eksplan yang telah diperoleh kemudian dikupas hingga menyisahkan 5 lapis gulungan.
5. Bersihkan eksplan menggunakan tisu dan dipotong hingga sepanjang 30 cm.
6. Setelah eksplan dipotong, bungkus ujung atas eksplan menggunakan tisu.
7. Masukkan eksplan kedalam plastik cetik.
8. Simpan eksplan di dalam kulkas.

2.5 Pelaksanaan Penelitian

Pencucian Botol Kultur dan Alat Lainnya

Pencucian botol kultur dan alat lainnya seperti gelas Beker, gelas ukur, Erlenmeyer, spatula tabung reaksi, cawan Petri, pinset, *scalpel*, gunting, batang pengaduk, panci, dan sendok dilakukan dengan mencuci semua alat menggunakan sabun hingga bersih, lalu dibilas dengan aquades sebanyak tiga kali lalu ditiriskan.

Sterilisasi Alat, Media dan Ruang Tanam (LAF)

Alat disterilisasi menggunakan oven dan autoklaf. Oven digunakan untuk sterilisasi alat secara kering, dimana alat disterilisasi selama 1,5-3 jam, dengan suhu 150°C sedangkan Autoklaf digunakan untuk sterilisasi basah. Alat-alat yang disterilisasi yaitu botol kultur dan alat tanam seperti cawan Petri, pinset, *scalpel*, dan

tabung reaksi. Alat tanam dibungkus terlebih dahulu menggunakan kertas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 30 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm. Selain alat, autoklaf digunakan untuk sterilisasi media, yang dilakukan selama 15 menit. Sterilisasi *Laminar air flow* (LAF) dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% dan sinar UV selama 30 menit. Sterilisasi dimulai dengan membuka LAF dan menyemprotkan dinding dan lantai LAF, kemudian alat dan bahan tanam dimasukkan dengan terlebih dahulu disemprotkan alkohol 70%. Selanjutnya LAF ditutup dan lampu UV dinyalakan selama 15 menit, setelah itu UV dimatikan dan kemudian *blower* dan lampu dihidupkan. Alat tanam berupa pinset, dan *scalpel* sebelum digunakan, disterilkan kembali dengan metode celup bakar yaitu dicelupkan kedalam alkohol 96% lalu dibakar.

Pembuatan Media

Pembuatan media diawali dengan membuat larutan stok media MS. Larutan stok dibuat berdasarkan konsep pengenceran dari larutan. Rumus yang dipakai dalam melakukan pengenceran mengacu pada Pratama (2020) sebagai berikut:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan: V1: Volume larutan stok yang dicari
M1: Dosis larutan stok yang tersedia
V2: Volume larutan media yang akan dibuat
M1: Dosis larutan yang akan dibuat

Setelah setelah larutan stok dibuat, media MS dapat dibuat. Media MS dibuat dalam volume 1 liter, dengan mencampurkan larutan stok (A, B, C, D, E, F dan vitamin). Larutkan gula sebanyak 30 g dengan menggunakan aquades steril dan tambahkan kedalam media. Media kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, media dibagi per 200 mL. Setelah media dibagi, kemudian ZPT ditambahkan sesuai konsentrasi perlakuan dan pH media diukur dengan kisaran 5,6-5,8. Jika pH terlalu tinggi, maka diturunkan dengan menambahkan larutan 1% HCl dan untuk meningkatkan pH maka ditambahkan larutan 1% NaOH. Setelah media mencapai pH 5,6-5,8, kemudian tambahkan agar-agar sebanyak 8 g dan dimasak diatas kompor hingga mendidih. Setelah mendidih, media diangkat dan dituang dalam botol kultur (dalam 200 mL media dibagi kedalam 12 botol media). Setelah media dituang, botol kultur ditutup dan diberi label nama. Media selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf bersuhu 121°C, selama 15 menit. Media yang sudah steril kemudian disimpan pada lemari penyimpanan media selama 3-4 hari untuk memastikan media tidak mengalami kontaminasi.

Induksi Kalus

Induksi kalus tebu dilakukan dengan tahap sebagai berikut:

1. Eksplan gulungan daun muda tebu di keluarkan dari dalam kulkas dan dipotong hingga 20 cm, kemudian dimasukkan ke dalam LAF.
2. Eksplan disterilisasi dalam LAF dengan mencelupkan eksplan kedalam alkohol 70%, kemudian eksplan dibakar diatas bunsen. Setelah terbakar, biarkan hingga api mati sendiri (dilakukan sebanyak 3 kali).
3. Kupas lapisan gulungan daun eksplan sebanyak 3 lapis.
4. Potong eksplan mulai dari bagian bawah diatas apikal meristem 0,2-0,3 cm, sebanyak 4-5 potong.
5. Tanam pada media MS sebanyak 1 eksplan/botol. Botol ditutup dan direkatkan dengan *plastic wrap*.
6. Pasang label nama perlakuan, komoditas tanaman, dan tanggal penanaman.
7. Simpan pada rak penyimpanan di ruang inkubasi dengan suhu ruangan 26°C.
8. Bersihkan alat dan ruangan yang telah digunakan.

Inisiasi Planlet

Inisiasi planlet tebu dilakukan dengan tahap sebagai berikut:

1. Kalus tebu diperoleh dari perlakuan terbaik yaitu pada perlakuan 2,4-D 1 mg L⁻¹.
2. Kalus ditimbang masing-masing 100 mg/botol perlakuan. Botol ditutup dan direkatkan dengan *plastic wrap*.
3. Pasang label nama perlakuan, komoditas tanaman, dan tanggal penanaman.
4. Simpan pada rak penyimpanan di ruang inkubasi dengan suhu ruangan 26°C.
5. Bersihkan alat dan ruangan yang telah digunakan.

2.6 Pengamatan dan Pengukuran

Pada penelitian ini, parameter yang diamati dan diukur adalah sebagai berikut:

1. Waktu Muncul Kalus (Hari Setelah Tanam)
Parameter waktu muncul kalus diamati pada saat eksplan mulai membentuk kalus, dengan cara mengamati hari setelah tanam eksplan hingga muncul kalus.
2. Tekstur Kalus
Pengamatan tekstur kalus dilakukan dengan mengamati tekstur kalus yang terbentuk dengan tekstur remah atau kompak.
3. Warna Kalus
Pengamatan dilakukan dengan membandingkan warna kalus dengan RHS *colour chart*.
4. Bobot Kalus (gr/Botol)
Bobot kalus diperoleh dengan menimbang kalus yang terbentuk. Penimbangan dilakukan sebelum kalus diinisiasi.

5. Waktu Muncul Tunas (Hari Setelah Tanam)
Waktu muncul tunas diamati pada saat kalus mulai tumbuh tunas, dengan cara mengamati hari setelah inisiasi kalus hingga muncul tunas.
6. Waktu Muncul Akar (Hari Setelah Tanam)
Waktu muncul akar diamati pada saat kalus mulai tumbuh akar, dengan cara mengamati hari setelah tanam eksplan hingga muncul akar.
7. Jumlah Tunas
Jumlah tunas dihitung berdasarkan berapa banyak tunas yang tumbuh pada akhir pengamatan.
8. Jumlah Akar
Jumlah akar dihitung berdasarkan berapa banyak akar yang tumbuh pada akhir pengamatan.
9. Waktu Terbentuk Planlet
Waktu terbentuk planlet diamati pada saat tanaman telah memiliki bagian lengkap berupa akar, batang dan daun.

2.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika berpengaruh nyata maka dilakukan uji lanjutan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 5%.