

RESPON KULTUR TUNAS APIKAL TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KONSENTRASI BAP DAN NAA



FENI PUTRI ANTIKA

G011201153



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

RESPON KULTUR TUNAS APIKAL TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KONSENTRASI BAP DAN NAA

FENI PUTRI ANTIKA

G011201153



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

RESPON KULTUR TUNAS APIKAL TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KONSENTRASI BAP DAN NAA

FENI PUTRI ANTIKA

G011201153

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Agroteknologi

Pada

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

SKRIPSI

RESPON KULTUR TUNAS APIKAL TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KONSENTRASI BAP DAN NAA**FENI PUTRI ANTIKA****G011201153****Skripsi,**

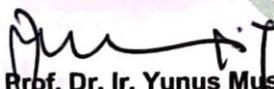
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 29 Oktober 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

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



Dr. Ir. Asmiaty Sahur, MP.
NIP. 19691010 199303 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Agroteknologi



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

Ketua Departemen Budidaya
Pertanian



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 "Respon Kultur Tunas Apikal Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Secara *In vitro* pada Berbagai Konsentrasi BAP dan NAA" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc. dan Dr. Ir. Asmiaty Sahur, MP). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. 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, 13 November 2024



SEPULUH RIBU RUPIAH
10000
TEL. 25
METERAI
TEMPEL
99D31AMX047264158
FENI PUTRI ANTIKA
G011201153

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wataala. Dzat yang maha kuasa dan maha bijaksana, yang telah memberikan kesehatan dan kesempatan kepada penulis. Shalawat dan salam penulis sanjungkan kepada Baginda Nabi Muhammad Shallahu 'alaihi wa sallam, sebagai salah satu suri tauladan yang telah membimbing manusia dari kegelapan menuju cahaya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Respon Kultur Tunas Apikal Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Secara *In vitro* pada Berbagai Konsentrasi BAP dan NAA". Skripsi ini disusun sebagai pemenuhan tugas akhir penulis dan sebagai syarat untuk menyelesaikan studi di Departemen Budidaya Pertanian, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.

Dalam penyusunan skripsi ini, tidak lepas dari hambatan dan cobaan. Namun, berkat rahmat dan izin-Nya serta dukungan Kedua orang tua penulis Ayahanda Ngatman dan Ibunda Ngatinem serta kedua saudara penulis Nur Indah Afriyanti S.Kom, Dwi Melenia Sari S.KM dan saudara ipar Muhammad Eko Saputra S.Kom sebagai keluarga terkasih yang telah memberikan dukungan moril maupun material selama penulis menempuh pendidikan, senantiasa mendoakan segala aktivitas penulis dalam mengerjakan penelitian dan tidak hentinya memberikan dukungan sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini. Serta seluruh anggota keluarga lainnya yang memberikan dukungan dalam segala hal yang baik. Semoga bisa memberikan kebahagiaan, perasaan bangga, dan menuntun penulis pada langkah yang lebih baik lagi.

Penulis juga ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc. selaku pembimbing utama sekaligus dosen pembimbing akademik, dan Dr. Ir. Asmiaty Sahur, MP. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan saran dan masukan serta sabar dan penuh pengertian dalam memberikan ilmu agar proses pengerjaan tugas akhir ini terarah. Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D., Dr. Ir. Hj, Feranita Haring M.P. dan Dr. Ir. Hj. Syatrianti Andi Syaiful., MS. selaku dosen penguji yang telah berkenan memberikan saran maupun kritik demi menyempurnakan tercapainya tugas akhir ini. Seluruh Bapak/Ibu dosen serta staf Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari beberapa pihak pengerjaan skripsi ini tidak akan terselesaikan, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. *To you who stole my heart (A011191134) Thank you for giving me your endless support, encouragement, especially during the tough times. Thank you for all the little things you do every day, the small acts of love, the laughter we share, and even just the comforting silence when words aren't needed. Thank you for being you, and for being here with me on this journey.*
2. Kepada Pak Dhirga, Ibu Tika, Pak Fahmi, Dg. Lewa serta direksi PTPN, yang telah memberikan izin dan membantu dalam pengambilan pucuk tebu sebagai bahan eksplan, sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian.
3. Kepada Isriani, S.P. selaku laboran di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi tanaman yang telah memberikan saran dan arahan selama penulis melaksanakan penelitian, maupun kesempatan belajar dibidang kultur jaringan.
4. Kakak-kakak dan teman seperjuangan penelitian di bidang kultur jaringan Amalia

Yusuf, Aliyya Salsabila, Junarti Grace Patandung, Santun Hablumminallah, Anggi Pratiwi S.P, Andre Tjora, Andi Fatmawati S.P, Ramlan S.P, yang telah menemani hari yang sepi di laboratorium, mendengar segala keluh kesah selama penelitian, membantu, serta memberikan masukan dan dukungannya selama ini.

5. Kepada sahabat-sahabat yang telah menemani penulis dari awal perjalanan kuliah yang penuh rintangan, bersama dalam segala suka dan duka, memberikan memori yang membekas, dan senyuman disetiap pertemuan. Masa kuliah yang diukir bersama sahabat-sahabat Indri Anggraeni Jafar, Najwa Isnaini Lagga S.P, Annisa Ramadhani Sanusi, Aisyah Febriani, Hairul Aiman Ashar, Taufan Brelis Pune', Yayang Afreza S.P, Yoel Yosafan, Subhan Juliyanto S.P.
6. Kepada sahabat yang selalu menyemangati penulis dalam menjalani kehidupan pendidikan sejak duduk dibangku SMP dan selalu bersedia mendengarkan keluh kesah penulis, Hutasya, Putri, Alan, Thoriq, Fuad, dan Ceca.
7. Kepada teman-teman yang memberi pengalaman *memorable* Agroteknologi 2020, MKU E 2020, Bioteknologi 2020, *Architecture Landscape*, serta teman posko KKNT Perhutanan Sosial Gelombang 109 Desa Bonto Manurung.
8. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dari awal hingga penulis menyelesaikan masa perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhir kata, semoga laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan segala pihak yang membutuhkannya.

Penulis,

Feni Putri Antika

ABSTRAK

Feni Putri Antika. **Respon Kultur Tunas Apikal Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Secara *In vitro* pada Berbagai Konsentrasi BAP dan NAA** (dibimbing oleh Yunus Musa dan Asmiaty Sahur)

Latar Belakang. Penurunan produksi tanaman tebu dalam negeri mengakibatkan tidak terpenuhinya kebutuhan gula yang semakin meningkat setiap tahunnya. Hal ini disebabkan karena, tanaman tebu memerlukan waktu yang cukup lama dalam perbanyakannya dan hanya dapat dipanen satu kali dalam siklus hidupnya. **Tujuan.** Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui dan menganalisis berbagai pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang mampu membentuk tunas dalam satu eksplan apikal tanaman tebu. **Metode.** Penelitian disusun dalam rancangan Faktorial Dua Faktor (F2F) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap. Faktor pertama yaitu *Benzil Amino Purin* terdiri dari 4 taraf yaitu, kontrol, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹. Faktor kedua *Naphthalane Acetic Acid* terdiri dari 4 taraf yaitu, kontrol, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹. **Hasil.** Interaksi dengan hasil terbaik antara *Benzil Amino Purin* dan *Naphthalane Acetic Acid* yaitu pada parameter jumlah tunas (12,33), jumlah daun (26,67), dan tinggi tanaman (6,67). Perlakuan *Benzil Amino Purin* dengan hasil terbaik pada parameter waktu muncul daun (13,33). Perlakuan *Naphthalane Acetic Acid* pada parameter waktu muncul tunas dengan hasil terbaik (9,75). **Kesimpulan.** Penggunaan *Benzil Amino Purin* dari berbagai konsentrasi memberikan pengaruh terbaik pada masing-masing perlakuan tunas apikal. Sedangkan, pada penggunaan *Naphthalane Acetic Acid* menurunkan kemampuan pembentukan tunas, tetapi mempercepat pemanjangan pada batang.

Kata Kunci: *Benzil Amino Purin*; *Naphthalane Acetic Acid*; tunas apikal tebu.

ABSTRACT

Feni Putri Antika. **Response of Apical Shoot Culture of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) In vitro at Various Concentrations of BAP and NAA.** (Supervised by Yunus Musa and Asmiaty Sahur)

Background. The decline in domestic sugarcane production has resulted in the unmet demand for sugar, which continues to increase each year. This is due to the fact that sugarcane requires a considerable amount of time for propagation and can only be harvested once in its life cycle **Objective:** This study aims to examine and analyze the effects of combining concentrations of the growth regulators *Benzyl Amino Purine* and *Naphthalene Acetic Acid* to induce shoot formation in a single sugarcane apical explant. **Method:** The study uses a Two-Factor Factorial design (F2F) based on a Completely Randomized Design. The first factor is *Benzyl Amino Purine* with four levels: control, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, and 3 mg L⁻¹. The second factor is *Naphthalene Acetic Acid*, also with four levels: control, 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, and 3 mg L⁻¹. **Results:** The best interaction between Benzyl Amino Purine and Naphthalene Acetic Acid was observed in shoot count (12.33), leaf count (26.67), and plant height (6.67). The optimal treatment with *Benzyl Amino Purine* influenced the earliest leaf emergence (13.33), while *Naphthalene Acetic Acid* resulted in the shortest time to shoot emergence (9.75). **Conclusion:** The use of *Benzyl Amino Purine* at various concentrations provides the best effect on each treatment of apical buds. In contrast, the use of *Naphthalene Acetic Acid* reduces the bud formation ability but accelerates stem elongation.

Keywords: *Benzyl Amino Purin*; *Naphthalene Acetic Acid*; sugarcane apical shoots.

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Landasan Teori.....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	6
1.4 Hipotesis	6
BAB II METODE PENELITIAN.....	7
2.1 Tempat dan Waktu	7
2.2 Alat Dan Bahan	7
2.3 Metode Penelitian	7
2.4 Pelaksanaan Penelitian	8
2.5 Pengamatan dan Pengukuran	10
2.6 Analisis Data	10
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	11
3.1 Hasil.....	11
3.2 Pembahasan	15
BAB IV KESIMPULAN	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN	25
RIWAYAT HIDUP.....	35

DAFTAR TABEL

Nomor urut		Halaman
1.	Penggunaan Konsentrasi Perlakuan.....	7
2.	Waktu Muncul Tunas (HST).....	11
3.	Waktu Muncul Daun (HST).....	12
4.	Jumlah Tunas (helai).....	12
5.	Jumlah Daun (helai).....	13
6.	Tinggi Tunas (cm).....	13

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut		Halaman
1.	Karakter Kualitatif Warna Daun.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel

Nomor urut		Halaman
1a.	Rata-rata waktu muncul tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	26
1b.	Sidik ragam waktu muncul tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	26
2a.	Rata-rata waktu muncul daun apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	27
2b.	Sidik ragam waktu muncul daun apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	27
3a.	Rata-rata jumlah tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	28
3b.	Sidik ragam jumlah tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	28
4a.	Rata-rata jumlah daun apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	29
4b.	Sidik ragam jumlah daun apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	29
5a.	Rata-rata tinggi tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	30
5b.	Sidik ragam tinggi tunas apikal tebu pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP dan NAA.....	30
6.	Formulasi komposisi dan larutan baku media MS (<i>Murashige and Skoog</i>) dalam 1 liter media.....	31

Gambar

Nomor urut		Halaman
1.	Denah Percobaan Berdasarkan Pola RAL.....	32
2.	Kondisi Penelitian di Laboratorium.....	33
3.	Perkembangan Eksplan.....	33
4.	Warna Tunas Pada Berbagai Konsentrasi.....	33
5.	Perbandingan Parameter Tunas	34
6.	Kegiatan Penelitian.....	34

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menjadi salah satu negara pertanaman tebu yang potensial untuk dikembangkan, mengingat secara teknis tebu cukup diminati petani, dan secara ekonomis tebu sangat menguntungkan, serta secara sosial dapat membuka lapangan pekerjaan. Tebu menjadi komoditas yang cukup strategis dan memegang peranan penting di subsektor perkebunan dalam perekonomian nasional (Musa, 2022). Negara beriklim tropis seperti Indonesia mampu menjadi tempat efektif dalam mengembangkan tanaman tebu, karena bagian batang tebu mengandung nira yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar industri gula dan dapat diolah menjadi banyak produk. Selain diolah menjadi gula, tebu juga dapat diproduksi menjadi bahan baku berupa industri farmasi, kimia, dan bahan bakar bioetanol (Supalal, 2021).

Pengembangan tebu saat ini tidak hanya berperan dalam pertumbuhan perekonomian negara tetapi berkontribusi langsung terhadap pemenuhan kebutuhan pokok rakyat (Supalal, 2021). Menurut Direktorat Pertanian, Badan Pusat Statistik (2022) melaporkan bahwa produksi tebu Indonesia akan mencapai 2,41 juta ton pada tahun 2022. Ini merupakan peningkatan 2,45% dari 2,35 juta ton di tahun sebelumnya. Namun, permintaan konsumsi gula untuk tahun 2022 diperkirakan mencapai 6,48 juta ton. Artinya, peningkatan konsumsi gula yang tinggi tidak diikuti dengan produksi tanaman tebu, sehingga kebutuhan gula dalam negeri belum tercukupi. Menurut data dari Badan Pusat Statistik (BPS), Indonesia telah berupaya meningkatkan produksi gula dengan berbagai program, namun tantangan seperti perubahan iklim, keterbatasan lahan, dan infrastruktur pengolahan yang kurang memadai masih menjadi hambatan. Kurangnya pasokan varietas benih yang sehat, tidak terbebas dari hama penyakit, serta adanya organisme pengganggu tanaman, juga menjadi penyebab terjadinya masalah produksi tanaman tebu. Maka dari itu, perlu upaya dalam mengatasi permasalahan produksi dengan menggunakan teknik biologi modern, yaitu metode kultur jaringan tanaman secara *in vitro* (Mayang, 2020).

Kultur jaringan secara *in vitro* merupakan metode yang cepat dan tepat untuk memperbanyak tanaman dalam lingkungan yang steril, sehingga dapat menekan serangan hama dan penyakit pada tebu. Proses kultur ini melibatkan isolasi bagian-bagian tanaman, seperti sel, jaringan, atau organ, yang kemudian ditumbuhkan pada medium agar di lingkungan yang terkontrol. Teknik ini menghasilkan jumlah bibit yang banyak, pertumbuhan yang relatif lebih singkat, dan menghasilkan bibit berkualitas tinggi. Kultur jaringan ini didasari oleh teori totipotensi sel yang dikemukakan oleh F.C. Steward pada tahun 1958. Secara singkat teori ini menjelaskan bahwa sel-sel pada tahap awal atau sel embriogenik memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi organisme yang utuh dan lengkap melalui proses regenerasi (Barus, 2018). Totipotensi juga berarti kemampuan sel untuk tumbuh dan beregenerasi menjadi tanaman baru, baik secara somatik, vegetatif, maupun gametik (Anitasari, 2018).

Kultur jaringan memiliki berbagai jenis metode dalam menumbuhkan dan mengembangkan eksplan sesuai dengan proses isolasinya, yang diupayakan untuk membentuk tanaman baru. Menurut Harahap (2019), kultur jaringan memiliki beberapa jenis metode isolasi, yaitu kultur kalus, protoplas, haploid, suspensi sel, kultur organ, embrio, meristem dan tunas apikal. Keberhasilan dalam meregenerasi tebu secara *in vitro* telah banyak diajukan dan dinyatakan bahwa keberhasilan regenerasi tebu tergantung dari genotipe tanaman, sumber eksplan, maupun formulasi media yang digunakan. Eksplan yang masih muda merupakan pilihan yang baik untuk perbanyak tanaman karena di dalam eksplan terdapat sel-sel yang masih aktif membelah. Menurut penelitian Rasullah (2013), pemilihan eksplan dengan menggunakan bagian jaringan yang lebih muda sangat direkomendasikan karena pembelahan sel akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia organ tanaman eksplan.

Jenis kultur jaringan yang menggunakan bagian muda tanaman sebagai bahan eksplan disebut kultur tunas apikal dan kultur meristem apikal. Kultur tunas apikal umumnya menggunakan tunas muda yang diambil dari bagian kuba atau ujung batang tanaman, yang memiliki potensi untuk tumbuh membentuk tanaman baru. Metode ini sering diterapkan untuk proses regenerasi serta perbanyak vegetatif tanaman (Khrisna, 2022). Sedangkan, kultur meristem apikal melibatkan penggunaan meristem yang terletak di ujung tunas dan akar. Kultur meristem apikal sering digunakan untuk tujuan eliminasi patogen, virus, dan bakteri (Karjadi, 2018). Teknik kultur ini mengarah pada pembentukan organogenesis langsung atau suatu sel-sel akan tumbuh dan berkembang menjadi organ-organ spesifik seperti akar, batang, daun, tanpa melalui tahap peralihan jaringan kalus (Aulannisa, 2023). Menurut Remita (2013) bahwa, kultur tunas apikal memiliki keunggulan dalam mempercepat perbanyak vegetatif dan memiliki karakteristik yang sama dengan induknya. Sehingga, perlu adanya penunjang untuk tanaman kultur berkembang sesuai dengan arah dan tujuan yang diinginkan.

Penunjang keberhasilan perbanyak tanaman tidak terlepas dari nutrisi yang terkandung pada media tumbuh yang digunakan. Murashige dan Skoog (MS) menjadi salah satu bahan tumbuh dalam memperbanyak bibit secara kultur jaringan yang akan menentukan keberhasilan eksplan untuk tumbuh dan berkembang. Media yang digunakan dalam kultur jaringan terdiri dari kandungan unsur hara berupa mineral, senyawa sumber nutrisi, vitamin, dan zat pengatur tumbuh (Mayang, 2020). Dari laporan penelitian sebelumnya, formulasi penambahan ZPT sebagai elemen medium hara untuk perkembangan tunas apikal masih sangat terbatas. Oleh karena itu, formulasi ZPT yang seimbang sangat diperlukan untuk mendukung pertumbuhan regenerasi tanaman tebu, merangsang pertumbuhan eksplan, memenuhi kebutuhan hara media, dan mencegah kematian eksplan (Nuhidayah, 2017). Morfogenesis tunas dan akar pada tanaman dipengaruhi oleh komposisi media dasar dan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin. Dengan penambahan kombinasi dan keseimbangan auksin dan sitokinin akan memberikan dampak yang signifikan terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kultur jaringan (Anitasari, 2018).

Pemilihan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh dapat ditentukan pada tipe pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. *Benzyl Amino Purin* (BAP) termasuk ZPT dalam golongan sitokinin yang berguna dalam melakukan pembelahan sel. Sitokinin ini merupakan senyawa turunan adenine yang berperan sebagai pengaruh dalam sel,

dan merangsang sel dorman. Penggunaan konsentrasi BAP memiliki keunggulan dibandingkan dengan sitokinin jenis lain karena mempunyai aktivitas yang lebih stabil, tidak mudah teroksidasi, dan mudah terjangkau (Rahmatika, 2019). Penggunaan BAP dalam kultur jaringan merupakan faktor yang akan mempengaruhi pembentukan embrio dan planlet pada tanaman tebu. Studi Tilaar (2013), menemukan bahwa BAP 3 mg L^{-1} dapat mempercepat waktu bertunas tanaman tebu dan mencapai pembentukan tunas terbaik. Selain itu, menurut Tajuddin (2015), penggunaan konsentrasi BAP 2 mg L^{-1} atau penggunaan sitokinin dosis tinggi akan menghasilkan persentase pertumbuhan tunas apikal. Menurut penelitian lain, pemberian BAP 3 mg L^{-1} dapat menghasilkan tunas terbanyak pada eksplan tunas apikal dan meristem. Bahan tanam media Murashige dan Skoog (MS) yang ditambahkan dengan BAP $1\text{-}3 \text{ mg L}^{-1}$ memiliki tingkat multiplikasi tunas tertinggi (Lutfiani, 2022).

Naphtalene Acetic Acid (NAA) menjadi salah satu jenis ZPT auksin yang berguna sebagai inisiasi akar dan tinggi batang tanaman. Jenis auksin NAA ini adalah jenis bahan kimia yang tidak mampu dirusak oleh enzim lain, bahan lebih stabil, mampu meningkatkan sintesis protein dan mobilitasnya terbilang tidak terlalu tinggi di dalam tanaman (Widiastoety, 2010). Dengan mendorong proses pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium tanaman, NAA memainkan peran penting dalam menginduksi pemanjangan batang dan pembentukan akar. Hasil penelitian kultur jaringan Biradar (2018) menunjukkan bahwa, NAA 3 mg L^{-1} yang digunakan secara tunggal akan mempengaruhi parameter seperti tinggi tunas, pemanjangan akar, dan jumlah akar. Pemberian NAA dengan konsentrasi rendah akan mempercepat respon eksplan dan menghasilkan pertumbuhan akar yang lebih baik (Astuti dkk, 2020). Penggunaan NAA diduga memberikan pengaruh antagonis terhadap sitokinin jika dosis yang digunakan terlalu tinggi dan dapat menghambat pembelahan dan pemanjangan sel, terlebih lagi jika NAA digunakan pada pertumbuhan tunas apikal, maka NAA akan bersifat menghambat. Hal ini membuktikan bahwa pemberian NAA dalam induksi tunas pada setiap tanaman akan menghasilkan sifat yang berbeda-beda (Sukmadjaja, 2011).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian mengenai penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin dari segi konsentrasi *Benzil Amino Purin* (BAP) dan *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) yang diharapkan mampu mempercepat muncul tunas, menambah jumlah daun, dan kemampuan batang tumbuh tinggi, sehingga perbanyak melalui kultur tunas apikal tebu secara *in vitro* dapat tercapai.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Kultur jaringan

Kultur jaringan menjadi suatu teknik dalam pemisahan suatu bagian-bagian tanaman yang memiliki kemampuan beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Teknik kultur jaringan memberikan metode alternatif untuk memperbanyak dan memproduksi tanaman baru dalam waktu yang singkat dengan induk yang sedikit. Dalam menumbuhkan eksplan secara aseptis pada suatu media kultur dapat dimulai dengan mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti sel, jaringan, embrio, dan organ. Memperbanyak tanaman dengan kultur jaringan dapat disebut sebagai teknik mikropropagasi tanaman sedangkan laju multiplikasi yaitu sebutan lain dari kultur jaringan yang terbukti mampu meningkatkan produksi dan memperbanyak jumlah tunas

dengan cepat (Heriansyah, 2020). Perkembangan teknik kultur jaringan dimulai pada tahun 1902 oleh Gottlieb Haberlandt. Keberhasilan penerapan teknik kultur jaringan untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif pertama kali dilaporkan oleh White pada tahun 1934 melalui kultur akar tomat. Kemudian dikembangkan lagi oleh K.W. Thimann dan F.Skoog pada tahun 1940an (Zulkarnain, 2024). Seiring berjalannya waktu teknik kultur jaringan ini meningkat pesat dan menghasilkan berbagai penelitian yang signifikan.

Perkembangbiakan ataupun regenerasi dalam kultur jaringan dapat dimulai melalui kultur organogenesis dan embriogenesis somatik, baik melalui secara langsung ataupun melalui tahap kalus. Organogenesis secara langsung atau tahap perkembangbiakan tunas dan akar akan terbentuk melalui jaringan tunas meristem, tunas pucuk, dan meristem apikal. Dalam melakukan mikropropagasi dapat dilakukan dengan dua cara pengkulturan, yaitu dengan metode produksi kultur tunas pucuk dan kultur mata tunas. Perbanyak melalui mikropropagasi paling umum dilakukan dengan menggunakan bagian eksplan muda yang ditumbuhkan pada media agar sebagai bahan tanam. Menurut (Zulkarnain, 2024) bahwa, terdapat beberapa jenis teknik kultur jaringan yang dapat digunakan dalam memperbanyak kultur, salah satunya yaitu kultur tunas apikal. Terdapat tiga keunggulan dalam memperbanyak kultur apikal ini, yaitu; mendapat banyak jumlah klon dari bagian kecil tanaman dalam kurun waktu kurang dari setahun, teknik kultur ini juga mampu menjadi solusi bagi beberapa jenis tanaman yang resisten terhadap kemampuan untuk tumbuh dalam memperbanyak konvensional dengan cara mengubah dan mengkombinasikan penggunaan zat pengatur tumbuh, serta tidak tergantung pada kondisi musim karena proses kultur dilakukan pada lingkungan terkontrol dan aseptis.

Kultur tunas apikal ini menjadi metode memperbanyak *in vitro* yang digunakan sejak tahun 1952 oleh Morel dan Martin sebagai pengembangan teknik kultur tunas apikal meristem. Sehingga, kultur ini mampu menghasilkan tanaman baru secara vegetatif dengan cepat dan efisien. Teknik ini memungkinkan reproduksi tanaman dalam jumlah besar dengan karakteristik yang sama dengan tanaman induk, serta dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman yang sulit berkembang biak melalui biji. Selain itu, kultur tunas apikal juga berguna untuk memperbaiki kualitas tanaman atau untuk mempertahankan sifat unggul dari tanaman induk. Penggunaan titik tumbuh pada ujung batang sebagai teknik memperbanyak akan menghasilkan sel-sel apikal yang stabil karena mitosis pada sel meristem terjadi bersamaan dengan pembelahan sel yang terus-menerus, sehingga duplikasi DNA yang berlebihan dapat dihindari. Hal ini menyebabkan tanaman yang dihasilkan identik dengan tanaman donor (Karjadi, 2018).

1.4.1 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah senyawa kimia yang berfungsi sebagai pengatur aktivitas fisiologis tanaman dan sering digunakan dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan. ZPT mempercepat pembentukan tunas, akar, dan kalus pada eksplan atau jaringan tanaman yang dikulturkan secara *in vitro*. Dengan peran ZPT, teknik kultur jaringan mampu memperbanyak tanaman dalam jumlah besar serta menghasilkan tanaman dengan sifat unggul dalam waktu relatif cepat. Dengan penambahan beberapa bahan ZPT maka keberhasilan memperbanyak bibit dapat tercapai. Sejalan dengan Nurhidayah (2017) bahwa, dalam formulasi media, penambahan ZPT menjadi sangat penting dan dapat berpengaruh baik untuk pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan. ZPT menjadi faktor dalam proses diferensiasi sel dan

jaringan tanaman yang dikulturkan. Pada tanaman terdapat lima kelompok ZPT yang mampu mempercepat tumbuh dan berkembangnya tanaman yaitu, auksin, giberelin, etilen, sitokinin dan asam absisat (Sari, 2013). Dalam kultur jaringan, terdapat dua kelompok ZPT yang sangat penting dan sering digunakan, yaitu sitokinin dan auksin. ZPT jenis sitokinin dan auksin mampu mempercepat pertumbuhan dan pembentukan morfologi tunas dan akar dalam kultur jaringan.

Sitokinin digunakan untuk merangsang pembentukan tunas, mempengaruhi metabolisme sel, dan merangsang sel-sel dorman. Sitokinin juga berfungsi dalam pengaturan pembelahan sel serta morfogenesis. Aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel, sehingga sitokinin dapat mempercepat dan memperbanyak jumlah tunas dalam satu bahan eksplan. Menurut Mawaddah (2021) terdapat berbagai jenis golongan sitokinin yang dapat digunakan dalam kultur jaringan yaitu, *Benzyl Adenine* (BA), *Benzyl Amino Purin* (BAP), *Kinetin*, *Zeatin*, *Thidiazuron* (TDZ). Penggunaan *Benzyl Amino Purin* banyak digunakan dalam mikropropagasi tanaman, jenis sitokinin ini sangat efisien dalam konsentrasi rendah, mudah didapat, memiliki efek sinergis dengan hormon lain, dan bersifat spesifik terhadap tanaman (Jannah, 2023).

Penggunaan konsentrasi sitokinin akan membentuk proses proliferasi pada tunas apikal. Menurut Hartati (2016), penggunaan BAP dalam konsentrasi rendah (0,5–1,0 mg/L) dapat merangsang pembelahan sel dan pertumbuhan tunas tanpa menyebabkan pertumbuhan berlebihan. Dosis rendah ini berpengaruh pada tahap awal induksi tunas karena mempercepat munculnya tunas baru tanpa menyebabkan kelainan pada jaringan. Sedangkan, pada konsentrasi BAP pada level sedang (1,5–3,0 mg/L) sering diidentifikasi sebagai dosis optimal dalam berbagai penelitian. Pada tingkat ini, BAP efektif dalam memperbanyak jumlah tunas, mempercepat proses proliferasi, dan menjaga kualitas tunas yang dihasilkan. Beberapa jurnal menunjukkan bahwa dosis penambahan tersebut termasuk titik ideal bagi banyak jenis tanaman, di mana tunas yang dihasilkan cenderung lebih sehat dan memiliki kemampuan tumbuh lebih baik. (Kartiman, 2018). Sejalan dengan pernyataan Paramartha (2012) aktivasi sitokinin mampu mengaktifkan dan meningkatkan laju sintesis protein yang berfungsi sebagai pembangun sel-sel dalam tunas. Sehingga, sel-sel terbentuk dan akhirnya terdiferensiasi menjadi organ tertentu sesuai dengan proses aktivasi ZPT yang digunakan.

Penggunaan ZPT NAA sebagai hormon auksin juga banyak digunakan dalam regenerasi tunas. ZPT ini berfungsi sebagai pembentuk akar, serta menghambat pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar. Arah perkembangan kultur tunas akan dipengaruhi oleh ZPT yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen. Hal ini akan mempengaruhi proses pertumbuhan dan morfogenesis tanaman (Lutfiani, 2022). Sifat translokasi, persistensi (tidak mudah terurai), dan laju aktivitas menentukan jenis auksin yang dipilih untuk mendorong pertumbuhan akar. ZPT golongan auksin yang paling umum digunakan dalam kultur in-vitro adalah *naphthalene acetic acid* (NAA), *indole-3-acetic acid* (IAA), *indole-3-butiric acid* (IBA), *2,4-dichlorophenoxy-acet* (Ariyanti, 2013). Penggunaan NAA pada kultur akan mempengaruhi pembesaran batang dan diferensiasi akar, sehingga dengan adanya peningkatan konsentrasi NAA dapat meningkatkan pertumbuhan akar planlet tanaman. NAA memiliki sifat lebih stabil dan mobilitasnya dalam tanaman rendah sehingga penggunaan NAA berhubungan dengan konsentrasi yang digunakan (Hartati, 2016). Dari penelitian Lutfiani (2022) pemberian NAA pada konsentrasi 2 mg/l secara tunggal memiliki jumlah akar yang tinggi, Hal ini diduga pemberian NAA secara tunggal dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan memberikan panjang akar yang lebih tinggi

Proses kerja auksin pada tanaman diawali dengan transportasi auksin pada sel tanaman bersifat polar, yaitu dari atas ke bawah. Menurut hipotesis pertumbuhan asam, pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memiliki peranan penting dalam respon sel-sel tumbuhan terhadap keberadaan auksin, sehingga pada bagian ujung tunas atau tunas apikal memiliki kandungan auksin yang lebih banyak (Hartati, 2016). Saat auksin disintesis oleh sel, pH dinding sel menurun dimana pengasaman dinding sel ini mengaktifkan enzim ekspansin yang memecahkan ikatan hidrogen yang terdapat di antara mikrofibril selulosa sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Ketika sel mulai bervolume dinding sel akan mengaktifkan enzim ektensin yang berfungsi untuk merekatkan kembali mikrofibril selulosanya, perlahan-lahan auksin akan mengalir melalui jaringan floem ke sel yang ada di bawahnya dan melakukan mekanisme yang sama dengan sel sebelumnya sehingga terjadilah pembesaran suatu jaringan. Pembesaran jaringan ini menyebabkan, pada bagian batang tebu terdapat banyak kandungan glukosa yang dapat dimanfaatkan.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui dan menganalisis berbagai pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang mampu membentuk tunas dalam satu eksplan.

Kegunaan dari penelitian ini yaitu sebagai bahan informasi terkait perbanyakan bibit secara *in vitro* pada tanaman tebu dengan menggunakan kultur tunas apikal. Juga menjadi referensi penelitian dalam bidang serupa bagi pihak yang membutuhkan serta sebagai bahan pembandingan pada penelitian selanjutnya terkait penggunaan konsentrasi BAP dan NAA untuk pertumbuhan eksplan tanaman tebu.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan dari latar belakang, hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat interaksi antara penggunaan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dengan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) yang dapat memberikan pengaruh terhadap respon pertumbuhan tunas apikal tanaman tebu.
2. Terdapat konsentrasi *Benzyl Amino Purin* (BAP) yang berpengaruh baik terhadap semua pertumbuhan tunas apikal tebu.
3. Terdapat konsentrasi *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) yang memberi pengaruh pada pembentukan tunas apikal tebu.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian dan bertempat di *Science Techno Park – IBT-SPT*, Universitas Hasanuddin, Makassar. Kegiatan penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2023 hingga Juni 2024.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari, *magnetic stirrer*, *handsprayer*, timbangan digital ($\pm 0,000$ g), *RHS Color Chart*, kompor gas, gelas ukur, mikropipet, erlenmeyer, autoklaf, oven, batang pengaduk, spatula, corong plastik, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFB), cawan Petri, botol kultur volume 250ml, tabung reaksi, tabung ukur, pinset, pembakar spirtus bunsen, gas, korek api, pH meter digital, pisau, rak kultur, *blade scalpel*, alat tulis, kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas pucuk tanaman tebu varietas Kindang Kencana, stok larutan hara media *Murashige and Skoog* (MS), gula pasir 30 g L⁻¹, agar-agar putih 8 g L⁻¹, zat pengatur tumbuh BAP dan NAA, aquades, alkohol 70%, alkohol 96%, *sodium hypochlorite* 1,5% hasil pengenceran dari bayclin konsentrasi 5,25%, sabun cair, larutan NaOH 1N, larutan HCL 1N, *tissue* steril, plastik *wrapping*, spritus, *aluminium foil*, kertas label.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian berbentuk percobaan yang disusun berdasarkan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan percobaan pola percobaan dua faktor. Faktor pertama yaitu *Naphthalene Acetic Acid* (N) yang terdiri dari 4 taraf yaitu n0 = tanpa NAA, n1 = 1 mg L⁻¹, n2 = 2 mg L⁻¹, n3 = 3 mg L⁻¹. Faktor kedua *Benzyl Amino Purin* (B) yang terdiri dari 4 taraf yaitu b0 = 0 mg L⁻¹, b1 = 1 mg L⁻¹, b2 = 2 mg L⁻¹, b3 = 3 mg L⁻¹ sehingga percobaan terdiri dari 16 kombinasi perlakuan.

Tabel Penggunaan Konsentrasi Perlakuan

<i>Benzyl Amino Purin</i> (b)	<i>Naphthalene Acetic Acid</i> (n)			
	0 mg L ⁻¹ (n1)	1 mg L ⁻¹ (n1)	2 mg L ⁻¹ (n2)	3 mg L ⁻¹ (n3)
0 mg L ⁻¹ (b0)	n0b0	n0b1	n0b2	n0b3
1 mg L ⁻¹ (b1)	n1b0	n1b1	n1b2	n1b3
2 mg L ⁻¹ (b2)	n2b0	n2b1	n2b2	n2b3
3 mg L ⁻¹ (b3)	n3b0	n3b1	n3b2	n3b3

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali dan setiap kombinasi perlakuan terdiri dari enam unit tanaman. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam dan jika terdapat pengaruh nyata perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan Beda Nyata Jujur (BNJ).

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pembuatan Media Tanam Perlakuan

Pembuatan media tanam terbuat dari nutrisi Murashige & Skoog (MS) yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh sebagai bahan tambahan perlakuan. Pelarutan stok media terdiri dari unsur hara makro NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; hara mikro H_3BO_3 , MnSO_4 , ZnSO_4 , Na_2MoO_4 , CaCl_2 , CuSO_4 ; dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan Na_2 -EDTA, serta larutan vitamin dan larutan BAP dan NAA sebagai zat pengatur tumbuh. Untuk media MS penuh masing-masing stok diambil sesuai dengan takarannya. Pembuatan media 1L MS dilakukan dengan memasukkan seluruh larutan stok makro, mikro, dan vitamin. Selanjutnya larutan media MS ditambah gula pasir 30 g sebagai sumber karbohidrat, agar 8 g sebagai pematat media, serta ZPT sesuai dengan kombinasi perlakuan yang telah ditentukan, media kemudian ditera menjadi satu liter dengan penambahan aquades. Selanjutnya mengukur tingkat kemasaman (pH) pada larutan media.

Tingkat kemasaman (pH) larutan diukur dengan menggunakan pH meter. pH diatur hingga mencapai 5,8 apabila tingkat kemasaman larutan $\text{pH} < 5,8$ maka ditambahkan beberapa tetes NaOH 1N dan jika tingkat kemasaman larutan $\text{pH} > 5,8$ maka ditambahkan beberapa tetes HCl 1N. Larutan media selanjutnya dipanaskan sampai larut dan mendidih hingga terlihat bening. Kemudian media yang telah mendidih dituangkan ke dalam botol kultur kira-kira sebanyak 20-25 mL, dan ditutup dengan penutup plastik tahan panas. Lalu disterilisasi basah autoklaf pada tekanan 1,5 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit, untuk memastikan media dalam kondisi yang baik dan siap untuk digunakan perlu dilakukan penyimpanan media dalam lemari ruang tanam selama 3 hari.

2.4.2 Pembuatan Larutan Stok ZPT

Pembuatan larutan stok ZPT 100 mg L^{-1} diawali dengan menimbang BAP dan NAA sebanyak 0,01 g dan dilarutkan dengan sedikit HCl 1N untuk BAP dan NaOH 1N untuk NAA kemudian ditambahkan aquades steril hingga volume 100 ml. Larutan stok diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan homogen. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam botol yang telah diberi label dan disimpan di dalam lemari pendingin.

2.4.3 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan ketika penanaman harus dalam keadaan steril. Alat-alat tanam logam dan gelas disterilkan ke dalam autoklaf. Semua alat tanam yang terbuat dari bahan dasar kaca dan logam dicuci menggunakan sabun cuci atau deterjen lalu dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Kemudian alat yang telah kering dibungkus menggunakan kertas HVS. Berbagai ukuran botol kultur dan semua alat tanaman yang

telah dibungkus HVS kemudian dimasukkan ke dalam atoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Jika sterilisasi basah telah selesai, semua alat disimpan ke dalam oven pengering sebagai tempat penyimpanan.

Alat-alat seperti pinset dan *scalpel* dapat disterilisasi kembali dengan pemanasan di atas api spiritus, setelah dicelupkan ke dalam alkohol 96% sebelum dilakukan penanaman. Kebersihan lingkungan khusus *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dilakukan dengan membersihkan seluruh permukaan meja dan dinding LAFC dengan cara menyemprotkan alkohol 70% ke seluruh permukaan dan menyekanya dengan menggunakan *tissue* steril. Selanjutnya, memasukkan semua alat-alat tanam yang telah disterilisasi basah dan kering ke dalam LAFC dengan menyemprotkan alkohol 70% ke permukaan alat. Setelah itu, lampu ultra violet dinyalakan selama 15-30 menit sebelum digunakan dengan tujuan untuk membersihkan kontaminan di permukaan tempat kerja.

2.4.4 Pengambilan dan Sterilisasi Eksplan

Pengambilan eksplan tebu dengan cara memotong bagian pucuk tanaman tebu (tiga ruas atas), eksplan dipilih dari tanaman yang berumur 4-6 bulan. Bahan tanam diambil dari bagian tunas pucuk yang telah dibersihkan dari kotoran dan dilakukan pembuangan beberapa dedaunan yang tidak diinginkan, kemudian eksplan yang bersih disimpan pada plastik kedap udara. Jika eksplan akan digunakan sebaiknya melakukan sterilisasi kembali, dengan melakukan pembuangan tiga daun terluar sampai terlihat bagian pucuk berwarna putih kehijauan. Setelah menyisakan beberapa gulungan daun pucuk tebu, kemudian disimpan pada wadah steril untuk dilakukan sterilisasi kimia di dalam LAFC.

Sterilisasi eksplan secara kimia di dalam LAFC dilakukan dengan cara memotong batang di bawah ruas pertama meristem apikal, yang sebelumnya alat tanam harus disterilkan menggunakan alkohol 96% dan dibakar pada api bunsen. Kemudian melakukan sterilisasi celup bakar pada tunas pucuk tebu dengan mencelupkan tunas ke dalam alkohol 96% lalu dibakar di atas api bunsen, yang diulang sebanyak tiga kali. Setelah itu bagian pelepah yang telah dibakar kemudian dibuang dan hanya menyisakan bagian luar pelepah pucuk (yang terasa sedikit lunak jika ditekan menggunakan pinset). Rendam eksplan menggunakan larutan berbahan aktif *sodium hypochlorite* 1,5% yang telah diencerkan dari cairan pemutih (bayclin) 5,25% dan ditambahkan bahan sterilan deterjen (*Tween*® 20), selama 15 menit. Setelah melakukan perendaman kemudian eksplan dibilas menggunakan aquades steril sebanyak tiga kali dan mengeringkannya pada cawan petri yang telah diberi *tissue* steril.

2.4.5 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan di dalam LAFC pada ruang tanaman yang steril. Eksplan yang telah steril kemudian gulungan terluarnya dibuang hingga terdapat batas buku batang tebu dan mendapat bagian pucuk kecil yang berukuran 1cm dari tunas pucuk apikal tebu. Eksplan tersebut kemudian ditanam pada botol kultur sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Pada setiap botol kultur terdiri dari satu eksplan. Kemudian, sterilkan penutup botol di atas api bunsen dan *wrapping* botol sebagai alat pencegah masuknya kontaminan dari luar dan botol kultur diberi label sesuai perlakuan sebagai

penanda beserta tanggal penanamannya. Setelah proses penanaman selesai, semua botol kultur disimpan pada ruangan inkubasi. Setiap 2 minggu sekali dilakukan subkultur pada eksplan.

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

2.5.1 Pengamatan Kuantitatif

- a. Waktu muncul tunas (HST)
Parameter waktu munculnya tunas diamati pada saat pertama kali tunas terbentuk, dari hari setelah tanam eksplan sampai mengeluarkan tunas.
- b. Waktu muncul daun (HST)
Parameter ini diamati pada waktu pertama kali eksplan membentuk daun, dihitung dengan cara mengamati hari setelah tanam sampai terbentuknya daun.
- c. Jumlah tunas terbentuk (Tunas)
Parameter ini dilakukan pada akhir penelitian, pengamatan jumlah tunas yaitu menghitung tunas-tunas terbentuk dari setiap sampel tanaman yang hidup.
- d. Jumlah daun terbentuk (helai)
Parameter ini dilakukan pada akhir penelitian, jumlah daun yang muncul pada setiap bagian tunas dari setiap sampel tanaman yang hidup.
- e. Tinggi tunas (cm)
Parameter tinggi tunas diukur pada akhir penelitian, cara mengukur tunas terpanjang dengan menggunakan penggaris pada setiap sampel, dari pangkal samping.

2.5.2 Pengamatan Kualitatif

Warna Daun, diukur menggunakan Bagan Warna Daun pada pengamatan akhir dengan cara meletakkan botol kultur di atas BWD untuk melihat perbandingan warna daun pada tunas.

2.6 Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif (warna daun pada tunas apikal) berupa pengamatan visual kemudian dianalisis menggunakan analisis secara deskriptis. Sedangkan data kuantitatif (waktu muncul dan jumlah tunas, waktu muncul dan jumlah daun, maupun tinggi tunas) dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA ($\alpha = 0,05$), yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).