

Mikropropagasi tebu (*Saccharum officinarum*. L) menggunakan sistem perendaman sesaat

Micropropagation of sugarcane (Saccharum officinarum. L) using temporary immersion system

Hayati MINARSIH*, Imron RIYADI, SUMARYONO & Asmini BUDIANI

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia Jl. Taman Kencana No. 1, Bogor 16128 Indonesia

Diterima tanggal 4 Februari 2013/disetujui tanggal 1 Mei 2013

Abstract

To achieve Indonesian sugar self-sufficiency, the national production needs to be escalated through land extensification that requires a large numbers of cane planting materials. This can be achieved by mass propagation of sugarcane through *in vitro* culture. Solid medium is commonly used for callus proliferation in sugarcane tissue culture. However, solid medium is considered inefficient in terms of plantlet production level, labour and space. The use of liquid medium may solve the problem by allowing automation to increase plantlet production scale and uniformity. Temporary immersion system (TIS) is based on a short periodic immersion of explants in a liquid medium for a specific frequency and duration. Research on *in vitro* mass propagation of sugarcane using TIS was conducted at the Indonesian Biotechnology Research Institute for Estate Crops. Callus initiated from immature unfolded leaves of PSJT 941 and PS 881 was cultured on liquid MS medium in TIS with different frequencies (12 and 24 h) and durations (1 and 3 min) of immersion. Each treatment was replicated three times. The callus biomass of two elite cane varieties (PSJT 941 and PS 881) cultured in TIS for six weeks was higher (2 – 4 times fold) than that of on solid medium. The PSJT 941 variety reached the highest calli biomass with immersion for three min every 24 h. However, PS 881 variety reached its highest biomass with immersion for one minute every 24 h. The propagation of sugarcane using TIS culture was proven to produce higher calli biomass up to four folds and to form more numbers and uniform shoots compared to the solid medium culture. The callus was successfully regenerated to shoots and plantlets.

[Keywords : *In-vitro* culture, callus initiation, callus explant, calli biomass].

Abstrak

Untuk mencapai swasembada gula, perlu dilakukan peningkatan produksi gula nasional melalui perluasan areal pertanaman tebu sehingga diperlukan bibit dalam jumlah besar. Hal tersebut dapat diatasi antara lain dengan perbanyakan tebu melalui kultur *in vitro*. Penggunaan medium padat pada perbanyakan kalus tebu melalui kultur *in vitro* merupakan teknik yang umum digunakan saat ini. Akan tetapi penggunaan medium padat dianggap kurang efisien dalam hal jumlah planlet yang diproduksi, tenaga kerja dan ruang yang digunakan. Penggunaan medium cair dapat mengatasi kelemahan tersebut dengan dimungkinkannya otomatisasi sehingga dapat meningkatkan skala produksi dan keseragaman planlet. Sistem perendaman sesaat (SPS)

merupakan teknik kultur *in vitro* dalam medium cair menggunakan bejana bersekat dimana kontak antara eksplan dan medium terjadi hanya secara sesaat dan periodik. Penelitian perbanyakan massal bibit tebu melalui SPS dilakukan di Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. Kalus diinisiasi dari daun menggulung varietas PSJT 941 dan PS 881 yang ditumbuhkan pada media MS cair dalam kultur SPS dengan frekuensi yang berbeda yaitu setiap 12 dan 24 jam dan dengan lama perendaman selama 1 dan 3 menit. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Bobot basah (biomassa) kalus dari dua varietas tebu (PSJT 941 dan PS 881) yang ditumbuhkan dengan metode SPS setelah enam minggu menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi yaitu antara 2 - 4 kali lipat dibandingkan dengan kontrol pada media padat. Peningkatan biomassa tertinggi pada varietas PSJT 941 diperoleh pada perlakuan SPS dengan interval perendaman 24 jam dan lama perendaman tiga menit. Sedangkan pada PS 881, peningkatan tertinggi biomassa diperoleh pada interval perendaman 24 jam dan lama perendaman satu menit. Perbanyakan dengan metode SPS terbukti dapat meningkatkan biomassa kalus lebih dari empat kali lipat dan pembentukan tunas yang lebih seragam dibandingkan dengan pada media padat. Kalus yang dihasilkan dapat diregenerasikan menjadi tunas dan planlet.

[Kata kunci : Kultur *in-vitro*, inisiasi kalus, eksplan kalus, biomassa kalus].

Pendahuluan

Produksi gula nasional mengalami kemerosotan dalam tiga dasawarsa terakhir karena bergesernya areal pertanaman tebu dari lahan sawah ke lahan kering atau marjinal. Untuk meningkatkan produksi gula nasional, perlu dilakukan perluasan areal pertanaman tebu ke lahan-lahan marjinal dengan menggunakan varietas-varietas yang toleran terhadap kekeringan dan tingkat produksi tinggi. Jumlah bibit yang dibutuhkan untuk menunjang program swasembada tersebut sangat besar yaitu sekitar 1,5 - 2 miliar bibit per tahun. Hal tersebut sulit untuk dipenuhi hanya dari perbanyakan tanaman secara konvensional melalui stek batang atau bagal. Selain itu, pembibitan tebu yang dilakukan secara berjenjang juga menyulitkan pengadaan bibit tebu dalam jumlah besar. Masalah tersebut dapat diatasi antara lain dengan perbanyakan tebu melalui kultur jaringan.

Perkembangan kultur jaringan tebu diawali dengan keberhasilan Hawaiian Sugar Planters Association Experiment Station menginduksi kalus

*) Penulis korespondensi:hmiskan@yahoo.com

melalui kultur *in vitro* (Nickell, 1964) serta keberhasilan meregenerasi kultur kalus menjadi planlet tebu menggunakan media MS (Murashige & Skoog, 1962; Michael, 2007) yang telah dimodifikasi. Hal tersebut menjadi titik tolak perkembangan penelitian kultur jaringan tebu yang kemudian diterapkan dalam berbagai aspek seperti mikropropagasi, pemuliaan, konservasi plasma nutfah, eliminasi patogen sistemik, dan rekayasa genetika (Lakshmanan *et al.*, 2005). Penyediaan bibit tebu melalui kultur *in vitro* atau mikropropagasi memiliki beberapa keunggulan di antaranya adalah bibit tebu yang dihasilkan bebas penyakit terutama penyakit-penyakit sistemik dan dapat dilakukan secara cepat dan massal (Cha-um *et al.*, 2006; Khan & Khatir, 2006).

Teknik mikropropagasi merupakan perbanyakan klonal tanaman menggunakan eksplan dari jaringan meristematik atau non-meristematik. Tanaman dapat diregenerasi baik secara langsung dari eksplan maupun secara tidak langsung melalui kalus yang diinisiasi dari eksplan (Geisjkes *et al.*, 2003). Dalam kultur jaringan tebu, planlet dapat dihasilkan dari meristem pucuk dan samping maupun dari jaringan daun muda (Geisjkes *et al.*, 2003). Dari satu mata tunas atau meristem atau jaringan daun muda pada tanaman tebu setelah 1 - 2 bulan dapat terbentuk kalus dan 1 - 2 bulan berikutnya kalus dapat diregenerasi menghasilkan ± 20 tunas/anakan baru (Mariska & Suci, 2011). Kultur kalus sampai saat ini merupakan metode yang banyak digunakan untuk penyediaan bibit tebu secara massal dan cepat. Meskipun pada dasarnya setiap jaringan tanaman tebu dapat digunakan sebagai eksplan untuk inisiasi kalus, akan tetapi, daun muda diketahui merupakan eksplan yang lebih baik karena mampu menghasilkan kalus morfogenik pada setiap level (Lakshmanan *et al.*, 2005).

Penggunaan medium padat pada fase proliferasi kalus tebu merupakan teknik yang umum digunakan saat ini. Namun penggunaan medium padat dianggap tidak efisien dalam hal tingkat produksi planlet, tenaga kerja dan ruang (Sumaryono *et al.*, 2007). Penggunaan medium cair dapat mengatasi kelemahan tersebut dengan dimungkinkannya otomatisasi sehingga dapat meningkatkan skala produksi secara massal (Hvoslef-Eide *et al.*, 2003). Penggunaan medium cair dengan sistem perendaman sesaat (*Temporary Immersion System*) telah dikembangkan untuk meningkatkan laju pertumbuhan dan keseragaman kalus serta embrio somatik pada beberapa tanaman perkebunan di antaranya kelapa sawit (Sumaryono *et al.*, 2007), teh (Tahardi *et al.*, 2003) dan sagu (Kasi & Sumaryono, 2007; Riyadi & Sumaryono, 2009). Sistem perendaman sesaat (SPS) merupakan teknik kultur *in vitro* dalam medium cair menggunakan bioreaktor dimana kontak antara eksplan dan medium terjadi hanya secara periodik. Teknik ini telah dikembangkan pula untuk perbanyakan massal benih tebu di Australia menggunakan eksplan tunas yang ditumbuhkan pada

media *semi solid* (SmartSett) (Mordocco *et al.*, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknologi produksi bibit tebu unggul secara massal, cepat dan seragam melalui kultur *in vitro* dengan sistem perendaman sesaat (SPS) menggunakan eksplan kalus.

Bahan dan Metode

Bahan tanam

Varietas yang digunakan adalah PSJT 941 dan PS 881 yang merupakan varietas unggul dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI), Pasuruan. Bahan tanaman tebu yang dikumpulkan berupa stek batang (dua mata tunas) sebanyak paling sedikit dua stek per varietas. Stek tunas tersebut kemudian ditanam dalam media tanah di rumah kaca. Setelah tumbuh, tunas digunakan untuk eksplan kultur jaringan.

Inisiasi kalus pada media padat

Kalus diperoleh dari diferensiasi jaringan meristematik daun muda yang masih menggulung yang ditanam pada media dasar MS (Murashige & Skoog, 1962) ditambah air kelapa muda 10%, sukrosa 30 g/L, agar dan 2,4-D 3 mg/L yang disebut sebagai media MS I. Dari media tersebut dapat dihasilkan kalus yang belum mengalami diferensiasi. Untuk mempertahankan kalus dalam status embriogenik, maka setiap 3-4 minggu dilakukan subkultur pada media yang sama selama kurang lebih 8-10 minggu sampai diperoleh kalus dengan jumlah yang memadai. Kultur diletakkan di ruang gelap bersuhu 26 ± 1 °C.

Proliferasi kalus embriogenik menggunakan sistem perendaman sesaat (SPS)

Kalus primer yang masih berstruktur remah disubkultur ke medium cair MS I pada sistem perendaman sesaat (SPS). Lama dan interval perendaman diatur secara otomatis dengan pengatur waktu *Autonic double timer* (Riyadi & Sumaryono, 2009) yang disesuaikan dengan perlakuan. Secara detail, perlakuan yang diuji adalah :

1. Kontrol = media padat dalam botol jam.
2. I12D1 = media cair SPS dengan interval 12 jam selama satu menit.
3. I12D3 = media cair SPS dengan interval 12 jam selama tiga menit.
4. I24D1 = media cair SPS dengan interval 24 jam selama satu menit.
5. I24D3 = media cair SPS dengan interval 24 jam selama tiga menit.

Kultur kalus dan pro-embrio tersebut diletakkan di ruang terang di bawah lampu TL dengan intensitas cahaya sebesar 20 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$ dengan periode penyinaran 12 jam dan suhu ruangan 26 ± 1 °C selama enam minggu.

Sebagai pembanding dilakukan kultur pada medium padat sesuai prosedur baku yang dikembangkan di P3GI, Pasuruan (Sugiyarta & Winarsih, 2009). Selanjutnya tahapan proliferasi kalus embriogenik dilakukan pada SPS dengan komposisi medium mengacu pada prosedur baku (Sugiyarta & Winarsih, 2009). Pengamatan pada fase ini meliputi biomassa kalus dengan cara semua kalus yang dipanen ditimbang secara aseptik menggunakan timbangan digital, selanjutnya kalus disubkultur untuk tahap regenerasi.

Regenerasi tunas pada kultur SPS

Induksi dan regenerasi kalus embriogenik fase dewasa dilakukan pada media MS tanpa 2,4-D. Kemudian kalus embriogenik fase dewasa disub-kultur pada media MS II yang mengandung IAA (2 mg/L) dan BAP (0,2 mg/L). Subkultur dilakukan setiap dua minggu sebanyak dua kali. Kultur disimpan dalam ruang terang pada suhu 26 ± 1 °C. Pada fase ini pengamatan meliputi penghitungan bobot basah tunas dengan cara ditimbang dan penghitungan jumlah total tunas yang terbentuk dengan cara menghitung semua tunas yang terbentuk. Seperti pada tahap proliferasi kalus, perlakuan yang diuji pada kultur SPS meliputi interval dan durasi perendaman media yang terdiri atas lima perlakuan yaitu : Kontrol, I12D1, I12D3, I24D1 dan I24D3.

Pembesaran planlet

Tunas yang terbentuk disubkultur pada media MS II padat dalam botol jam. Selanjutnya tunas yang telah mencapai tinggi ≥ 5 cm dipindah ke media MS II cair untuk induksi akar. Untuk pembentukan perakaran, planlet disubkultur ke media cair dalam tabung kaca dengan diameter 3 cm dan tinggi 25 cm. Planlet yang telah mempunyai perakaran sempurna selanjutnya diaklimatisasi.

Analisis statistik

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pada semua parameter diuji statistik dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang diulang tiga kali. Data yang diperoleh diuji statistik sederhana dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5%.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1 menunjukkan peningkatan bobot basah (biomassa) kalus dari dua varietas tebu (PSJT 941 dan PS 881) yang ditumbuhkan dengan metode SPS dibandingkan kontrol setelah enam minggu. Terlihat bahwa peningkatan biomassa tertinggi pada varietas PSJT 941 (lebih dari dua kali lipat dibandingkan dengan kontrol) diperoleh pada perlakuan SPS dengan interval 24 jam dan lama perendaman tiga menit.

Sedangkan pada PS 881, peningkatan tertinggi (lebih dari empat kali lipat dibandingkan dengan kontrol) diperoleh pada interval perendaman 24 jam dengan lama perendaman satu menit. Perbanyakannya dengan metode SPS terbukti dapat meningkatkan biomassa kalus 2 - 4 kali lipat tergantung jenis varietas dibandingkan dengan kultur pada media padat. Proliferasi kalus dan pro-embrio asal kultur pertama dilakukan pada media padat dan cair SPS sesuai perlakuan. Pada tahap ini, perlakuan yang digunakan sama dengan kultur pertama yaitu optimasi interval dan lama perendaman media. Pada tahap selanjutnya, kalus embriogenik fase dewasa, kecambah dini bahkan tunas (pada media padat) asal kultur kedua disubkultur kembali pada media MS II padat dan cair SPS sesuai perlakuan sebelumnya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan biomassa kalus embriogenik dan tunas pada kultur SPS jauh lebih baik dibandingkan pada kultur media padat. Perkembangan kalus pada kultur SPS dari mulai proliferasi sampai dengan regenerasinya ditunjukkan pada Gambar 2.

Pengamatan mikroskopis menggunakan mikroskop Zeis digital (perbesaran 10 x 10) terhadap pembentukan dan perkembangan embrio somatik tebu asal kultur SPS, ditunjukkan pada Gambar 3. Terlihat bahwa agregat kalus embriogenik hasil kultur cair SPS telah membentuk struktur yang mirip embrio (embrio somatik) (Gambar 3a). Selain itu, Gambar 3b. menunjukkan proses perkembangan kalus embriogenik yang tumbuh dan berkembang menjadi tunas atau kecambah. Hal ini menunjukkan bahwa kalus yang dikulturkan pada SPS berpotensi menghasilkan embrio somatik yang dapat tumbuh dan berkembang menjadi kecambah dan planlet.

Struktur yang mirip embrio (*embryo-like structure*) pada tanaman dapat diperoleh dari sel selain gamet yang disebut dengan embrio somatik (Khan & Katri, 2006; Deo *et al.*, 2010). Embrio somatik secara genetik identik dengan induknya karena terbentuk tanpa melalui fertilisasi (pembuahan). Embriogenesis somatik dapat dilakukan secara langsung dan tidak langsung. Proses secara tidak langsung melalui pembentukan kalus sebelum produksi embrio, sedangkan pada embriogenesis somatik langsung, produksi embrio terjadi secara langsung dari jaringan (eksplan) tanpa melalui fase kalus (Slater *et al.*, 2003; Desai *et al.*, 2004). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa morfologi dan perkembangan sementara antar embrio somatik dengan embrio zigotik sangat mirip dan keduanya melalui beberapa tahap yang berbeda yang disebut dengan fase globuler, jantung, torpedo dan kotiledon atau planlet, untuk tanaman dikotiledon (Zimmerman, 1993 dalam Deo, 2010; Rose & Nolan, 2006), serta fase globular, elongasi, skutelar dan koleoptilar untuk monokotil (Eudes *et al.*, 2003; Gill *et al.*, 2004). Pada embriogenesis yang terjadi di tanaman monokotil khususnya famili rumput-rumputan, perubahan dari

Tabel 1. Perbanyakan kalus tebu menggunakan kultur SPS pada umur enam minggu.

Table 1. *Sugarcane calli proliferation using TIS culture for six- weeks in culture.*

No.	Perlakuan <i>Treatments</i>	Varietas <i>Varieties</i>	Parameter		Laju proliferasi <i>Proliferation rate</i> (SPS/control) (%)
			Penambahan biomassa (kali lipat) <i>Biomass increment (fold)</i>	Fase lanjut <i>Advanced stage</i> (%)	
1.	Kontrol	PSJT 941	15,85 c	75,0 a	100 c
2.	I12D1	PSJT 941	27,35 b	50,0 b	172 b
3.	I12D3	PSJT 941	25,76 b	61,7 ab	162 b
4.	I24D1	PSJT 941	17,76 c	56,7 b	112 c
5.	I24D3	PSJT 941	35,32 a	56,7 b	223 a
6.	Kontrol	PS 881	15,82 c	82,0 a	100 c
7.	I12D1	PS 881	33,49 b	60,0 b	212 b
8.	I12D3	PS 881	19,17 bc	50,0 b	121 c
9.	I24D1	PS 881	73,53 a	75,0 a	465 a
10.	I24D3	PS 881	23,25 bc	36,7 c	147 c

Keterangan (*Note*): Angka dalam kolom yang sama dan diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Jarak Berganda Duncan ($P < 0,05$). (*Number in the same column followed by similar letter (s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($P < 0.05$).*)

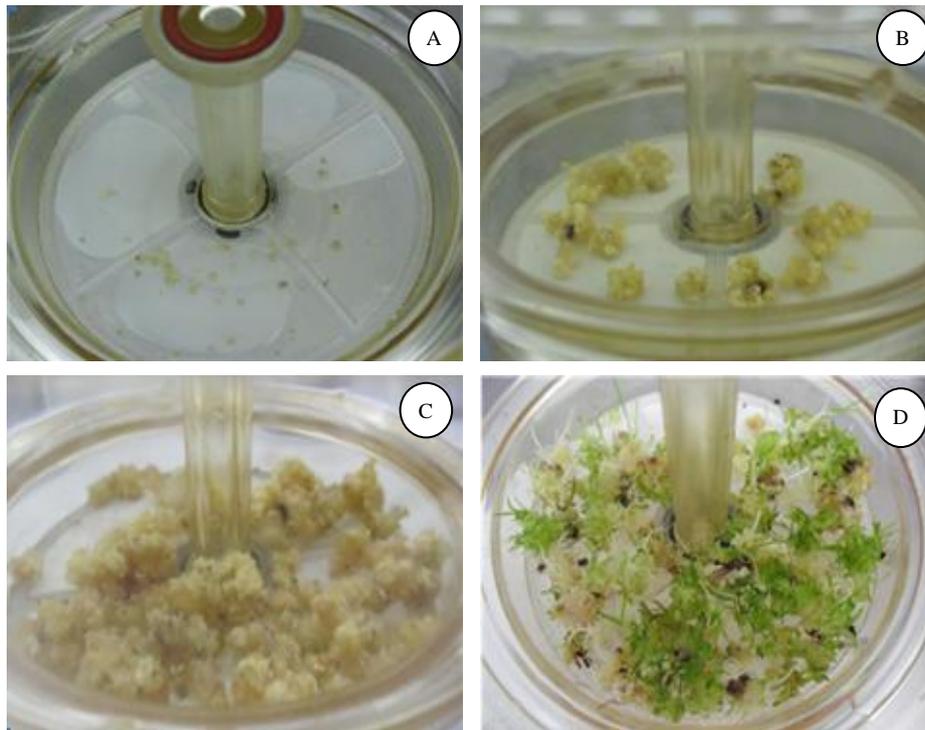
fase globular mengikuti serangkaian proses yang muncul secara simultan (Kackar & Shekhawat, 2007; Deo *et al.*, 2010). Pembentukan dan perkembangan embrio somatik pada kopi (*C. arabica*) telah berhasil dilakukan melalui kultur SPS (Gatica-Arias *et al.*, 2008).

Hasil pengamatan kultur SPS pada tahap regenerasi tunas varietas PSJT 941, menunjukkan bahwa perlakuan I24D1 dan I24D3 memberikan hasil bobot segar tunas rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya termasuk kontrol (kultur padat) yang mencapai 6 g/bejana (Gambar 4A). Sedangkan untuk parameter jumlah tunas tertinggi dicapai pada perlakuan I24D1 yang menghasilkan tunas sebanyak 230 buah/bejana (Gambar 4B). Bobot segar dan jumlah tunas yang diperoleh pada perlakuan interval perendaman selama 24 jam jauh lebih tinggi dibanding perlakuan interval perendaman 12 jam dan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa interval perendaman setiap 24 jam merupakan perlakuan yang paling optimal untuk klon PSJT 941 sehingga memberikan hasil paling baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Dengan kombinasi durasi perendaman selama satu menit dapat meningkatkan hasil dibandingkan dengan durasi perendaman selama tiga menit.

Varietas PS 881 memberikan hasil yang agak berbeda dengan varietas PSJT 941. Jumlah biomassa tertinggi dicapai oleh perlakuan I12D3 dan I24D1 yang menghasilkan bobot segar sebanyak 8 g/bejana, kemudian diikuti oleh perlakuan I12D1 yang menghasilkan bobot segar sebanyak 7 g/bejana (Gambar 5A). Bobot segar terendah diperoleh pada kontrol (media padat) yaitu sebesar 3 g/bejana. Pada parameter jumlah tunas, perolehan hasil pada masing-

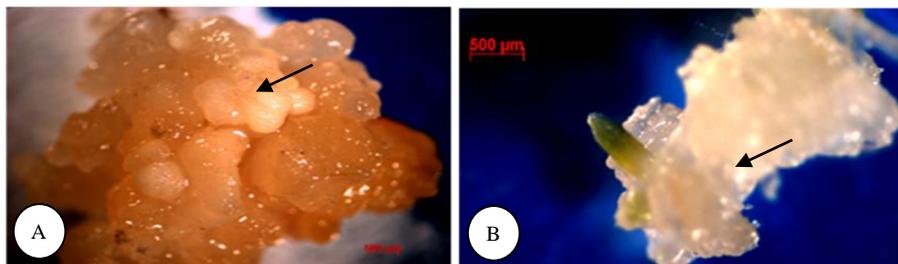
masing perlakuan berbeda dengan hasil yang diperoleh pada parameter bobot segar. Jumlah tunas tertinggi dicapai oleh perlakuan I24D1 yang mencapai sebanyak 900 tunas/bejana, diikuti oleh perlakuan I24D3 yaitu sebesar 200 tunas/bejana. Sedangkan jumlah tunas pada tiga perlakuan lainnya kurang dari 60 tunas/bejana (Gambar 5B). Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan I24D1 merupakan perlakuan terbaik dalam menghasilkan biomassa tebu varietas PS 881 yang dalam hal ini hampir sama dengan varietas PSJT 941.

Biomassa kalus pada perlakuan I12D3 hampir sama dengan I12D1 namun jumlah tunas sangat berbeda (Gambar 5B). Hal tersebut menunjukkan perlunya optimasi kondisi kultur SPS untuk masing-masing varietas atau klon tanaman yang digunakan. Fenomena yang sama diungkapkan pula oleh Mordocco *et al.* (2009) untuk sistem perendaman sesaat (RITA[®]) yang dikembangkannya pada beberapa varietas tebu. Tinggi tunas rata-rata tebu varietas PS 881 dan PSJT 941 sangat berbeda dengan hasil pengamatan pada parameter lainnya. Pada varietas PS 881, tinggi tunas tertinggi (4,5 cm) dicapai pada kontrol (media padat), kemudian diikuti oleh perlakuan I24D1 yang mencapai 3 cm (Gambar 6). Hasil ini mirip dengan varietas PSJT 941 yang menghasilkan tunas tertinggi sebesar 5 cm pada kontrol (media padat), diikuti oleh perlakuan I24D1 yang mencapai 3 cm (Gambar 7). Tingginya perolehan parameter tinggi tunas pada perlakuan kontrol (media padat) disebabkan oleh proses pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan pada kultur SPS. Hal ini menyebabkan proses proliferasi biomassa lebih rendah dibandingkan dengan kultur SPS.



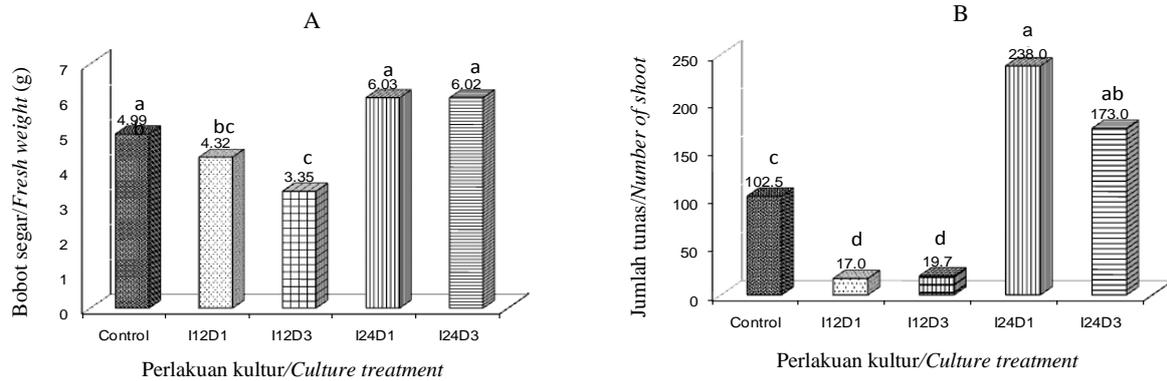
Gambar 2. Proliferasi dan regenerasi kalus tebu varietas PSJT 941 pada kultur SPS. A). Kultur kalus awal dengan 0,05 g/bejana, B). Proliferasi kalus setelah enam minggu, C). Proliferasi kalus embriogenik dan perkembangannya setelah 12 minggu dalam kultur SPS, D). Regenerasi planlet setelah 18 minggu sejak kultur pertama.

Figure 2. Callus proliferation and regeneration of sugarcane variety PSJT 941 in TIS culture. A) Initiation of callus culture with 0.05 g calli, B) Callus proliferation after six-weeks, C) Callus proliferation and regeneration after 12 weeks, D) Plantlets regeneration after 18 weeks since the first culture.



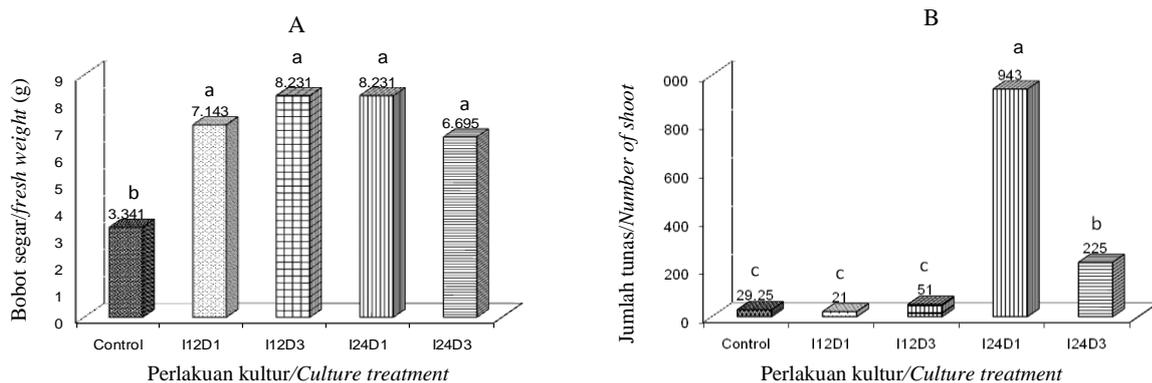
Gambar 3. Pengamatan mikroskopis embrio somatik tebu asal kultur SPS: A). Agregat kalus yang telah menghasilkan struktur mirip embrio somatik, B). Proses munculnya kecambah atau perkecambahan dari kalus embriogenik. Keterangan: tanda panah menunjukkan struktur agregat mirip embrio somatik; B) tanda panah menunjukkan kecambah awal.

Figure 3. Microscopic observations of somatic embryos derived from TIS culture: A). Callus aggregates which produce somatic embryo-like structure, B). Initiation process of somatic embryo regeneration. Note A) Arrows: somatic embryo aggregates; B) Arrows: young shoot.



Gambar 4. A). Biomassa tebu varietas PSJT 941 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi. B). Pertumbuhan tunas tebu varietas PSJT 941 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi. Angka di atas bar yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan ($P < 0,05$).

Figure 4. A). Biomass of sugarcane variety PSJT 941 at five treatments after six-weeks in MS regeneration medium. B). Number of sugarcane shoot variety PSJT 941 at five treatments after six-weeks in MS regeneration medium. Numbers above bars followed by similar letter(s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($P < 0.05$).

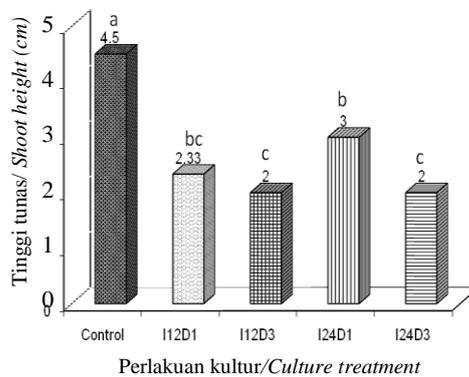


Gambar 5. A). Biomassa tebu varietas PS 881 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi tahap 2. B). Pertumbuhan tunas tebu varietas PS 881 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi tahap 2. Angka di atas bar yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan ($P < 0,05$).

Figure 5. A). Biomass of sugarcane variety PS 881 at five treatments after six-weeks in MS regeneration medium stage 2. B). Number of sugarcane shoot variety PS 881 at five treatments after six-weeks in MS regeneration medium stage 2. Numbers above bars followed by similar letter(s) are not significantly different according to numbers Duncan Multiple Range Test ($P < 0.05$).

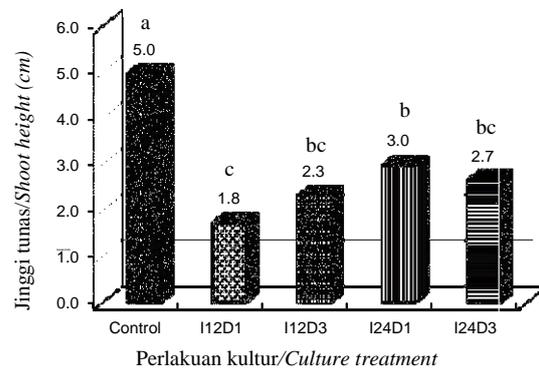
Dalam masa kultur yang sama kultur media padat lebih cepat menghasilkan planlet namun jumlahnya lebih rendah dibandingkan dengan kultur SPS (Gambar 8b dan 8d). Sebaliknya, kultur SPS akan menghasilkan biomassa total dan planlet yang lebih banyak meskipun tingkat pendewasaannya lebih lambat dibandingkan dengan kultur media padat (Gambar 8a dan 8c). Kelebihan kultur SPS adalah tingkat proliferasi biomassa yang jauh lebih tinggi dalam masa kultur yang sama dengan kultur pada media padat, sehingga

hasil akhir jauh lebih banyak dibandingkan dengan kultur media padat sebagaimana ditunjukkan pada tanaman sagu (Riyadi & Sumaryono, 2009). Di samping itu, pada SPS frekuensi kontak antara eksplan dengan media kultur sangat singkat (1×2 atau 3×2 menit per 24 jam) dibandingkan dengan pada media padat yang mengalami kontak secara kontinyu. Hal tersebut dapat menurunkan potensi mutasi genetik tanaman hasil kultur SPS dibandingkan dengan media padat (Sumaryono *et al.*, 2007).



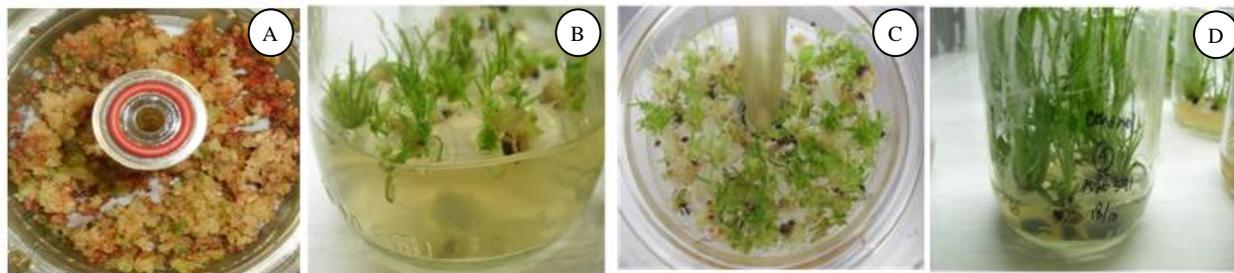
Gambar 6. Tinggi tunas tebu varietas PS 881 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi tahap 2. Angka di atas bar yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan ($P < 0,05$).

Figure 6. Height of sugarcane shoot variety PS 881 at five treatments after six-weeks in MS regenerating medium stage 2. Numbers above bars followed by similar letter(s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($P < 0,05$).



Gambar 7. Tinggi tunas tebu varietas PSJT 941 pada lima perlakuan kultur selama enam minggu dalam media MS regenerasi. Angka di atas bar yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan ($P < 0,05$).

Figure 7. Height of sugarcane shoot variety PSJT 941 at five treatments after six-weeks in MS regenerating medium stage 2. Numbers above bars followed by similar letter(s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($P < 0,05$).



Gambar 8. Pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* tebu dalam media MS setelah enam minggu pada media MS padat dan SPS. A). Pertumbuhan kalus embriogenik dan tunas varietas PS 881 pada media cair SPS, B). Pertumbuhan tunas PS 881 pada kultur media padat, C). Perkembangan tunas varietas PSJT 941 pada media cair SPS, dan D). Perkembangan tunas varietas PSJT 941 pada media padat.

Figure 8. Growth and regeneration of sugarcane *in vitro* culture after six weeks in solid and TIS liquid MS media. A). Growth of embryogenic calli and shoots in TIS liquid culture medium of variety PS 881, B). Shoot regeneration of PS 881 in solid medium, C). Regeneration of shoots of PSJT 941 variety in TIS liquid culture medium and D). Regeneration of PSJT 941 plantlets in solid medium.

Kesimpulan

Pertumbuhan biomassa kalus embriogenik pada kultur SPS meningkat 2-4 kali lipat dibandingkan dengan kultur media padat. Kultur SPS menghasilkan tunas dan planlet yang lebih seragam dibandingkan dengan media padat, sebaliknya regenerasi dan produksi tunas lebih cepat terjadi pada media padat.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksana atas dana dari DIPAPBN berdasarkan Kontrak Pengadaan Jasa Konsultansi Penelitian Pemuliaan Tanaman Perkebunan antara Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan dengan PT. Riset Perkebunan Nusantara Tahun 2010 (No.01/JK-Bun/2010).

Daftar Pustaka

- Amalraj VA & N Balasundaram (2006). On the Taxonomy of the members of "Saccharum Complex". *Genet Resour Crop Evol* 53(1), 35-41.
- Cha-um S, NT Hien & C Kirdmanee. (2006). Disease free production of sugarcane varieties (*Saccharum officinarum* L.) using in vitro meristem culture. *Biotechnol* 5(4), 443-448.
- Deo PC, AP Tyagi, M Taylor, R Harding & D Becker (2010). Factors affecting somatic embryogenesis and transformation in modern plant breeding. *The South Pacific J Nat & Appl Sci* 28, 27-40.
- Desai NS, P Suprasanna & VA Bapat (2004). Simple and reproducible protocol for direct somatic embryogenesis from cultured immature inflorescence segments of sugarcane (*Saccharum* spp.). *Curr Sci* 87(6), 764-768.
- Eudes F, S Acharya, LB Selinger & KJA Cheng (2003). A novel method to induce direct somatic embryo-genesis, secondary embryogenesis and regeneration of fertile green cereal plants. *Plant Cell Tiss Org Cult* 73, 147-157.
- Gatica-Arias AM, G Arrieta-Espinoza & AME Esquivel (2008). Plant regeneration via indirect somatic embryogenesis and optimisation of genetic transformation in *Coffea arabica* L. cvs. Caturra and Catuaí. *Electronic J of Biotech* 11(1), 1-12.
- Geijskes RJ, LF Wang, P Lakshmanan, MG McKeon, N Berding, RS Swain, AR Elliot, CPL Grof, J Jackson & GR Smith (2003). Smartsett™ seedlings: Tissue culture seed plants for the Australian sugar industry. *Sugarcane Int* May/ June, 13-17.
- Gill NK, R Gill & SS Gosal (2004). Factors enhancing somatic embryogenesis and plant regeneration in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Indian J Biotechnol* 3, 119-123.
- Hvoslef-Eide AK, C Munster, PH Heyerdahl, RL Yngved & OAS Olsen (2003). Liquid culture system for plant propagation. *Acta Hort* 625, 173-185.
- Kackar A & NS Shekhawat (2007). Plant regeneration through somatic embryogenesis and polyamine levels in cultures of grasses of Thar Dessert. *J Cell and Mol Biol* 6 (2), 121-127.
- Kasi PD & Sumaryono (2007). Morphological changes during the development of somatic embryos of sago (*Metroxylon sagu* Rottb.). *Indonesian J Agric Sci* 8(2), 43-47.
- Khan IA & A Khatri (2006). Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: Histological studies. *Pak J Bot* 38(3), 631-636.
- Lakshmanan P, RJ Geijskes, KS Aitken, CPL Grof, GD Bonnett & GR Smith (2005). Sugarcane biotechnology: The challenges and opportunities. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 41(4), 345-363.
- Mariska I & R Suci (2011). Pengadaan bibit tebu melalui kultur jaringan. *J Litbang Pertanian Edisi 6 – 12 Juli 2011. No,3413 Tahun XLI*.
- Michael PS (2007). Micropropagation of elite sugarcane planting materials from callus culture in vitro. In: *Proceedings of the Royal Society of New South Wales*. Vol. 140, p. 79-86.
- Mordocco AM, JA Brumbley & P Lakshmanan (2009). Development of a temporary immersion system (RITA®) for mass production of sugarcane (*Saccharum* spp.) interspecific hybrids. *In Vitro Cell & Develop Biol* 45 (4), 450-457.
- Murashige T & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15, 473-497.
- Nickell LG (1964). Tissue and cell cultures of sugarcane: another research tool. *Hawaii Plant Rec* 57, 223-229.
- Riyadi I & Sumaryono (2009). Pengaruh interval dan lama perendaman terhadap pertumbuhan dan pendewasaan embrio somatik tanaman sago (*Metroxylon sagu* Rottb.) *Menara Perkebunan* 77 (2), 100-109.
- Rose RJ & KE Nolan (2006). Genetic regulation of somatic embryogenesis with particular references to *Arabidopsis thaliana* and *Medicago truncatula*. *In vitro Cell Dev Biol Plant* 42, 473-481.
- Slater A, NW Scott & MR Fowler (2003). *Plant Biotechnology*. England, Oxford University Press.
- Sugiyarta E & S Winarsih (2009). Rapid propagation of sugarcane planting materials by using stratified Rayungan method. *Sugar Tech* 11(1), 22-17.
- Sumaryono, I Riyadi, PD Kasi & G Ginting (2007). Pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik dan embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Menara Perkebunan* 75 (1), 32-42.