



*"Sesungguhnya di balik
kesulitan itu ada
kemudahan"*
(Q.S. Alam Nasyrh:5)

Persembahan untuk Mama terkasih Sebagai kenangan kepada Almarhum Papa Arifin Ali, yang semasa hidupnya selalu mendorong penulis untuk mencintai ilmu pengetahuan.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

6/1510/1992/028

**PENINGKATAN TOLERANSI KALUS TEBU
(*Saccharum officinarum* L) TERHADAP
HERBISIDA GLIFOSAT DENGAN RADIASI SINAR GAMMA**

POPPY FIRZANI ARIFIN



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
1992**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University

Bogor Indonesia

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



RINGKASAN

POPPY FIRZANI ARIFIN. Peningkatan Toleransi Kalus Tebu (*Saccharum officinarum* L.) terhadap Herbisida Glifosat dengan Pemberian Radiasi. (Di bawah bimbingan DIAH RATNA-DEWI LUKMAN dan HENDRATNO)

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perubahan yang terjadi dalam proses pertumbuhan dan perkembangan kalus tebu yang diradiasi khususnya dalam hubungannya dengan peningkatan ketahanannya terhadap herbisida glifosat. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengamati daya regenerasi pada kalus yang mendapat perlakuan tersebut.

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari awal bulan Januari sampai bulan Agustus 1991, di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi, FMIPA, IPB. Perlakuan radiasi dilaksanakan di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR) BATAN, Jakarta.

Tahap-tahap penelitian yang dilakukan meliputi (1) pembuatan medium (2) pembuatan stok kalus (3) perlakuan radiasi (4) pemindahan kalus hasil radiasi ke dalam medium adaptasi (5) uji herbisida (6) uji regenerasi.

Medium yang digunakan adalah medium Murashige dan Skoog yang dimodifikasi dengan zat pengatur tumbuh 2.4-D dan kinetin. Dosis radiasi yang diberikan adalah 0, 20, 30, 40 dan 50 Gy masing-masing dosis terdiri dari 7 ulangan. Konsentrasi herbisida yang digunakan adalah 40, 50 dan 60 ppm glifosat.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hasil pengamatan pada minggu ke-3 setelah radiasi menunjukkan bahwa kalus dapat hidup pada setiap dosis radiasi. Namun secara visual dapat terlihat perbedaan penampakan dan tingkat proliferasi. Kalus yang diradiasi dengan dosis 20, 30 dan 40 Gy tingkat proliferasinya lebih baik jika dibandingkan dengan tingkat proliferasi kalus yang diberi dosis 50 Gy demikian juga dengan penampakannya dan kemampuan hidup kalus. Efek yang cukup baik dihasilkan oleh kalus yang mendapat perlakuan 20 Gy dan 30 Gy.

Pada uji herbisida hasil pengamatan secara umum menunjukkan bahwa kalus yang diradiasi masih dapat bertoleransi pada konsentrasi herbisida yang diberikan.

Pada kalus yang tidak mendapat perlakuan radiasi dan ditumbuhkan dalam medium yang mengandung herbisida terlihat bahwa kalus mempunyai penampakan tidak segar dan lembik. Tingkat proliferasi kurang, persentase kalus yang hidup makin kecil dengan makin tingginya konsentrasi herbisida.

Pada kalus yang mendapat radiasi dengan dosis rendah (20, 30 Gy) terlihat bahwa kalus dapat berproliferasi dengan baik pada semua konsentrasi herbisida. Sedangkan pada kalus yang mendapat radiasi dosis tinggi (40, 50 Gy) tingkat proliferasi cenderung makin menurun.

Hipotesis yang dapat menjelaskan adanya peningkatan kemampuan tumbuh pada kalus yang diradiasi adalah karena

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



terjadinya peningkatan kemampuan sel untuk mengadakan metabolisme untuk melawan penghambatan pertumbuhan yang dilakukan oleh glifosat.

Dalam uji regenerasi, kalus yang dipindahkan ke medium regenerasi tidak mampu membentuk akar dan tunas. Kalus hanya mampu membentuk akar dan hal itu terjadi pada kalus yang berasal dari perlakuan 20 Gy dan ditumbuhkan dalam medium yang mengandung herbisida 40 ppm serta 50 ppm.

Kecilnya kemampuan kalus untuk beregenerasi dapat disebabkan karena kalus telah kehilangan daya regenerasi setelah dilakukan sub kultur berulang-ulang dan dipelihara dalam waktu yang cukup lama. Namun secara umum dapat dikatakan bahwa terdapat peningkatan toleransi sel tanaman tebu terhadap herbisida glifosat dengan pemberian radiasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



**PENINGKATAN TOLERANSI KALUS TEBU
(*Saccharum officinarum* L.) TERHADAP
HERBISIDA GLIFOSAT DENGAN PEMBERIAN RADIASI**

Oleh

POPPY FIRZANI ARIFIN

G22. 1165

Karya Ilmiah

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Biologi**

Pada

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor**

JURUSAN BIOLOGI

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

1992

Judul Penelitian : PENINGKATAN TOLERANSI KALUS TEBU
(*Saccharum officinarum* L.) TERHADAP
HERBISIDA GLIFOSAT DENGAN PEMBERIAN
RADIASI

Nama Mahasiswa : POPPY FIRZANI ARIFIN

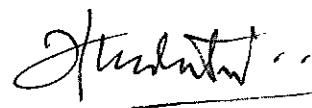
Nomor Pokok : G22. 1165

Menyetujui:



(Dr. Ir. Diah Ratnadewi Lukman)

Dosen Pembimbing I

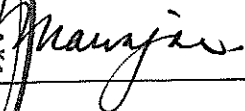


(Hendratno, MSc)

Dosen Pembimbing II



Mengetahui



(Ikin Mansjoer, MSc)

Ketua Jurusan Biologi

Tanggal Lulus : 13 JAN 1997



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah SWT atas segala rahmat-Nya sehingga penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini dapat diselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menghaturkan rasa terima kasih yang dalam kepada Yth. Ibu Dr. Ir. Diah Ratnadewi Lukman dan Bapak Hendratno, MSc atas kesediaannya untuk membimbing, memberi saran maupun nasihat selama penelitian hingga penyusunan karya ilmiah ini selesai, serta kepada Ibu Ir. Warti Sumarsini, MS selaku dosen penguji.

Demikian pula ucapan terima kasih penulis tujukan kepada Bapak Kepala Lab. Fisiologi Tumbuhan FMIPA IPB atas kesempatan dan fasilitas yang telah diberikan selama penulis melakukan penelitian. Selain itu ucapan terima kasih ditujukan juga kepada seluruh staf laboratorium tersebut terutama kepada Ibu Anis dan Mbak Glenny, rekan sepenelitian Diah dan Upi, serta rekan tersayang Brigita Jansen yang telah banyak membantu penelitian penulis. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada para sahabat: Emie Anwar, Laskita, Evie yang pernah ada dalam kejatuhan penulis.

Akhirnya karya tulis ini penulis persembahkan untuk Mama terkasih yang senantiasa berdoa dan memberikan segala yang terbaik demi keberhasilan penulis, serta



kepada Tante Prof. Dr. Aisyah Girindra yang telah banyak membantu penulis dalam mewujudkan cita-cita.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Namun dalam keterbatasannya diharapkan karya ilmiah ini dapat memberikan informasi bagi yang membutuhkan. Untuk pribadi penulis berharap agar karya ini dapat menjadi sebuah kebangkitan dari kejatuhan penulis sebelumnya serta suatu awal bagi langkah berikutnya.

Bogor, Januari 1992

Poppy Firzani Arifin

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
Tanaman Tebu	4
Kultur <i>In Vitro</i>	7
Kultur Jaringan Tebu	9
Herbisida Glifosat	11
Radiasi dan Interaksinya dengan Sistem Biologi	13
Toleransi Terhadap Herbisida	16
BAHAN DAN METODE	18
Rancangan Percobaan	18
Pelaksanaan Penelitian	18
Pembuatan Medium	19
Pembuatan Stok Kalus	21
Perlakuan Radiasi	21
Pemindahan ke Medium Adaptasi	22
Uji Herbisida	22
Pemindahan ke Medium Regenerasi	22
Pengamatan	22
HASIL DAN PEMBAHASAN	24
KESIMPULAN	35
SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	40



DAFTAR TABEL

Nomor	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Keadaan Kalus dalam Medium Adaptasi Setelah 3 Minggu	24
2.	Penampakan Kalus yang Diradiasi Setelah 3 Minggu Mendapat Perlakuan Herbisida	27
3.	Regenerasi Kalus Menjadi Akar pada Umur 4 Minggu Setelah Dipindahkan ke Medium Regenerasi	33

Nomor	Halaman
-------	---------

LAMPIRAN

1.	Komposisi Medium Murashige-Skoog (MS) Pada Proliferasi, Uji Herbisida dan Regenerasi	40
----	--	----

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Morfologi Varietas Tebu BZ-148	6
2.	Penampakan Kalus Setelah 3 Minggu Diradiasi	25
3.	Perbedaan Antara Kalus yang Tidak Diradiasi (0 Gy) dengan yang Diradiasi (20 Gy) pada Medium yang mengandung 60 ppm Herbisida	28
4.	Pengaruh Pemberian Radiasi dan Konsentrasi Herbisida terhadap Persentase Kalus yang Hidup	29
5.	Lintasan Asam Shikimat	31
6.	Kalus yang Mampu Membentuk Akar yang Berasal dari Perlakuan 20 Gy/40 ppm pada Umum 4 Minggu	33

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum L*) merupakan salah satu tanaman perkebunan yang mempunyai nilai penting karena sebagian besar produksi gula dihasilkan oleh tebu.

Sejalan dengan kenaikan kebutuhan konsumsi gula maka diperlukan peningkatan produksi gula. Peningkatan itu dilakukan dengan cara intensifikasi dan ekstensifikasi. Intensifikasi mencakup penggunaan varietas-varietas unggul yang diperoleh dari hasil pemuliaan serta penyempurnaan teknik budidaya. Sedangkan ekstensifikasi dapat dilakukan dengan memperluas areal perkebunan.

Untuk melaksanakan program ekstensifikasi, pembukaan perkebunan baru banyak dilakukan terutama di luar Jawa. Perkebunan ini diusahakan dengan menggunakan lahan kering dimana pemenuhan air untuk tanaman tergantung seluruhnya pada curah hujan. Namun, salah satu masalah yang dihadapi dalam budidaya tebu di lahan kering adalah pertumbuhan gulma dalam populasi tinggi serta timbulnya spesies gulma baru akhir-akhir ini yang menyulitkan dalam pengendalian di lapang. (Kuntohartono, 1987).

Penerapan teknologi herbisida merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah. Herbisida dapat mengendalikan spesies gulma yang sukar disiangi, memperbaiki mutu pemeliharaan tanaman dan meningkatkan efisiensi

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

produksi. Walaupun demikian, penerapan teknologi ini tidak terlepas dari kendala; pemakaian herbisida dapat menimbulkan keracunan pada tanaman.

Dengan pertimbangan efektifitas dan ekonomi, salah satu jenis herbisida yang banyak dipakai adalah Glifosat. Herbisida ini mempunyai spektrum kerja yang luas, tidak selektif terhadap tanaman, tidak bersifat toksik terhadap hewan dan cepat terdegradasi oleh mikroorganisme tanah (Franz, 1985). Namun, di sisi lain herbisida ini dapat mengakibatkan tanaman peka, termasuk tebu, mengalami klorosis, pemendekan jarak mata tunas, penghambatan pertumbuhan tunas apikal bahkan dapat mengakibatkan kematian (Nomura, 1986). Untuk itu diperlukan peningkatan toleransi tanaman terhadap herbisida ini.

Penggunaan metode kultur *in vitro* dalam pemuliaan tanaman dapat menghasilkan varietas baru dengan perbaikan atas kelemahan-kelemahan varietas sebelumnya dalam usaha mencapai produksi yang maksimum. Kultur *in vitro* banyak digunakan untuk mencari sifat yang diinginkan termasuk sifat toleran terhadap herbisida (Hughes, 1986). Metode ini dapat digunakan untuk meningkatkan sumber keragaman genetik dan untuk mempelajari mekanisme kerja herbisida di dalam sel.

Salah satu cara perbaikan genetik adalah dengan iradiasi pada kultur jaringan yang digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik sebagai akibat terjadinya



mutasi pada sel. Ekspresi dari keragaman dapat dilihat misalnya pada berbagai sifat morfologi tanaman, sifat resistensi terhadap hama dan penyakit, atau toleransi terhadap keadaan stres. Dari sumber keragaman tersebut dapat dilakukan seleksi sesuai dengan tujuan pemuliaan yang ingin dicapai.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perubahan-perubahan yang terjadi dalam proses pertumbuhan dan perkembangan kalus tebu yang diradiasi dalam hubungannya dengan peningkatan ketahanan terhadap pemberian herbisida glifosat. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan mengamati daya regenerasi pada kalus yang mendapat perlakuan tersebut.

Hipotesis

Radiasi pada dosis tertentu dapat meningkatkan toleransi kalus tebu terhadap herbisida glifosat tanpa mengganggu daya regenerasinya.



TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Tebu

Tanaman tebu berasal dari Papua Nugini dan kemudian menyebar ke Kaledonia Baru, kira-kira pada tahun 8000 SM. Penyebarannya kemudian berlanjut ke arah Barat, ke Indonesia dan Filipina pada tahun 6000 SM (Archswager, 1940).

Barnes (1974) mengklasifikasikan tanaman tebu sebagai berikut :

Divisio	:	Glumiforae
Sub Divisio	:	Angiospermae
Klas	:	Monocotyledonae
Ordo	:	Graminales
Famili	:	Graminae
Sub Famili	:	Panicoideae
Tribe	:	Andropogoneae
Sub Tribe	:	Saccharine
Genus	:	<i>Saccharum</i>
Spesies	:	<i>Saccharum officinarum</i> L.

Tanaman ini tumbuh paling baik di dataran rendah dengan ketinggian sampai 500 m di atas permukaan laut dengan musim kemarau dan musim hujan yang silih berganti. Daerah iklim yang sesuai adalah daerah yang mempunyai curah hujan tahunan 1500 sampai 3000 mm dan yang mempunyai jumlah bulan kering antara 2 sampai 4 bulan (Mulyana, 1983).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

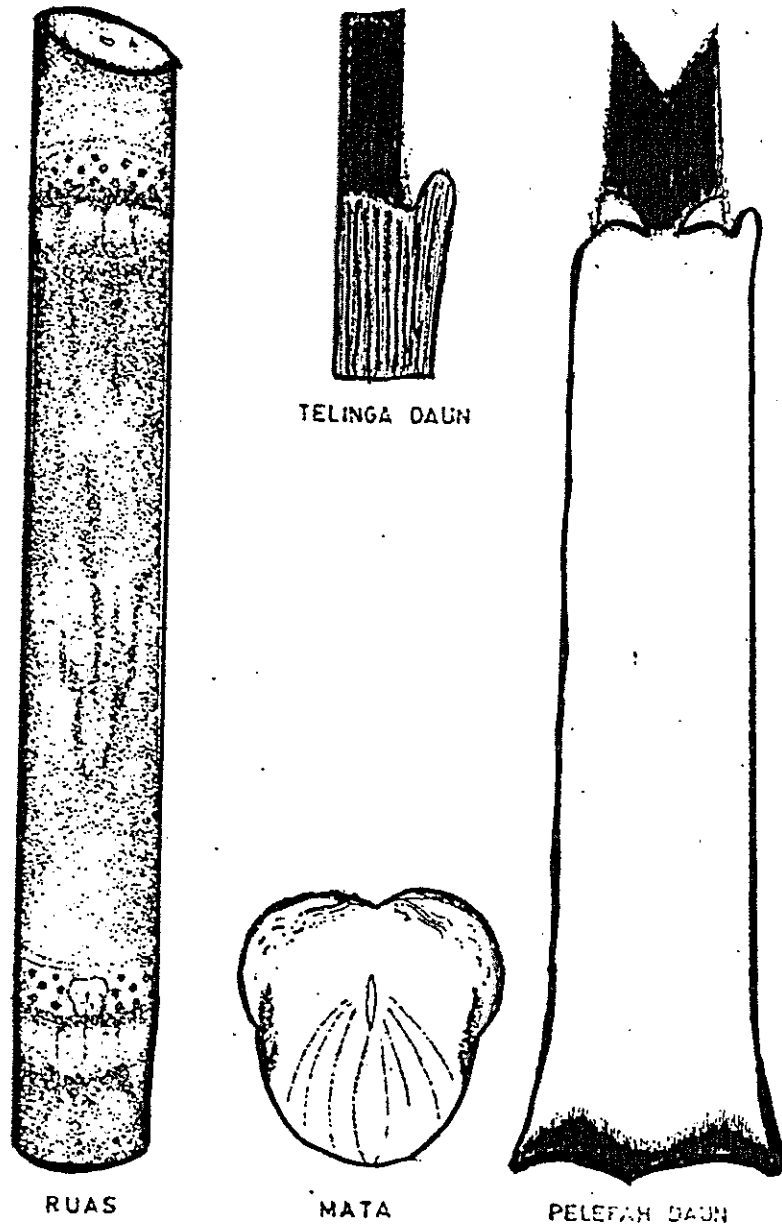
Untuk lahan kering, salah satu varietas yang banyak dipakai adalah varietas BZ-148. Varietas ini merupakan varietas introduksi dari Mauritius dan Taiwan yang mempunyai daun berwarna hijau kekuningan dengan ukuran lebar daun sedang dan tajuk daun hampir tegak. Pada punggung pelepah daun tidak terdapat bulu, walaupun ada sangat jarang. Kedudukan telinga daun tegak.

Batang tanaman varietas ini terdiri atas ruas-ruas yang tersusun lurus berbentuk silindris dengan penampang melintang bulat berwarna hijau kekuningan dengan lapisan lilin tipis. Mata tunas berbentuk bulat dengan sayap mata berpangkas di tengah-tengah mata (lihat Gambar 1).

Keunggulan dari varietas BZ-148 adalah mampu beradaptasi pada berbagai tipe iklim, tanah dan lahan. Tahan terhadap hama penggerek pucuk dan batang serta tahan terhadap penyakit mosaik, pokahbung dan blendok.

Sifat agronomis varietas ini adalah perkecambahan agak lambat pertumbuhan normal kemudian memanjang cepat dan tidak berbunga (Sastrowijono, 1982).





Gambar 1. Morfologi Varietas Tebu BZ - 148

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Kultur In Vitro

Kultur *in vitro* adalah suatu teknik untuk menumbuhkan bagian-bagian tanaman, baik berupa sel tunggal, jaringan maupun organ tumbuhan dalam medium sintetik dengan lingkungan aseptik yang terkendali.

Pada prinsipnya teknik ini merupakan aplikasi dari teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann. Dalam teori tersebut dikemukakan bahwa sel memiliki sifat totipoten yaitu sel berkemampuan untuk tumbuh melengkapi diri menjadi tumbuhan sempurna, jika ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan (Gautheret, 1982).

Haberlandt pada tahun 1898 adalah orang pertama yang berusaha menumbuhkan sel-sel tanaman *Tradescantia* pada medium kultur buatan dan ternyata sel dapat hidup selama 22 hari. Pada tahun 1934 White berhasil melaksanakan kultur organ akar tumbuhan tomat. Pada tahun yang sama Gautheret berhasil melaksanakan kultur akar *Daucus carota* sesudah menambahkan glukosa, vitamin B dan IAA.

Dalam perkembangannya kultur *in vitro* mempunyai kegunaan besar di bidang pertanian. Salah satu di antaranya adalah kegunaan dalam memperbaiki sifat genetik antara lain dalam rangka pengembangan varietas yang toleran terhadap keadaan sub optimum.

Keberhasilan kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh medium, kondisi lingkungan dan bahan tanaman. Komposisi



medium untuk setiap jenis tanaman tidak sama bergantung pada kebutuhan nutrisi masing-masing spesies dan kultivar yang dikulturkan.

Medium kultur *in vitro* memerlukan unsur anorganik makro seperti C, H, O, N, S, P, K, Ca dan Mg dalam tingkatan konsentrasi milimol/liter, unsur mikro dihitung dengan tingkatan mikromol/liter. Selain itu medium kultur *in vitro* juga membutuhkan vitamin seperti tiamin, asam nikotinat, dan piridoksin (Gamborg dan Shyluk, 1981).

Sitokinin dan auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang sangat diperlukan. Sitokinin dapat menginduksi pembentukan tunas pada spesies tanaman yang mempunyai kemampuan organogenesis. Auksin berperan dalam pembesaran sel dan diferensiasi akar. Zat pengatur tumbuh alami dari dua golongan ini adalah IAA (*Indol Acetic Acid*) dan zeatin. Golongan auksin sintetik yang sering digunakan meliputi IBA (*Indol Butyric Acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan 2,4-D (*2,4-Dichloro Phenoxyacetic Acid*), golongan sitokinin yang sering digunakan adalah BAP (*Benzyl Amino Purin*), (Gamborg dan Shyluk, 1981).

Asam giberelat merupakan zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Jenis yang biasa digunakan adalah GA₃, namun senyawa ini peka terhadap panas. Asam giberelat dapat menginduksi pemanjangan meristem atau tunas dan juga dapat mematahkan dormansi pada biji (Pierik, 1982). Medium padat (dengan penam-

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



bahan agar) atau cair juga mempengaruhi kultur. Konsentrasi agar yang umum dipakai adalah 0.6 sampai 1.0 %. Selain itu pH medium perlu dijaga pada tingkat optimum 5,5 - 5,8 (Gamborg dan Shyluk, 1981).

Penambahan arang aktif kadang-kadang dilakukan dengan tujuan antara lain untuk menyerap senyawa fenol, menstabilkan pH, memacu embriogenesis somatik dan memacu pertumbuhan akar. Untuk mendorong pertumbuhan kalus sering ditambahkan glisin, arginin atau campuran asam amino yang terkandung dalam kasein hidrolisat, ekstrak malt atau ekstrak ragi. Demikian pula halnya dengan penambahan air kelapa, karena diketahui air kelapa mengandung vitamin A, B, C, mineral antara lain kalsium, fosfor, lemak, hidrat arang, natrium klorida dan protein (Pierik, 1982).

Banyak lagi faktor yang mempengaruhi keberhasilan suatu kultur *in vitro* antara lain adalah cara sterilisasi eksplan, ukuran eksplan, sumber eksplan, umur fisiologis daun ontogeni, musim saat pengambilan eksplan bentuk medium tumbuh, kualitas tanaman sumber dan kondisi lingkungan (Murashige, 1974)

Kultur Jaringan Tebu

Penelitian tentang kultur *in vitro* tanaman tebu dimulai di Hawaii pada tahun 1961 oleh Nickell yang bertujuan untuk mempelajari aspek fisiologis dari jaringan parenkim yang matang dari klon tebu H 50 7209 yang disé-



leksi untuk menghasilkan kalus. Heinz kemudian melanjutkankannya dengan serangkaian penelitian yang bertujuan untuk mempelajari variabilitas genetik yang terjadi pada kultur sel dan tanaman hasil regenerasinya. Selain itu juga diamati organogenesis dan embriogenesis somatik yang terjadi (Heinz, 1987). Pada perkembangannya, tujuan dari penggunaan teknik ini adalah untuk mendapatkan mutan-mutan baru yang mempunyai produksi tinggi dan tahan terhadap hama penyakit serta stres lingkungan (Liu, 1981).

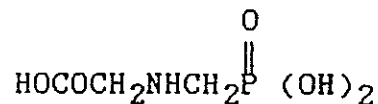
Bagian tanaman yang telah dicoba untuk dikulturkan meliputi meristem apikal tunas dan meristem akar, meristem sub apikal, daun muda yang masih menggulung, perbungaan, dan parenkim empulur. Bagian yang paling sering digunakan karena keberhasilannya yang cukup tinggi dalam inisiasi kalus, adalah gulungan daun muda yang diambil dari bagian sebelah atas apeks pucuk sepanjang 2-3 cm, sedangkan medium yang biasa digunakan adalah medium Murashige dan Skoog yang dimodifikasi dengan penambahan 2,4-D, kinetin dan air kelapa (George dan Sherrington, 1984).

Inisiasi kalus mulai terjadi pada hari yang ke 5 sampai 7 dari bagian yang terluka. Kultur disimpan dalam ruang kultur pada suhu 26-28 ° C di bawah cahaya putih fluoresen (lampu neon) dengan intensitas 3.870 lux pada siklus gelap/terang 12 jam (Liu, 1981). Di Indonesia kultur *in vitro* tebu mulai dilakukan oleh Soejoto pada tahun 1978 dengan memodifikasi medium dasar Murashige dan

Skoog untuk pertumbuhan kalus dengan tujuan untuk memperoleh tanaman unggul yang resisten terhadap penyakit *Ustilago scitaminea* dan mempunyai produksi gula lebih tinggi (Soekarso, 1986).

Herbisida Glifosat

Herbisida ini mulai dikenalkan tahun 1971 dengan nama kimia N-(Fosfometil Glisin) dan mempunyai rumus bangun sebagai berikut :



Di pasaran, mula-mula herbisida ini dikenal dengan merek dagang Round-up. Sekarang herbisida tersebut dikenal dengan nama Sun-up, Clean-up dan Eagle.

Glifosat tidak mudah menguap, stabil pada cahaya matahari sehingga tidak mengurangi efektifitasnya bila terkena radiasi ultra violet. Herbisida ini juga mudah larut dalam air; hujan yang turun setelah pemakaian, akan mencuci glifosat dari daun dan mengurangi efektifitasnya (Walker, 1987).

Glifosat merupakan herbisida berspektrum luas dan sangat efektif untuk mengendalikan gulma bertahunan yang berakar dalam seperti misalnya *Cynodon dactylon* dan juga gulma setahun dan dua tahunan baik dari golongan rumput-rumputan maupun golongan tumbuhan berdaun lebar. Dosis

yang digunakan untuk gulma bertahunan berkisar 1,68 - 2,24 kg/ha dan 0,34 - 1,12 kg/ha untuk gulma setahun (Walker, 1987).

Cara kerja glifosat adalah dengan menghambat jalur sintesis beberapa asam amino aromatik melalui lintasan asam sikimat. Glifosat menghambat kerja enzim 5-enol piruvilsikimat 3-fosfat (EPSP) sintase.

Enzim ini mengkatalis pembentukan EPSP dari Fosfoenol piruvat (PEP) dan sikimat 3 fosfat. EPSP merupakan zat antara pada jalur biosintesis asam amino aromatik seperti L-fenil alanin, L-tirosin, L-triptofan (Cole, 1985; Duke dan Hoagland, 1985 ; Chaleff, 1986). Penghambatan EPSP sintase ini dapat menyebabkan penumpukan senyawa sikimat pada vakuola sel (Hollander-Czytko dan Armhein, 1983 dalam Cole, 1985).

Enzim lain yang dipengaruhi oleh keberadaan glifosat adalah Fenilalanin Amonia Liase (PAL) yang merupakan enzim pengatur pembentukan komponen fenol melalui proses deaminasi dari asam amino fenil alanin dan tirosin (Duke dan Hoagland, 1985; Vickery dan Vickery, 1981). Salah satu akibat dari peningkatan aktivitas enzim ini adalah terdapat penumpukan senyawa fenol dari asam transinamat hasil reaksi PAL dimana senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan tanaman (Hollander dan Armhein, 1980).

Pada akhirnya efek lain dari glifosat adalah meningkatnya aktivitas enzim asam indol asetat (IAA) oksidase sehingga



tingkat penghancuran auksin dalam tanaman menjadi tinggi. Hal ini dapat mempengaruhi metabolisme auksin dalam tubuh tanaman yang pada gilirannya akan pula menghambat pertumbuhan. Proses peningkatan aktivitas IAA oksidase terjadi karena komponen fenolik yang menghambat aktivitas enzim ini terhambat pertumbuhannya oleh glifosat melalui penghambatan pembentukan asam amino aromatik. Asam amino aromatik merupakan bahan dasar komponen senyawa fenolik tersebut (Cole, 1985). Jadi ada 2 mekanisme penghambatan IAA yang disebabkan oleh keberadaan glifosat. Mekanisme pertama sintesis IAA dihambat, sedangkan mekanisme kedua adalah merusakkan IAA yang sudah ada.

Pengaruh glifosat di tingkat sel adalah terjadinya kerusakan bagian grana pada kloroplas dan penghancuran mitokondria (Hull, Bleckmann dan Morton, 1977 dalam Cole, 1985).

Radiasi dan Interaksinya dengan Sistem Biologi

Radiasi merupakan perpindahan energi yang terjadi karena proses ionisasi dan eksitasi. Radiasi terdiri dari dua macam yaitu radiasi elektromagnetik yang mempunyai energi dan radiasi partikel yang memiliki massa dan energi. Radiasi elektromagnetik meliputi sinar gamma, ultraviolet dan sinar X, sedangkan radiasi partikel mencakup elektron, neutron, proton, alfa dan beta (Djojosoebagio, 1988).

Setiap peristiwa ionisasi menyangkut pemindahan sebuah elektron dari sebuah atom kepada atom yang lain. Peristiwa ini membutuhkan energi yang cukup tinggi hingga dapat mencapai tiga puluh empat elektron volt. Sepasang atom (yang satu melepaskan dan yang lain menerima) yang mengalami ionisasi, secara fisik tidak stabil dan sangat reaktif. Efek yang ditimbulkan dari kejadian tersebut adalah pemotongan atau penyambungan menyilang pada molekul DNA. Maka mutasi gen mudah terjadi (Brewbaker, 1965).

Sinar gamma memiliki panjang gelombang yang lebih pendek daripada sinar X oleh karena itu memiliki energi foton yang lebih besar. Sinar gamma dapat menembus sampai beberapa sentimeter ke dalam jaringan. Sumber radiasi yang umum digunakan adalah ^{137}Cs atau ^{60}Co . Energi yang dipancarkan oleh ^{60}Co adalah 1,33 Mev sedangkan ^{137}Cs memancarkan sinar gamma dengan energi sebesar 0,6 Mev (Handro, 1981).

Sinar gamma dapat memperbesar keragaman genetik dan terjadinya mutasi somatik, tergantung dari dosis yang digunakan. Dosis rendah dapat memacu pertumbuhan sel sedangkan dosis tinggi mengakibatkan kematian sel (Grosch dan Hopwood, 1983).

Satuan dosis radiasi yang tepat dalam penggunaannya pada sistem biologi adalah *Radiation Absorbed Dose* (Rad) yang menggambarkan besarnya energi yang diserap oleh setiap gram bahan yang diradiasi. Satu rad setara dengan

energi sebesar 100 erg yang diserap oleh satu gram bahan. Satuan dosis radiasi yang mulai umum digunakan sejak beberapa tahun terakhir ini adalah Grey (Gy); satu Grey ialah energi radiasi sebesar 1 Joule (J) yang diserap oleh 1 kg bahan yang diradiasi, sehingga adalah $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg} = 10^4 \text{ erg/g}$. Jadi $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$ atau $10 \text{ Gy} = 1 \text{ Krad}$ (Eisenlohr, 1977).

Pemberian radiasi dapat dilakukan pada sel atau jaringan sebelum diisolasi atau bahan yang sudah berada dalam botol kultur. Bahan yang diradiasi harus segera dipindahkan ke medium segar karena dalam medium lama dapat terbentuk radikal bebas yang bersifat racun akibat radiasi tersebut. Pengaruh radiasi pengion pada kultur *in vitro* tergantung pada: (1) jenis dan dosis radiasi (2) kondisi lingkungan sebelum, selamam dan sesudah radiasi (3) tingkat pertumbuhan bahan yang diradiasi (Handro, 1981).

Pada tanaman tebu, radiasi telah dipakai dalam mencari tanaman yang resisten terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Ustilago scitaminea* (Jagathesan, 1982) pada stek yang akan ditanam. Juga untuk memperoleh varietas tebu yang resisten terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Helminthosporium sacchari* melalui kultur *in vitro* (Heinz, 1973).

Beberapa contoh lain adalah tanaman jagung yang lebih resisten terhadap penyakit *Sclerospora maydis* (Favret, 1977) dan keragaman bentuk dan warna bunga *Chrysanthemum*



sp (Broertjes dan Van Harten, 1983) yang diperoleh melalui kultur *in vitro* yang diradiasi.

Toleransi Tanaman terhadap Herbisida

Toleransi terhadap herbisida pada kultur sel terjadi dalam beberapa bentuk perubahan fisiologis Meredith dan Carlson pada tahun 1982 melaporkan tentang adanya beberapa tingkat sifat toleran sebagai berikut :

- (1) Toleransi terekspresi dalam kultur sel tetapi dapat hilang jika sel-sel ditumbuhkan dalam medium tanpa herbisida setelah beberapa kali disubkulturkan
- (2) Toleransi tetap terdapat dalam kultur sel bahkan sesudah beberapa kali disubkulturkan dalam medium tanpa herbisida
- (3) Toleransi stabil, dapat terekspresikan pada tanaman hasil regenerasi dari kultur sel tersebut.
- (4) Toleransi stabil pada tahap regenerasi dan dapat diturunkan kepada generasi berikutnya.

Kemampuan bertoleransi tergantung dari jenis perlakuan yang diberikan. Perbedaan sifat toleran terhadap herbisida diduga dikendalikan oleh suatu mekanisme genetik yang sederhana, yaitu gen-gen yang memberikan respon terhadap perlakuan kimia yang diberikan. Gen-gen yang



mengendalikan sifat toleran ini dapat terdiri dari satu gen atau lebih yang bersifat resesif maupun dominan (Chu, 1983).

Beberapa usaha lain untuk menghasilkan tanaman yang toleran terhadap herbisida adalah melakukan fusi protoplas, hibridisasi somatik terhadap sel tanaman yang tahan terhadap herbisida, transfer gen toleran atau rekombinasi DNA (Chu, 1983).

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



BAHAN DAN METODA

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari 1991 sampai dengan bulan Agustus 1991 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA IPB. Pemberian perlakuan radiasi sinar Gamma ^{60}Co dilaksanakan di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR) BATAN, Pasar Jum'at, Jakarta Selatan.

Metoda

Penelitian ini terdiri dari dua perlakuan. Perlakuan pertama adalah pemberian radiasi dengan 5 tingkat, sedangkan perlakuan kedua adalah pemberian herbisida dengan 4 tingkat konsentrasi. Masing-masing perlakuan terdiri dari 7 ulangan. Hasil pengamatan kuantitatif merupakan persentase kemampuan tumbuh kalus. Pada perlakuan herbisida, persentase kemampuan tumbuh kalus tersebut digambarkan dalam histogram dan dibandingkan dengan penelitian yang pernah dilakukan.

Pelaksanaan Penelitian

Tahap-tahap penelitian yang dilakukan meliputi (1) Pembuatan medium (2) Pembuatan stok kalus (3) Perlakuan radiasi (4) Pemindahan kalus hasil radiasi ke dalam medium adaptasi (5) Uji herbisida (6) Uji regenerasi.

1. Pembuatan Medium

Dalam penelitian ini digunakan 3 jenis medium yang mempunyai komposisi dasar yang sama yaitu medium mineral Murashige dan Skoog (1962). Perbedaan antara ke 3 jenis medium tersebut terletak pada penggunaan zat pengatur tumbuh dan penambahan beberapa komponen. Ke tiga jenis medium tersebut adalah medium proliferasi, medium uji herbisida dan medium regenerasi.

a. Medium Proliferasi

Medium ini digunakan untuk memelihara stok kalus, pada saat diradiasi dan untuk memelihara kalus yang dipindahkan setelah diradiasi. Seperti telah dijelaskan medium ini pada dasarnya adalah medium Murashige dan Skoog (MS) namun dimodifikasi dengan penambahan 6 mg/l 2,4-D; 0,1 mg/l kinetin dan 10 % air kelapa.

Untuk memudahkan pembuatan medium sebagian besar komponen medium disiapkan dalam bentuk larutan baku. Dari masing-masing larutan baku diambil sejumlah tertentu sesuai dengan komposisi MS (Tabel lampiran 1) yang dimasukkan ke dalam gelas piala. Sukrosa ditambahkan langsung ke dalam campuran.

Campuran diencerkan sampai dengan 1000 ml, pH disesuaikan pada tingkat 5,7. Setelah itu ke dalam larutan ditambahkan 7,5 g agar bakto dan dimasak sampai mendidih. Medium dituangkan ke dalam botol-



botol kultur yang telah disterilkan terlebih dahulu sebanyak sekitar 20 ml kemudian ditutup dengan kertas Aluminium. Selanjutnya botol berisi medium siap disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 120 ° C dan tekanan 15 psi selama 20 menit.

Medium Uji Herbisida

Untuk uji herbisida medium yang digunakan adalah medium MS berkomposisi sama dengan medium proliferasi yang mengandung 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm herbisida. Setelah disiapkan dalam sebuah erlenmeyer berukuran besar, medium disterilisasi. Sementara sterilisasi dilakukan, larutan glifosat disiapkan sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan. *Filter milipore* berdiameter 0,45 µm yang telah telah disterilisasi sebelumnya, digunakan untuk menyaring larutan glifosat. Cara penyaringan adalah dengan mengisap larutan glifosat ke dalam spuit jarum injeksi, kemudian dikeluarkan kembali melalui filter sampai larutan habis.

Hasil penyaringan ditampung dalam botol steril. Setelah itu larutan glifosat hasil penyaringan dicampurkan dengan medium yang berada dalam gelas Erlenmeyer. Campuran dikocok agar homogen, setelah itu dituangkan ke dalam botol-botol kultur steril, kemudian ditutup rapat kembali dengan kertas Aluminium.



c. Medium Regenerasi

Medium ini digunakan untuk memelihara kalus yang telah mengalami uji herbisida guna memacunya melakukan diferensiasi. Pada medium ini penggunaan 2,4-D ditiadakan, sedangkan kinetin ditambah konsentrasinya menjadi 1,0 mg/l. Selain itu juga ditambahkan arang aktif 10 %.

2. Pembuatan Stok Kalus

Kalus dihasilkan dari penanaman eksplan tanaman tebu BZ 148 yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya. Eksplan diambil dari gulungan daun muda. Perbanyakkan kalus dilakukan dalam medium proliferasi dengan melakukan sub kultur tiap 5 minggu sekali dari persediaan kultur kalus yang telah ada sampai mencukupi jumlah yang dibutuhkan.

3. Perlakuan Radiasi

Pemberian mutagen radiasi dilakukan ketika kalus berumur 5 minggu dengan diameter \pm 0,5 cm. Pada saat diradiasi kalus tetap berada di dalam botol. Botol- botol tersebut dimasukkan dalam *Irradiator Gamma Cell 220* (sumber ^{60}Co). Dosis yang diberikan adalah 0, 20, 30, 40, 50 Gy dengan laju dosis 451,13 Gy/Jam. Waktu radiasi yang diperlukan untuk masing-masing dosis adalah :

$$20 \text{ Gy} = 2'38''$$

$$30 \text{ Gy} = 3'58''$$

$$40 \text{ Gy} = 5'17''$$

$$50 \text{ Gy} = 6'36''$$



4. Pemindahan ke Medium Adaptasi

Perlakuan ini dimaksudkan untuk mengetahui efek radiasi terhadap kalus dan juga untuk menghindari penggunaan kalus yang mati akibat radiasi dalam perlakuan selanjutnya. Komposisi medium adaptasi sama dengan medium proliferasi. Kultur dipelihara dalam medium adaptasi selama 3 minggu.

5. Uji Herbisida

Pada tahap ini dilakukan uji pengaruh berbagai konsentrasi herbisida terhadap kalus yang telah diradiasi. Konsentrasi yang digunakan adalah 40, 50, 60 ppm glifosat. Konsentrasi ini didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya, dimana pada konsentrasi tersebut proliferasi dan pertumbuhan kalus sangat terhambat. Perlakuan uji herbisida ini berlangsung selama 7 minggu.

6. Pemindahan ke Medium Regenerasi

Pemindahan kalus ke medium regenerasi dimaksudkan untuk mengamati kemampuan regenerasi kalus yang telah diradiasi dan mengalami uji herbisida, baik yang menunjukkan pertumbuhan maupun yang tidak, serta sifat-sifat tanaman hasil regenerasinya.

7. Penganatan

Pengamatan yang dilakukan pada perlakuan radiasi dan uji herbisida meliputi : persentase terbentuknya kalus pada tiap perlakuan, penampakan kalus, struktur kalus dan



tingkat proliferasi. Tingkat proliferasi dinyatakan dengan skor sebagai berikut :

+++ = sangat baik

++ = baik

+ = kurang

- = tidak ada proliferasi

Di tingkat regenerasi, pengamatan yang dilakukan meliputi frekuensi kalus yang mampu membentuk akar dan tunas, kecepatan tumbuh serta sifat-sifat morfologi lain.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

HASIL DAN PEMBAHASAN

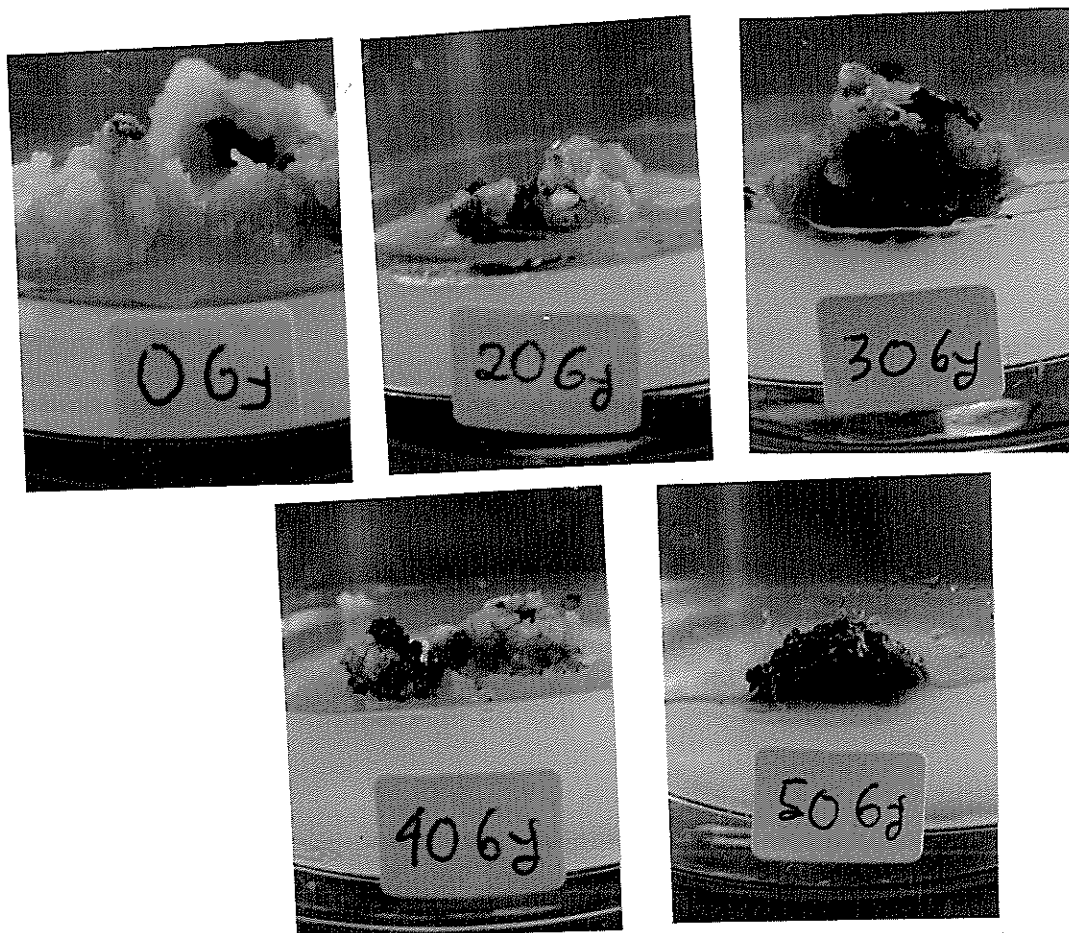
1. Perlakuan Radiasi

Segera setelah radiasi, kultur dipindahkan ke medium adaptasi. Hasil pengamatan pada minggu ke-3 setelah radiasi menunjukkan bahwa kalus dapat hidup pada setiap dosis radiasi yang diberikan. Namun, secara visual dapat terlihat perbedaan penampakan dan tingkat proliferasi (Gambar 2).

Kalus yang diradiasi dengan dosis 20, 30 dan 40 Gy tingkat proliferasinya lebih baik jika dibandingkan dengan tingkat proliferasi kalus yang diberi dosis 50 Gy. Pertumbuhan kalus yang dinilai baik adalah yang memiliki penampakan kalus padat dan segar. Namun demikian, pada dosis 40 Gy kalus mulai terlihat kurang segar. Pada kalus yang diberi dosis tertinggi 50 Gy, persentase kalus yang hidup hanya 42.7 %. Penampakan kalus pada dosis itu tidak segar dan lembik, tingkat proliferasinya sangat kurang (Tabel 1)

Tabel 1. Keadaan Kalus dalam Medium Adaptasi Setelah 3 Minggu Diradiasi

Dosis (Gy)	Kalus yang Hidup (%)	Penampakan	Tingkat Proliferasi
0	100	Segar-Padat	+++
20	85.7	Segar-Padat	++
30	100	Segar-Padat	++
40	100	Kurang Segar-Padat	++
50	42.7	Tidak Segar-Padat	+



Gambar 2. Penampakan Kalus Setelah 3 Minggu Diradiasi

Crocomo pada tahun 1982 menyatakan bahwa kalus tebu peka terhadap radiasi. Pada dosis 5 krad (50 Gy) kalus mengalami nekrosis dan hasil pemeriksaan mikroskopis memperlihatkan bahwa pada dosis itu sel-sel cenderung menggelembung dan dinding sel menipis.

2. Uji Herbisida

Uji herbisida terhadap kalus tebu yang telah diradiasi dilakukan dengan cara memindahkan kalus dari medium adaptasi ke medium yang mengandung herbisida.

Pengamatan dilakukan selama 7 minggu. Hasil pengamatan secara umum menunjukkan bahwa kalus yang diradiasi masih dapat bertoleransi pada setiap konsentrasi herbisida yang diberikan. Namun, persentase kalus yang hidup dan tingkat proliferasinya cenderung makin menurun sejalan dengan makin tingginya dosis radiasi dan konsentrasi herbisida yang diberikan (Tabel 2).

Pada kalus yang tidak mendapat perlakuan radiasi dan ditumbuhkan dalam medium yang mengandung herbisida terlihat bahwa kalus mempunyai penampakan yang tidak segar dan lembik. Tingkat proliferasi kurang, persentase kalus yang hidup makin kecil dengan makin tingginya konsentrasi herbisida.

Pada kalus yang mendapat radiasi dalam dosis rendah (20, 30 Gy) terlihat bahwa kalus dapat berproliferasi dengan baik pada semua konsentrasi herbisida. Penampakan kalus segar dan padat. Namun, seperti halnya pada kalus yang tidak diradiasi, persentase kalus yang hidup makin kecil sejalan dengan makin tingginya konsentrasi herbisida yang diberikan. Perbedaan penampakan antara kalus yang mendapat perlakuan radiasi dengan yang tidak, dapat terlihat pada Gambar 3.



Tabel 2. Penampakan Kalus yang Diradiasi Setelah 7 Minggu Mendapat Perlakuan Herbisida

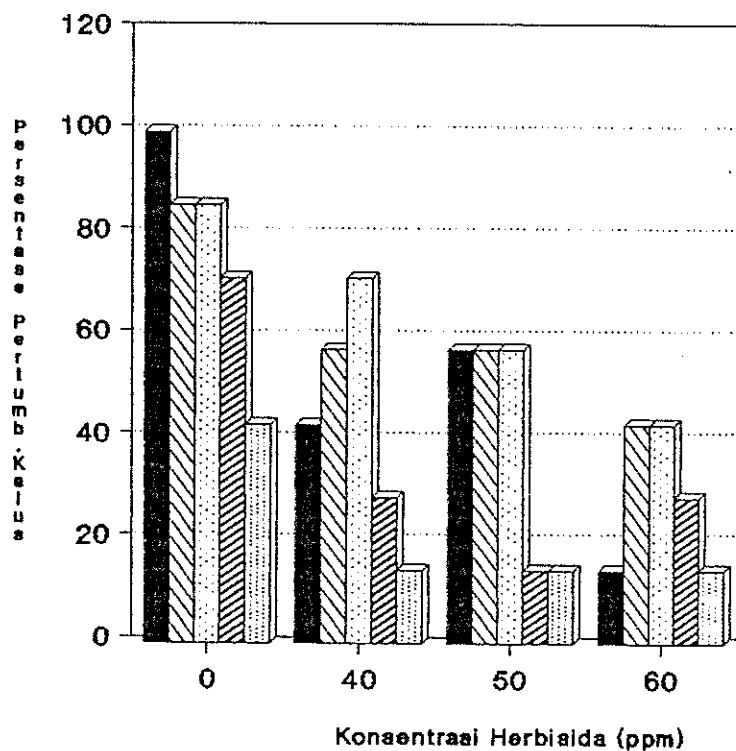
Perlakuan Gy, ppm	% Pertumbuhan Kalus	Penampakan Kalus	Tingkat Proliferasi	
0 , 0	100	Segar	Padat	+++
40	42,7	Tidak Segar	Lembek	+
50	57,4	Tidak Segar	Lembek	+
60	14,2	Tidak Segar	Lembek	+
20 , 0	85,7	Segar	Padat	++
40	57,4	Segar	Padat	++
50	57,4	Segar	Padat	++
60	42,7	Segar	Padat	++
30 , 0	85,7	Segar	Padat	++
40	71,4	Segar	Padat	++
50	57,4	Segar	Padat	++
60	42,7	Segar	Padat	++
40 , 0	71,4	Kurang Segar	Padat	++
40	28,5	Kurang Segar	Padat	++
50	14,2	Kurang Segar	Padat	+
60	28,5	Kurang Segar	Padat	+
50 , 0	42,7	Tidak Segar	Lembek	+
40	14,2	Tidak Segar	Lembek	+
50	14,2	Tidak Segar	Lembek	+
60	14,2	Tidak Segar	Lembek	+

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Keterangan :

- Radiasi 0 Gy
- ▨ Radiasi 20 Gy
- ▩ Radiasi 30 Gy
- ▧ Radiasi 40 Gy
- ▦ Radiasi 50 Gy

Gambar 4. Pengaruh Pemberian Radiasi dan Konsentrasi Herbisida terhadap Persentase Kalus yang Hidup



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hipotesis yang dapat menjelaskan terjadinya peningkatan kemampuan pada kalus yang diradiasi adalah sebagai berikut :

Kerja glifosat adalah menghambat enzim EPSP sintase yang berfungsi dalam pembentukan 5-enolpiruvil sikimat-3-fosfat (EPSP) dari Fosfoenol Piruvat (PEP) dan sikimat 3 fosfat (Gambar 5). Penghambatan ini merupakan penghambatan kompetitif. Fosfoenol piruvat dihasilkandari siklus glikolisis, sedangkan sikimat-3-fosfat merupakan salah satu mata rantai dalam biosintesis asam amino aromatik yang pembentukannya berinisiasi dari eritrosa 4 fosfat dan fosfoenol piruvat. Eritosa 4 fosfat dihasilkan dari siklus pentosa fosfat. Suatu penghambat kompetitif berlomba dengan substat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim dalam hal ini glifosat bersaing dengan PEP. Untuk mengatasinya konsentrasi substrat yang harus ditingkatkan adalah PEP. Radiasi pada dosis rendah dapat memacu pertumbuhan atau pembelahan sel. Pengamatan sitologis menunjukkan bahwa pada umumnya sel yang mendapatkan radiasi dosis rendah mempunyai bentuk sel yang berukuran kecil dan hampir seragam dengan sitoplasma sel penuh, inti sel jelas terlihat (Nurita, 1990). Dengan penuhnya sitoplasma, siklus glikosis akan berjalan dengan aktif dan akan dihasilkan PEP dalam jumlah yang lebih banyak; seperti telah disebutkan PEP merupakan substrat dalam pembentukan EPSP.

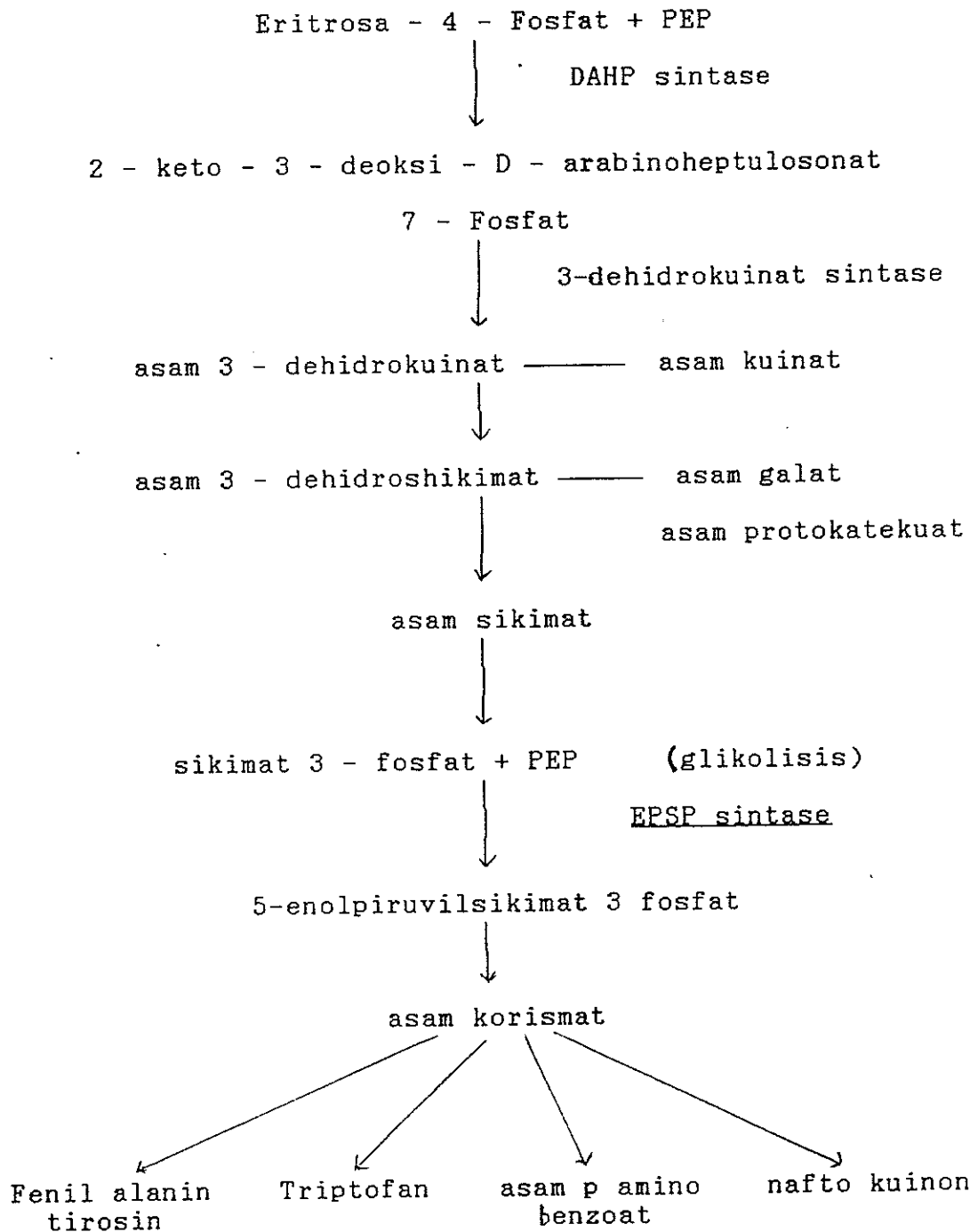


Hipotesis yang dapat menjelaskan terjadinya peningkatan kemampuan pada kalus yang diradiasi adalah sebagai berikut :

Kerja glifosat adalah menghambat enzim EPSP sintase yang berfungsi dalam pembentukan 5-enolpiruvil sikimat-3-fosfat (EPSP) dari Fosfoenol Piruvat (PEP) dan sikimat 3 fosfat (Gambar 5). Penghambatan ini merupakan penghambatan kompetitif. Fosfoenol piruvat dihasilkan dari siklus glikolisis, sedangkan sikimat-3-fosfat merupakan salah satu mata rantai dalam biosintesis asam amino aromatik yang pembentukannya berinisiasi dari eritrosa 4 fosfat dan fosfoenol piruvat. Eritosa 4 fosfat dihasilkan dari siklus pentosa fosfat. Suatu penghambat kompetitif berlomba dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim dalam hal ini glifosat bersaing dengan PEP. Untuk mengatasinya konsentrasi substrat yang harus ditingkatkan adalah PEP. Radiasi pada dosis rendah dapat memacu pertumbuhan atau pembelahan sel. Pengamatan sitologis menunjukkan bahwa pada umumnya sel yang mendapatkan radiasi dosis rendah mempunyai bentuk sel yang berukuran kecil dan hampir seragam dengan sitoplasma sel penuh, inti sel jelas terlihat (Nurita, 1990). Dengan penuhnya sitoplasma, siklus glikosis akan berjalan dengan aktif dan akan dihasilkan PEP dalam jumlah yang lebih banyak; seperti telah disebutkan PEP merupakan substrat dalam pembentukan EPSP.



Dengan bertambah banyaknya PEP yang terbentuk, penghambatan EPSP sintase glifosat dapat dikurangi.



Gambar 5. Lintasan Asam Sikimat

3. Uji Regenerasi

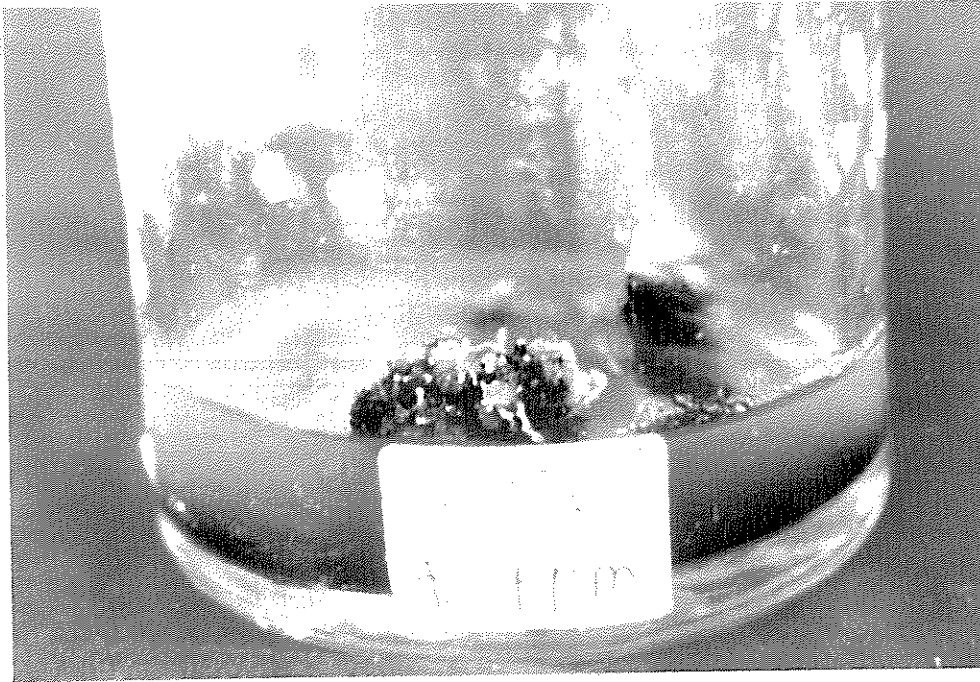
Regenerasi merupakan peristiwa terbentuknya tanaman lengkap baru karena adanya proses diferensiasi sel. Pada peristiwa ini sel berkembang sedemikian rupa sehingga mempunyai fungsi yang spesifik.

Dalam uji regenerasi, kalus yang dipindahkan ke medium regenerasi tidak mampu beregenerasi membentuk akar dan (atau) tunas. Kalus yang mampu akar hanyalah kalus yang berasal dari perlakuan 20 Gy dan ditumbuhkan dalam medium yang mengandung herbisida 40 ppm serta 50 ppm, sedangkan kontrol (0 Gy/0, 40, 50, 60, ppm) sampai pengamatan minggu ke-4 tidak mampu membentuk akar.

Akar yang terbentuk pada kedua perlakuan tersebut mempunyai penampakan yang hampir sama yaitu berwarna putih dengan panjang $\pm 0,5$ cm (Gambar 6). Saat munculnya pun hampir bersamaan yaitu pada saat berumur 2 minggu setelah dipindahkan ke medium regenerasi. Perlakuan 20 Gy/40 ppm mempunyai 28,5 % kultur berakar, sedangkan perlakuan 20 Gy/50 ppm hanya 14,2 % (Tabel 3).

Terbentuknya akar dimulai dengan adanya bintik warna ungu. Bintik itu kemudian membentuk organ silinder berwarna putih. Makin lama organ tersebut makin menutupi permukaan kalus. Pada kontrol hanya terbentuk bintik-bintik warna ungu tanpa mampu membentuk organ silinder tersebut.





Gambar 6. Kalus yang Mampu Membentuk Akar yang Berasal dari Perlakuan 20 Gy/ 40 ppm pada Umur 4 Minggu.

Tabel 3. Regenerasi Kalus Menjadi Akar pada Umur 4 Minggu Setelah Dipindahkan ke Medium

Perlakuan (Gy/ppm)	Saat Muncul (Minggu ke-)	Kemampuan Berakar (%)	Panjang (cm)
20/40	2	28.5	0.5
20/50	2	14.2	0.5
0/0	-	-	-



Dalam kultur jaringan tebu, kalus biasanya lebih mudah beregenerasi dengan membentuk akar terlebih dahulu. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Heinz pada tahun 1973. Namun, pada umumnya kalus yang dapat dengan mudah membentuk akar ditumbuhkan dalam medium yang mengandung konsentrasi auksin lebih tinggi daripada konsentrasi sitokinin. Dari pengamatan yang dilakukan didapatkan kenyataan bahwa kalus mampu membentuk akar meskipun ditumbuhkan dalam medium tanpa auksin. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya kandungan auksin endogen dalam konsentrasi tinggi akibat 2,4-D yang diberikan sebelumnya atau terjadi ketidakseimbangan hormon. Selain itu mungkin juga disebabkan karena radiasi dapat mengakibatkan perubahan fisiologis pada sel-sel kalus.

Kecilnya kemampuan kalus untuk beregenerasi dapat disebabkan karena kalus telah kehilangan daya regenerasi setelah dilakukan sub kultur berulang-ulang dan dipelihara dalam waktu yang cukup lama. Kemungkinan lain adalah karena berubahnya kestabilan genetik (Pierik, 1987).



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



KESIMPULAN

Pada perlakuan radiasi didapatkan efek yang cukup baik yaitu persentase kalus hidup yang tinggi, tingkat pertumbuhan baik, penampakan segar dan padat dihasilkan oleh kalus yang mendapat perlakuan radiasi 20 Gy dan 30 Gy.

Pada uji herbisida, kalus yang mempunyai penampakan segar dan padat, tingkat pertumbuhan baik dan persentase pertumbuhan yang cukup tinggi adalah kalus yang diradiasi dengan dosis 20 Gy dan 30 Gy yang kemudian ditumbuhkan pada medium yang mengandung konsentrasi 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm herbisida.

Pada uji regenerasi kalus yang mampu beregenerasi hanya kalus yang mendapat perlakuan radiasi 20 Gy dan herbisida 40 ppm dan 50 ppm.

Secara umum dapat dikatakan bahwa terdapat peningkatan toleransi sel tanaman tebu terhadap herbisida glifosat dengan pemberian radiasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SARAN

Disarankan untuk mempersingkat waktu pada tiap perlakuan dan tidak terlalu sering dilakukan subkultur sehingga kalus tidak kehilangan daya regenerasi.

Disarankan untuk mencari komposisi medium yang tepat untuk memacu kalus melakukan diferensiasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR PUSTAKA

- Artschwager, E. 1940. Morphology of vegetative organ of sugarcane. *J. Agric. Res* 60: 509
- Barnes, A. C. 1974. *The Sugarcane* 2nd (ed), pp. 17. Interscience Publisher Inc. New York.
- Brewbaker, J. L. 1965. *Agricultural Genetics*, pp. 11. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- Broertjes dan A. M. Van Harten. 1979. Application of Mutation Breeding Methods in the Improvement of Vegetatively Propagated Crops, pp. 156-162. Elsevier Sci Publ Co. Amsterdam.
- Chaleff, R. S. 1986. Selection for herbicide resistant mutant, pp. 133-147. In D. A. Evans, W. R. Sharp dan P. V. Ammirato (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 4. Macmillan Publ. Co. New York.
- Chu, I. Y. E. 1983. Use of tissue culture for breeding herbicide tolerant varieties, pp. 303-314. In *Cell and Tissue Culture Technique for Cereal Crops Improvement*. Science Press. Manila.
- Cole, D. J. 1985. Mode of action of glyphosate—a literature analysis pp. 48-71. In E. Grossbard dan D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth. London.
- Crocomo, D. J. 1985. Biochemical and cytological aspects of development of irradiated sugarcane cell and tissue, pp. 129-130. In *Plant Tissue and Cell Culture (Proc. 5th Int. Cong. 1982)*. The Japan Assoc. Plant Tissue Culture Publ. Tokyo.
- Djojosoebagio, S. 1988. *Dasar-dasar Radiasi dalam Biologi*. PAU Ilmu Hayat IPB Bogor.
- Duke, S. dan R. E. Hoagland. 1985. Effect of glyphosate on metabolism of phenolics compound, pp. 75-91. In Grossbard dan D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth. London.
- Eisenlohr, H. 1977. Dosimetry, pp. 28-33. In *Manual on Mutation Breeding 2nd (eds)*. IAEA. London.
- Favrett, E. A. 1977. Disease and pest resistant, pp. 180-182. In *Manual on Mutation Breeding 2nd (ed)*. IAEA. Vienna.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Franz, J. E. 1985. Discovery, Development and chemistry of glyphosate, pp. 3-17. In Grossbard and D. Atkinson (eds) *The Herbicide of Glyphosate*. Butterworth. London.
- Gamborg, O. L. dan J. P. Shyluk. 1981. Nutrition media and characteristic of plant cell and tissue culture. In T. A. Thorpe (ed). *Plant Tissue Culture*. Acad. Press. London.
- Gautheret, R. J. 1982. Plant tissue culture: the history, pp. 7-11. In *Plant Tissue Culture (Proc. 5th. Cong. 1982. Plant Tissue Culture Publ. Tokyo.*
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture, handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exergetics Ltd. Basingstoke. 790 hal.
- Grosch, D. S. dan L. E. Hopwood. 1983. *Biological Effects of Radiations*. Acad. Press. New York.
- Handro, W. 1981. Mutagenesis and in vitro selection, pp. 155-180 In T. A. Thorpe (ed). *Plant Tissue Culture*. Acad. Press. London.
- Heinz, D. J. 1973. Sugarcane Improvement trough induced mutation propagules, and cell culture technique, pp. 53-59. In *Induced Mutations in Vegetatively Plants*. IAEA. London.
- _____. 1983. *Sugarcane Improvement trough Breeding*. Elsevier Sci Publ Co. Amsterdam. 593 hal.
- Hollander, H. dan N. Armhein. 1980. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. *Plant Physiology* (66): 823-829
- Huges, K. 1986. Selection for herbicide resistance, pp. 442-459. In D. A. Evans, W. R. Sharp dan P. V. Ammirato (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol 4. Macmillan Publishing Co. New York.
- Jagathesan, D. 1982. Improvement of surgacane trough induced mutations, pp. 139-153. In *Induced Mutations in Vegetatively Propagated Plants II*. IAEA. Vienna.



- Kuntohartono, T. 1976. Keselectifan Ametrina terhadap Beberapa Varietas Tebu. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana IPB. 115 hal.
- Liu, M. C. 1981. Invitro methods applied to sugarcane improvement, pp. 299-323. In T. A. Thorpe (ed). Plant Tissue Culture. Academic Press. London.
- Meredith, C. P. dan P. Carlson. 1982. Herbicide resistance in plant cell culture, pp. 275-289. In Le Baron dan J. Gressel (eds). Herbicide Resistance in Plants. John Wiley and Sons. New York.
- Mulyana, W. 1983. Teori dan Praktek Bercocok Tanam Tebu. Aneka Ilmu. Semarang.
- Nomura, N. Yosnihiro, H. dan Wayne H. 1986. Some physiological effects from glyphosate applied to sugarcane foliage. In Int. Soc. of Sugarcane Technologist Proc. HIH Congress Vol 1. Jakarta.
- Nurita. 1990. Pengaruh pemberian radiasi sinar gamma Co terhadap konsentrasi diosgenin, pp. 383-393. Dalam Risalah Seminar Aplikasi Isotop dan radiasi dalam bidang Pertanian, Peternakan dan Biologi. BATAN. Jakarta.
- Pierik, L. 1987. In vitro Culture for Higher Plants. Martinus Nijhoff Publ. Amsterdam. 344 hal.
- Sastrowijono, S. 1982. Tanda pengenal varietas tebu unggul F 154 (BZ 132) M442-51 (BZ148) dan P5-56 (BO-653). Buletin Balai Penelitian Perusahaan Gula HII: 15-21.
- Vickery, M. L. dan B. Vickery. 1981. Secondary Plant Metabolism. Univ. Park Press. Baltimore. 335p.
- Walker, S. B. 1987. The Pesticide Manual A World Compendium 8th edition, pp. 449-450. British Crop Protection Council.
- Widyowati, D. Mencari Sel Tebu (*Saccharum officinarum* L) yang Toleran terhadap Herbisida Glifosat. Masalah Khusus. Jurusan Biologi FMIPA. IPB. 58 hal.

Tabel Lampiran 1. Komponen Medium Murashige-Skoog (MS) pada Tahap Proliferasi, Uji Herbisida dan Regenerasi

Komponen	Jumlah (mg/l) pada Tahap		
	Proliferasi	Uji Herbisida	Regenerasi
NH ₄ NO ₃	1650	1650	1650
KNO ₃	1900	1900	1900
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	440	440
Fe EDTA :			
NaEDTA	37,250	37,250	37,250
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,850	27,850	27,850
Hara Mikro :			
KI	0,85	0,85	0,85
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	8,6	8,6	8,6
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,025
CuCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,025
Sukrosa	30000	30000	30000
Inositol	100	100	100
Asam Nikotinat	0,5	0,5	0,5
Piridoxin HCl	4	4	4
Thiamin HCl	0,4	0,4	0,4
Glisin	2,0	2,0	2,0
2.4 D	6,0	6,0	6,0
Kinetin	0,1	0,1	0,1
Biotin	0,2	0,2	0,2
Air Kelapa	10% (v/v)	10% (v/v)	10% (v/v)
Arang Aktif	-	-	10% (v/v)
Herbisida Glifosat	-	40, 50, 60	-

