



*"Bukankah Kami telah melapangkan dadamu (Muhammad),
dan Kami meringankan bebanmu yang berat,
yang memberatkan punggungmu.*

Dan Kami tinggikan namamu.

*Maka sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan,
Sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan.*

*Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan),
Maka kerjakanlah (urusan lain) dengan sungguh-sungguh,*

Dan hanya kepada Tuhanmu hendaklah Engkau berharap"

(QS Al Insyiraah:1-8)

- 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.

Dengan pertolongan-Nya
serta
Atas usaha
ibu dan bapak,
saudara-saudaraku,
kuucapkan terimakasih

5/810/1991/004

**MENCARI KALUS TEBU (*Saccharum officinarum* L.)
TOLERAN TERHADAP HERBISIDA GLIFOSAT
DENGAN SELEKSI LANGSUNG SECARA *IN VITRO***

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

—

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.

DIAH WIDYOWATI



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1991**

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 keperluan 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.

DIAH WIDYOWATI. Mencari Kalus Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Terhadap Herbisida Glifosat dengan Seleksi Langsung Secara *In Vitro* (Di bawah bimbingan **DIAH R. LUKMAN** dan **SOEKISHMAN TJITROSEMITO**).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, berlangsung sejak bulan Juli 1990 sampai dengan bulan Maret 1991.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas M 442-51 (BZ 148) yang toleran terhadap herbisida glifosat dengan cara menanamnya dalam medium yang mengandung herbisida tersebut pada konsentrasi yang secara normal mematikan sel tebu.

Bahan tanaman yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah daun muda yang masih menggulung dari tunas tebu berumur 1-2 bulan.

Sterilisasi bahan tanaman dilakukan untuk mencegah kontaminasi yang berasal dari bahan tanaman yang ditanam di rumah kaca atau di lapang. Sterilisasi dengan komposisi pensteril alkohol 70% yang disekakan pada permukaan luar tunas, diikuti perendaman dalam larutan clorox komersial (NaOCl 5.25%) 10% selama 15 menit dan pembilasan dengan air steril sebanyak 3 kali memberikan hasil



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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

yang cukup baik bagi usaha pencegahan kontaminasi yang berasal dari bahan tanaman serta tidak terlalu banyak menimbulkan efek samping seperti kematian sel-sel eksplan.

Seleksi langsung terhadap pengaruh glifosat diperlukan kalus friabel yang diinisiasi dari eksplan daun tebu. Pada inisiasi kalus ini diberikan perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D (asam 2,4-diklorofenoksi asetat) dengan taraf konsentrasi 4 mg/l, 6 mg/l dan 8 mg/l yang bertujuan untuk mencari konsentrasi 2,4-D yang cocok untuk inisiasi dan pertumbuhan kalus *S. officinarum* L. varietas BZ 148.

Hasil pengamatan percobaan inisiasi kalus menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D yang memberikan pengaruh paling baik bagi inisiasi maupun pertumbuhan kalus adalah konsentrasi 6 mg/l 2,4-D. Pemindahan ke medium proliferasi kalus dilakukan pada minggu ke-12 dengan tujuan agar kalus memperbanyak diri untuk dipergunakan pada perlakuan berikutnya.

Seleksi kalus toleran terhadap herbisida dilakukan dengan memelihara kalus pada medium yang mengandung glifosat (98.28%) dengan taraf konsentrasi 0 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Pengamatan dilakukan sampai kalus kontrol tidak memperlihatkan pertumbuhan lagi. Secara umum kalus tebu varietas BZ 148 masih dapat berproliferasi pada semua konsentrasi glifosat yang



diberikan namun pertumbuhan serta intensitasnya semakin menurun bersama naiknya konsentrasi herbisida. Sedangkan berdasarkan penampakan/penampilan kalus, konsentrasi herbisida 50 ppm adalah konsentrasi maksimum yang dapat ditolerir oleh sel tebu varietas BZ 148 ini dengan memberikan 6.67% kalus viabel.

Konsentrasi glifosat 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm yang ditambahkan ke dalam medium ternyata dapat mendorong pertumbuhan kalus *S. officinarum* L. lebih baik daripada pertumbuhan kalus pada medium kontrol, dengan memberikan persen pertumbuhan kalus berturut-turut 36.7%, 30% dan 16.17%.

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.





MENCARI KALUS TEBU (*Saccharum officinarum* L.)

TOLERAN TERHADAP HERBISIDA GLIFOSAT

DENGAN SELEKSI LANGSUNG SECARA *IN VITRO*

DIAH WIDYOWATI

Laporan Penelaahan Masalah Khusus

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

BOGOR

1991

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.



J u d u l

: MENCARI KALUS TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN TERHADAP HERBICIDA GLIFOSAT DENGAN SELEKSI LANGSUNG SECARA *IN VITRO*

Nama Mahasiswa : DIAH WIDYOWATI

Nomor Pokok : G23.0531

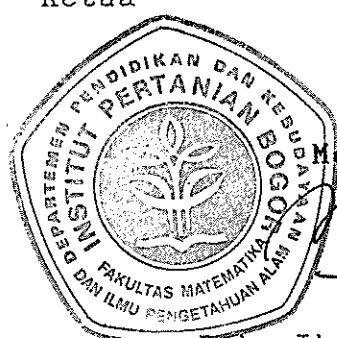
Menyetujui:

Komisi Pembimbing

Dr. Ir. Diah R. Lukman

Dr. Soekisman T., MSc.

Ketua



Mengetahui:

Anggota

Drh. Ikin Mansjoer, MSc.

Ketua Jurusan Biologi

Tanggal lulus: 23 Agustus 1991

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Diarang 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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 9 Januari 1968 di Jakarta, dari Bapak Amir Gunawan dan Ibu Endang Soerasmi sebagai puteri kelima dari enam bersaudara.

Pada tahun 1980 penulis menamatkan pendidikan Sekolah Dasar Dwisakti di Bandung. Pada tahun 1983 lulus dari Sekolah Menengah Pertama Negeri I Bandung dan lulus dari Sekolah Menengah Atas Negeri II Bandung tahun 1986.

Penulis memasuki bangku kuliah di Institut Pertanian Bogor tahun 1986 melalui jalur Sipenmaru (Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru) dan pada tahun 1987 diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Penulis pernah menjadi asisten luar biasa untuk mata kuliah Taksonomi Tumbuhan pada tahun ajaran 1989-1990.

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 menggunakan kepentingan yang wajar 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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rakhmat serta karunia-Nya maka penulis dapat menyelesaikan tulisan ini. Tulisan ini adalah Laporan Masalah Khusus yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Biologi, pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Merupakan kesempatan yang sangat baik bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Ir. Diah R. Lukman dan Bapak Dr. Soekisman Tjitrosemito, MSc. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, kritik dan saran selama penelitian berlangsung sampai tersusunnya laporan ini.
2. Kepala Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian serta bantuan fasilitasnya.
3. Seluruh staf dan pegawai Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, FMIPA, Institut Pertanian Bogor khususnya Ibu Anis atas bantuannya selama melaksanakan penelitian.



4. Rekan-rekan tercinta atas dorongan semangat serta bantuannya selama melaksanakan penelitian sampai selesaiya laporan ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, namun demikian semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang memerlukannya.

Bogor, Agustus 1991

Penulis

- 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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin 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.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| DAFTAR TABEL | iii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| PENDAHULUAN | 1 |
| Latar Belakang | 1 |
| Tujuan | 3 |
| TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| Botani Tanaman <i>S. officinarum</i> L. | 4 |
| Herbisida Glifosat | 7 |
| Penggunaan Glifosat di Lapang | 8 |
| Mekanisme Kerja Glifosat pada Tanaman | 8 |
| Kultur Jaringan | 11 |
| Sterilisasi | 12 |
| Inisiasi Kalus | 14 |
| Penambahan Zat Pengatur Tumbuh | 15 |
| Subkultur | 16 |
| Toleransi Terhadap Herbisida | 17 |
| BAHAN DAN METODE | 22 |
| Tempat dan Waktu Penelitian | 22 |
| Bahan dan Alat | 22 |
| Metode | 23 |
| Persiapan | 23 |
| Pembuatan Medium | 24 |



| | Halaman |
|--|-----------|
| Sterilisasi Bahan Tanaman | 25 |
| Inisiasi Kalus | 25 |
| Perbanyak Kalus (Proliferasi Kalus) | 27 |
| Perlakuan herbisida | 27 |
| Perhitungan Hasil | 29 |
| HASIL DAN PEMBAHASAN | 31 |
| Sterilisasi | 31 |
| Inisiasi Kalus | 33 |
| Proliferasi Kalus | 38 |
| Perlakuan Herbisida Glifosat | 39 |
| KESIMPULAN DAN SARAN | 47 |
| Kesimpulan | 47 |
| Saran | 48 |
| DAFTAR PUSTAKA | 49 |
| LAMPIRAN | 53 |

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|--|---------|
| 1. | Hasil Pengamatan pada Hari ke-7 Terhadap Percobaan Sterilisasi Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.) Varietas BZ 148 | 32 |

Lampiran

| | | |
|----|--|----|
| 1. | Komposisi Medium Murashige dan Skoog dengan Modifikasi pada Inisiasi, Proliferasi dan Perlakuan Glifosat Terhadap Kalus <i>S. officinarum</i> L. Varietas BZ 148 | 54 |
|----|--|----|

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



| Nomor | Halaman |
|---|---------|
| 1. Tanda Pengenal <i>S. officinarum</i> L. Varietas BZ 148 | 5 |
| 2. Tanaman <i>Saccharum officinarum</i> L. Varietas BZ 148 | 7 |
| 3. Contoh Bagian Tanaman yang Diisolasi dari Tanaman Induknya | 26 |
| 4. Posisi Eksplan Tegak pada Medium Tanam dan Terlihat Pertumbuhan Kalus dari Bagian Jaringan yang Terluka | 34 |
| 5. Grafik Pertumbuhan Kalus <i>S. officinarum</i> L. Varietas BZ 148 pada Medium Inisiasi Kalus | 35 |
| 6. Kalus dan Tunas Umur 9 Minggu yang Dihasilkan pada Konsentrasi 6 mg/l 2,4-D | 38 |
| 7. Histogram Pertumbuhan Kalus Baru dari <i>S. officinarum</i> L. Varietas BZ 148 pada Perlakuan Herbisida Glifosat (Pengamatan Minggu ke-10) | 42 |
| 8. Perbandingan Visual Kalus Dalam Medium dengan Berbagai Tingkat Konsentrasi Glifosat (11 Minggu Setelah Perlakuan Herbisida) | 43 |
| 9. Pertumbuhan Kalus Baru Setelah Pemindahan ke Medium dengan Kinetin 0.1 mg/l dari Medium Kontrol (Minggu ke-2) | 45 |

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

Pengadaan gula makin terasa penting karena dengan pertambahan penduduk yang pesat serta semakin majunya perekonomian bangsa, maka konsumsi gula menjadi bertambah banyak. Tebu (*Saccharum officinarum* L.) adalah tanaman penting penghasil gula karena lebih dari setengah produksi gula dunia berasal dari tebu. Disamping faktor-faktor seperti kondisi iklim dan tanah yang cocok, pengairan yang baik, jarak tanam serta jenis tebunya, gangguan hama selama masa pertanamannya yang semakin sulit dikendalikan merupakan salah satu faktor yang ikut bertanggung jawab terhadap produksi tebu.

Salah satu pengganggu (*pest*) dalam pertanaman tebu adalah gulma yang dalam jumlah yang berlebihan melalui persaingan dalam mendapatkan faktor tumbuh amat merugikan tebu disamping peranan gulma sebagai inang hama dan penyakit tebu.

Pengendalian gulma yang umum dilakukan adalah secara kultur teknis, manual/mekanis maupun secara kimia. Pengendalian secara manual kurang praktis mengingat luasnya areal serta membutuhkan lebih banyak tenaga kerja; cara manual yang kurang baik bahkan menyebabkan populasi



beberapa jenis gulma (seperti teki) semakin bertambah (Mangoensoekarjo, 1978). Oleh karenanya pengendalian gulma dengan cara kimiawi merupakan cara yang makin meluas dan populer, terutama pada perkebunan yang luas.

Selama duapuluhan tahun belakangan ini herbisida telah menjadi bagian yang memiliki arti penting bagi pertanian moderen. Herbisida berangsur-angsur menggantikan pengendalian gulma dengan cara lain. Pengendalian gulma dengan herbisida termasuk cara pengendalian yang cukup mahal, oleh karena itu cara pemakaiannya harus seefisien mungkin baik dari segi waktu, dosis, cara pelarutan, penyemprotan maupun dari segi lingkungan dan sosial ekonomi.

Herbisida glifosat merupakan herbisida yang berspektrum luas, nonselektif terhadap tumbuhan dengan memiliki daya berantas yang kuat, dapat mengendalikan secara efektif 76 dari 78 spesies rumput liar di dunia, nontoksik terhadap hewan dan cepat terdegradasi oleh mikroorganisme tanah (Franz, 1985). Herbisida ini sebenarnya ditujukan pada gulma, namun dapat juga mematikan tanaman budidaya-nya karena sifat nonselektifnya.

Dengan perkembangan dunia ilmu pengetahuan diharapkan ilmu genetika dan kultur jaringan dapat membantu mengatasi masalah ini yaitu dengan menghasilkan suatu

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

galur tanaman yang toleran terhadap herbisida glifosat. Chu (1983) berpendapat bahwa membuat tanaman yang tahan terhadap herbisida lebih efisien dan ekonomis dibandingkan dengan membuat herbisida baru yang spesifik untuk tanaman tertentu.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mencari kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas BZ 148 yang toleran terhadap herbisida glifosat, dengan seleksi langsung secara *in vitro*.



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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

TINJAUAN PUSTAKA

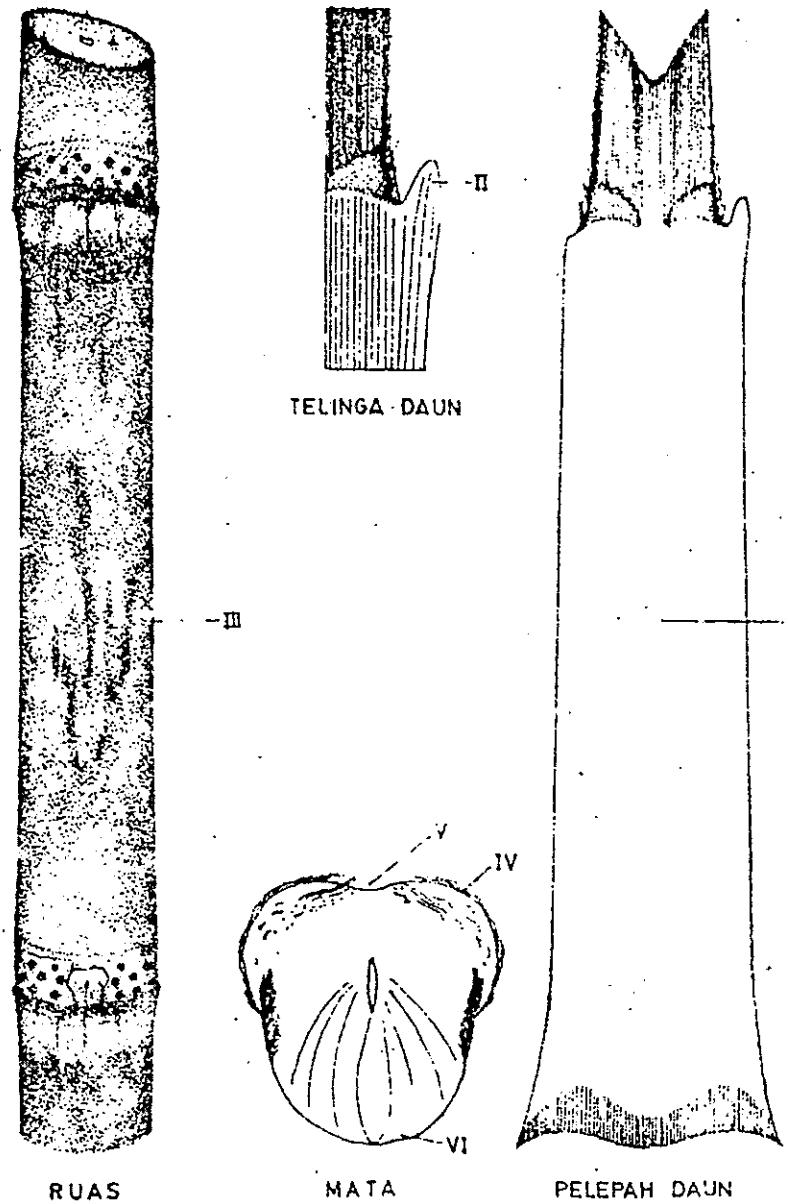
Botani Tanaman *S. officinarum* L.

Menurut Hutchinson (1959), sistematika tanaman tebu adalah sebagai berikut:

| | |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Filum | : Angiospermae |
| Subfilum | : Monocotyledonae |
| Divisi | : Glumiforae |
| Ordo | : Graminales |
| Famili (suku) | : Poaceae |
| Subfamili (anak suku) | : Panicoideae |
| Tribe (kelompok) | : Andropogoneae |
| Subtribe (anak kelompok) | : Saccharinae |
| Genus (marga) | : <i>Saccharum</i> |
| Spesies (jenis) | : <i>Saccharum officinarum</i> L. |

Bahan tanaman yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *Saccharum officinarum* L. varietas M 442-51 (BZ 148). Menurut edaran BP₃G (Balai Penelitian Perusahaan Perkebunan Gula) Pasuruan dan Sastrowijono (1982), varietas M 442-51 (BZ 148) adalah hasil persilangan antara varietas B 37172 dan M 213-40 serta merupakan varietas yang diintroduksi dari Mauritius. Varietas ini diketahui memiliki beberapa tanda pengenal sebagai berikut (Gambar 1):

@Hak cipta milik IPB University



Gambar 1. Tanda Pengenal *S. officinarum* L. Varietas
BZ 148

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.

Daun. Helai daun berwarna hijau kekuningan dengan ukuran lebar daun yang sedang. Tajuk daun hampir tegak. Pelepas daun memiliki bidang punggung (I) yang tidak berbulu pada punggung pelepas daunnya. Kalau ada maka pertumbuhannya sempit, jarang, tidak sampai puncak pelepas daun, dengan panjang bulu kira-kira 2 mm dan kedudukan rebah. Pelepas daun memiliki telinga-daun (II) yang pertumbuhannya lemah sampai sedang dengan kedudukan tegak.

Batang. Batang terdiri dari ruas-ruas yang tersusun lurus. Bentuk ruas (III) silindris dengan penampang melintang bulat. Alur-mata, noda-gabus dan retakan-tumbuh tidak ada. Retakan-gabus kadang-kadang ada dalam jumlah sedikit. Terdapat lubang kecil di tengah-tengah ruas.

Mata. Berbentuk bulat, dengan sayap-mata berpangkal di tengah-tengah tepi mata. Tepi sayap-mata (IV) rata, rambut jambul-mata (V) tidak ada dan rambut tepi basal-mata tidak ada (VI).

Sifat-sifat agronomis dari varietas ini adalah perkembangannya agak lambat, pertumbuhan normal untuk kemandian memanjang cepat, tidak berbunga. Varietas ini tahan terhadap hama penggerek pucuk dan penggerek batang, serta tahan terhadap penyakit mosaik, pokahbung dan blendok. Sifat lain dari tebu unggul ini adalah kemampuannya untuk

menyesuaikan diri terhadap berbagai tipe iklim, jenis tanah dan lahan. Tanaman *S. officinarum* L. varietas BZ 148 di lapang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tanaman *Saccharum officinarum* L. Varietas BZ 148

Herbisida Glifosat

Senyawa Glifosat atau N-(fosfonometil)-glisin, merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam herbisida yang mula-mula diformulasikan dengan nama dagang Round Up dan kini setelah hak paten-nya habis, glifosat juga diformulasikan dengan berbagai nama dagang seperti Sun Up, Clean Up dan Eagle. Senyawa ini terkandung dalam bentuk garam

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.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

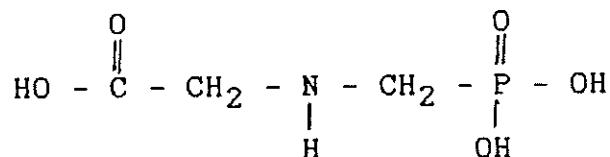
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

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

b. Pengutipan tidak menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

dimetilamin atau isopropilamin, yang memiliki struktur bangun seperti di bawah ini (Coupland, 1985):



Penggunaan Glifosat di Lapang

Dalam penggunaannya di lapang, glifosat dipakai untuk memberantas gulma tanpa olah tanah. Membunuh sisasisa penebangan tebu dengan Round Up juga telah banyak dilaporkan sehingga tenaga untuk mengolah tanah dan mendongkel dapat dihemat (Arif, 1978).

Efek pemberian glifosat pada gulma terlihat satu minggu setelah penyemprotan. Gejala yang tampak adalah daun mulai menguning yang kemudian kering dan mati (Abidin *et al*, 1987).

Dalam tubuh tumbuhan glifosat disekresi langsung melalui akar atau dimetabolisme menjadi beberapa senyawa kimia seperti glioksilat, asam aminometil fosfonat, asam formil fosfonat, formaldehid dan CO₂ (Coupland, 1985).

Mekanisme Kerja Glifosat pada Tanaman

Mekanisme kerja glifosat dalam mengganggu pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah melalui pengaruhnya



terhadap aktivitas beberapa enzim tanaman, seperti penghambatan terhadap aktivitas enzim 5-enolpiruvilshikimat-3 fosfat (EPSP) sintase yang terdapat pada lintasan asam shikimat yaitu pada jalur biosintesis asam amino aromatik L-fenilalanin, L-tirosin dan L-triptofan. Asam amino tersebut terdapat dalam berbagai protein tanaman, sehingga akibat utamanya adalah dapat memperlambat atau bahkan menggagalkan pembentukan protein tanaman (Cole, 1985; Duke dan Hoagland, 1985; Comai *et al*, 1985; Chaleff, 1986). Penghambatan EPSP sintase ini dapat menyebabkan terjadinya penumpukan senyawa shikimat pada vakuola sel (Hollander-Czytko dan Armhein, 1983 *dalam Cole, 1985*).

Enzim lain yang tampaknya juga dipengaruhi oleh hadirnya glifosat adalah peningkatan aktivitas phenilalanin amonia lyase (PAL) (Duke dan Hoagland, 1985), yang merupakan enzim pengatur pembentukan komponen fenol melalui proses deaminasi dari asam amino fenilalanin dan tirosin (Vickery dan Vickery, 1981). Peningkatan aktivitas enzim PAL ini menyebabkan (a) berkurangnya jumlah fenilalanin dan tirosin bebas dalam *pool* asam amino, sehingga menghambat pembentukan protein tanaman; (b) terjadi keracunan amonia yang diakibatkan oleh tingkat deaminasi yang lebih tinggi daripada tingkat aminasi; (c) terdapat penumpukan senyawa fenol dari asam trans-sinamat hasil

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



reaksi PAL, senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan tanaman (Hollander dan Armhein, 1980). Peningkatan aktivitas PAL dapat menyebabkan defisiensi asam amino aromatik dan hal ini menyebabkan penurunan pertumbuhan kultur kalsus pada *Helianthus tuberosus* (Davidson dan Yeoman, 1974 dalam Duke dan Hoagland, 1985).

Kejadian lanjut dari efek glifosat adalah meningkatnya aktivitas enzim asam indol asetat (IAA) oksidase, sehingga tingkat penghancuran auksin dalam tanaman semakin meningkat. Hal ini dapat mempengaruhi metabolisme auksin dalam tubuh tanaman. Proses peningkatan aktivitas IAA oksidase ini terjadi karena komponen fenolik yang biasa menghambat kerja enzim ini terhambat pembentukannya oleh glifosat melalui penghambatan pembentukan asam amino aromatik, yang merupakan senyawa bahan dasar komponen fenolik tersebut (Cole, 1985).

Enzim lain dari metabolisme sekunder yang dipengaruhi oleh glifosat adalah polifenol oksidase (PPO). Diketahui aktivitas enzim PPO ini akan meningkat dalam kondisi stres, termasuk perlakuan glifosat (Cole, Dodge dan Caseley, 1980 dalam Duke dan Hoagland, 1985).

Efek penghambatan di tingkat sel oleh glifosat diketahui menyebabkan terjadinya penghancuran mitokondria, pengrusakan kloroplas terutama di bagian grana (Hull, Bleckmann dan Morton, 1977 dalam Cole, 1985).



Namun secara umum efek dari herbisida pada sel tunggal dan organisme tingkat rendah adalah terjadinya defisiensi berupa berkurangnya kelengkapan dari komponen ultrastrukturnya di lokasi terjadinya penumpukan herbisida ini atau di daerah penyebarannya dalam sel. Untuk menyebutkan secara pasti target utama herbisida tersebut pada bagian sel masih perlu ditinjau kembali korelasi antara efeknya terhadap jaringan meristem, ultrastruktur dan fenomena biokimia yang akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan bahkan kematian sel (Cole, 1985).

Kultur Jaringan

Prinsip kultur jaringan sangat sederhana, yakni sel dapat tumbuh menjadi suatu individu lengkap, walaupun sel tersebut sudah mengalami perubahan bentuk atau kekhususan fungsi. Artinya apabila sel itu dipisahkan dari lingkungannya dalam tumbuhan dan dipindahkan ke suatu lingkungan baru yang sesuai, sel tersebut akan tumbuh menjadi tumbuhan sempurna baik berasal dari jaringan daun, akar ataupun kambium. Jadi yang dapat tumbuh menjadi individu lengkap pada tumbuhan bukan hanya sel yang telah dibuahi (Majnu, 1975).



Sterilisasi

Pada prinsipnya ada 4 sumber utama penyebab infeksi pada pekerjaan kultur jaringan: bahan tanaman (bagian dalam (internal) maupun bagian luarnya (eksternal)), medium tumbuh (terutama sterilisasi medium yang kurang baik), udara dan ketrampilan kerja pelaksana. Namun yang terpenting adalah bahan tanaman itu sendiri yang harus disterilisasi terlebih dahulu sebelum ditanam pada medium tumbuh (Pierik, 1987).

Bagian dalam jaringan biasanya bebas penyakit, namun kadang bagian dalam jaringan tersebut terinfeksi pula oleh fungi atau bakteri yang tidak memberikan gejala yang tampak. Adanya fungi atau bakteri tersebut akan mengganggu tumbuhnya jaringan atau sel yang sedang dikultur; karena itulah diperlukan jaringan yang sehat untuk proses kultur jaringan (Torres, 1957). Untuk mengatasi masalah infeksi dalam jaringan tanaman seringkali ditambahkan antibiotik ke dalam medium tumbuh untuk menghambat berkembangnya mikroorganisme yang tidak diharapkan. Antibiotik yang kerap kali dipergunakan adalah tetrasiklin, akhromisin, penisilin dan 8-hidroksiquinolin, baik dalam bentuk antibiotik tunggal ataupun kombinasi antibiotik (Pierik, 1987). Diketahui dalam kultur *Cinchona*, rifampisin dapat menghambat bakteri yang menginfeksi bagian

dalam jaringan dan tidak menimbulkan efek samping yang mengganggu pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Staritsky *et al*, 1983 dalam Pierik, 1987).

Beberapa bahan kimia yang umum dipergunakan sebagai bahan pensteril: alkohol 70% untuk sterilisasi bahan tanaman dan alkohol 96% untuk sterilisasi meja, instrumen. Sterilisasi dengan alkohol kurang dapat membunuh semua mikroorganisme oleh karenanya sering dikombinasikan dengan bahan pensteril hipoklorit. Untuk buah dapat dilakukan sterilisasi eksternal dengan alkohol 96%, sering kali dilakukan pada kultur jaringan anggrek. Sodium hipoklorit (NaOCl) biasa digunakan dalam konsentrasi yang cukup tinggi yaitu 1.5-2.0%. Untuk tanaman yang sensitif terhadap NaOCl maka dapat digunakan Ca-hipoklorit dengan konsentrasi 35-100 g/l. Sterilisasi dengan CaOCl_2 ini prosesnya lebih lambat daripada sterilisasi NaOCl sehingga memerlukan waktu lebih lama. CaOCl_2 dapat disimpan lama dalam bentuk bubuk. Sublimat atau HgCl_2 merupakan bahan pensteril yang dapat bersifat racun bagi eksplan, demikian juga terhadap hewan dan manusia. Bahan pensteril ini dipergunakan dengan konsentrasi 0.01-0.05% selama 2-12 menit kemudian dibilas berulang kali dengan air steril.



Beberapa perlakuan yang dapat mengefektifkan proses sterilisasi adalah mencuci bahan tanaman dengan air bersih berulang kali sebelum sterilisasi dilakukan, menyeka permukaan luar bahan tanaman dengan alkohol 70% beberapa kali sebelum sterilisasi, menambahkan larutan Tween 20 atau 80 dengan konsentrasi 0.08-0.12% dalam larutan pensteril untuk menurunkan tegangan permukaan sehingga memudahkan kontak antara bahan pensteril dengan pelarutnya, mengaduk larutan pensteril NaClO dengan pengaduk magnetik (Pierik, 1987).

Inisiasi kalus

Eksplan yang ditanam dalam medium kultur dapat langsung tumbuh menjadi tanaman kecil atau membentuk gumpalan sel yang disebut kalus. Kalus dapat membentuk tanaman pada medium yang sama atau dipindahkan ke medium lainnya untuk menumbuhkan daun dan akar (Majnu, 1975).

Kalus yang muncul dari jaringan, terbentuk dari proliferasi sel bagian eksplan. Kebanyakan keberhasilan penumbuhan kalus didukung oleh kondisi lingkungannya yang sesuai. Kalus telah berhasil diinisiasi baik dari tanaman dikotil maupun monokotil. Bagian tanaman yang telah berhasil menghasilkan kalus di bawah kondisi *in vitro* adalah organ penyimpanan, perisiklus akar, endosperma, kotiledon, mesofil daun (Torres, 1957).



Menurut Gunawan (1987) umumnya kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung juga dari umur fisiologis jaringan waktu isolasi, bagian tanaman yang dipakai dan jenis tanaman.

Penambahan Zat Pengatur Tumbuh

Medium untuk menumbuhkan kalus memerlukan konsentrasi auksin dan sitokinin yang tinggi yaitu 0.01-10 mg/l auksin dan 1-10 mg/l untuk sitokinin. Respon jaringan tergantung dari zat tumbuh dalam jaringan dan di luar jaringan yang disuplai dari medium. Untuk mendorong pertumbuhan kalus sering ditambahkan glisin, arginin atau campuran asam amino yang terkandung dalam kasein hidrolisat, ekstrak malt, ekstrak ragi (Torres, 1957; Pierik, 1987). Penambahan air kelapa seringkali dilakukan pada medium inisiasi kalus dan diketahui air kelapa mengandung: vitamin A, B, C; mineral: natrium klorida, iodium, kalsium, fosfor; lemak, hidrat arang dan protein (Gunadi, 1979; Gunawan, 1987).

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan tanaman diduga melalui 2 cara yaitu:

1. Menginduksi sekresi ion H^+ keluar sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil dan pengambilan

ini mengurangi potensial air dalam sel. Akibatnya air masuk ke dalam sel dan sel membesar.

2. Mempengaruhi metabolisme Asam Ribonukleat (ARN) yang berarti metabolisme protein, melalui transkripsi molekul ARN.

Zat pengatur tumbuh lain yang sering dipergunakan bersama-sama auksin adalah sitokinin. Golongan ini penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin berperan dalam metabolisme asam nukleat dan sintesis protein. Sitokinin mempunyai cincin adenin yang merupakan suatu basa purin pada asam deoksiribonukleat (ADN) dan asam ribonukleat (ARN). Kinetin adalah sitokinin pertama yang ditemukan dari ikan herring. Senyawa ini diketahui dapat merangsang pembelahan sel dan differensiasi sel tembakau (Gunawan, 1987; Wattimena, 1988).

Sitokinin merupakan salah satu senyawa esensial yang terdapat dalam air kelapa (Van overbeek *et al*, 1941 dalam Jacobsen, 1983) dan menurut Gunawan (1987) zat pengatur tumbuh grup sitokinin yang terdapat dalam air kelapa adalah zeatin.

Subkultur

Kultur kalus harus dipindah secara periodik ke medium segar, yaitu apabila persediaan makanan sudah mulai berkurang. Kultur kalus yang diinkubasi pada temperatur



25° C atau lebih harus disubkultur setiap 4-6 minggu. Kegagalan pemindahan akan mengakibatkan nekrosis yang diikuti dengan kematian kalus. Kematian kalus yang satu akan membawa racun untuk generasi berikutnya. Virus pencemar yang berasal dari tanaman induk sering menjadi penyebab penurunan vigor kalus (Torres, 1957; George dan Sherrington, 1984).

Toleransi Terhadap Herbisida

Tanaman yang ditumbuhkan melalui kalus dari eksplan nonmeristik sering mempunyai kelainan-kelainan morfologis. Ini mengingatkan tentang kemungkinan terjadinya perubahan genotipe selama pertumbuhan, sehingga cara ini merupakan sumber variasi. Jika dibandingkan dengan biji ataupun seluruh tanaman, maka lebih mudah memperoleh tanaman mutan atau poliploidi dari kalus, misalnya dengan diberi perlakuan radiasi atau kimia (Majnu, 1975).

Sifat toleransi atau resistensi berdasarkan sifat khusus struktur terdiferensiasi (mis: ketebalan kutikula) lebih besar kemungkinannya untuk tidak diekspresikan dalam kultur sel dibanding sifat-sifat pada metabolisme seluler. Sebaliknya sifat-sifat pada kultur sel, sering kali tidak diekspresikan pada tanaman regenerasinya. Namun dari beberapa kasus telah dilaporkan sifat terseleksi



dari kultur sel ternyata dibawa ke tingkat tanaman utuh dan ditransmisikan kepada keturunannya secara genetik. Toleransi terhadap herbisida pada kultur sel tanaman dapat terjadi dalam beberapa bentuk perubahan fisiologis. Laporan mengenai sifat-sifat toleransi ditetapkan sebagai urutan berikut (Meredith dan Carlson, 1982):

- (1) Toleransi diekspresikan oleh kultur sel, tetapi bisa hilang jika sel-sel ditumbuhkan tanpa herbisida setelah satu atau lebih lanjutan kultur (subkultur).
- (2) Toleransi menetap pada kultur sel bahkan sesudah satu atau lebih rangkaian kultur tanpa herbisida.
- (3) Toleransi stabil tanpa adanya inhibitor dan juga terekspresikan pada tanaman hasil regenerasi dari kultur sel atau kultur sel yang berasal dari tanaman hasil regenerasi itu.
- (4) Toleransi stabil, tetap teguh melalui proses regenerasi dan juga ditransmisikan terhadap keturunannya.

Kemampuan bertoleransi tergantung dari jenis tanaman serta jenis bahan kimia yang diujikan. Tanaman jagung dan tebu tahan terhadap herbisida Atrazin (Gesaprim) karena dapat memetabolisisasi Atrazin, namun pada dosis tinggi Atrazin bersifat nonselektif (Bangun dan Pane, 1984).

Banyak hal dari perbedaan sifat toleran terhadap herbisida yang memberikan kemungkinan bahwa sifat toleran tersebut dikendalikan oleh suatu mekanisme genetik



sederhana, yaitu gen-gen yang memberikan respon terhadap perlakuan kimia yang diberikan. Gen-gen tersebut dapat dengan mudah dipelihara dalam populasi alamiah atau sumber plasma nutfah. Gen-gen yang mengendalikan sifat toleran ini dapat terdiri dari satu gen atau lebih yang bersifat resesif maupun dominan (Chu, 1983). Rami dan kedelai yang toleran terhadap Atrazin telah ditemukan berdasarkan penelitian terhadap ribuan galur liar (Anderson dan Behren, 1967 *dalam* Chu, 1983).

Apabila gen toleran tidak terdapat dalam galur liar atau populasi, maka induksi mutasi dapat memberikan kemungkinan untuk menghasilkan sifat toleran. Seperti yang telah dikerjakan pada tanaman tomat resisten terhadap diphenamid dan gandum terhadap terbutryn melalui induksi mutasi dan melakukan seleksi yang berulang kali (Pinthus, 1972 *dalam* Chu, 1983). Beberapa usaha untuk menghasilkan tanaman yang toleran terhadap herbisida adalah menyeleksi gen-gen mutan dominan dari sel-sel diploid dan gen-gen mutan resesif dari sel-sel haploid dengan memberikan mutagen dan perlakuan herbisida; melakukan fusi protoplas atau hibridisasi somatik terhadap sel tanaman yang tahan terhadap herbisida; transfer gen toleran atau rekombinasi ADN (Chu, 1983).



Proses cangkok ADN untuk memperoleh tanaman tembakau yang tahan terhadap herbisida glifosat telah dilakukan dengan dasar perbedaan asam amino yang terdapat pada enzim EPSP (5-enol piruvilshikimat-3 fosfat) sintase yang terdapat pada tanaman dan bakteri *Salmonella typhimurium*. Pada enzim EPSP sintase *S. typhimurium* terdapat asam amino serin pada posisi tertentu, sedangkan pada tanaman kedudukan asam amino tersebut diganti dengan prolin. Jadi adanya perbedaan asam amino ini menyebabkan pula perbedaan daya pengikatan glifosat pada enzim tersebut¹.

Beberapa keuntungan yang diperoleh dengan menghasilkan tanaman yang tahan terhadap herbisida adalah memperoleh varietas baru yang toleran terhadap herbisida sehingga lebih sedikit memerlukan pengembangan herbisida baru, terutama di masa teknologi moderen dimana kultur jaringan dan rekayasa genetika telah dipergunakan; tanaman toleran yang telah memiliki sifat genetik yang terkontrol memberikan kemungkinan untuk tetap stabil pada lingkungan yang berbeda; terdapatnya pengumpulan gen toleran terhadap herbisida dalam varietas memungkinkan dilakukan pemberantasan gulma dengan konsentrasi herbisida

¹

Kompas, halaman XI, Kolom 2, 15 Maret 1990



yang cukup tinggi dalam usaha pengontrolan gulma secara keras, namun tidak membahayakan bagi tanaman budidayanya; dengan membentuk varietas yang toleran terhadap herbisida memberikan kondisi yang lebih fleksibel bagi penggunaan beberapa jenis herbisida serta menekan tenaga kerja (Chu, 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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi, FMIPA IPB, Bogor. Penelitian dimulai dari bulan Juli 1990 sampai dengan bulan Maret 1991.

Bahan dan Alat

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang dipergunakan sebagai eksplan adalah daun muda yang masih menggulung dari tanaman *Saccharum officinarum* L. varietas M 442-51 (BZ 148), yang diambil dari bagian tunas mudanya, berumur 1-2 bulan.

Bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang dipergunakan dalam pembuatan medium tumbuh terdiri dari bahan organik dan bahan anorganik.

a. Bahan organik

Sukrosa, 2,4-D, kinetin, mio-inositol, asam nikotinat, piridoksin-HCl, tiamin-HCl, glisin, biotin, agar murni, air kelapa muda, glifosat (98.28%).

b. Bahan anorganik

NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
 Na_2EDTA , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KI, H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

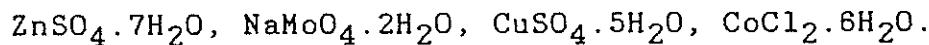
1.

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



Bahan-bahan kimia yang dipergunakan untuk sterilisasi bahan tanaman, terdiri dari *clorox* komersial (NaOCl 5.25%) 10%, alkohol 70%. akuades steril, Betadine.

Alat-alat

Alat-alat yang digunakan meliputi: botol kultur, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, pipet volumetri dan pipet mohr, pinset, pisau diseksi, neraca analitik, pH-meter, penangas, kotak transfer, autoklaf, kertas alumunium, kertas saring, jarum suntik dan filtermillipore berdiameter pori $0.45\text{ }\mu\text{m}$, serta pengaduk magnetik dan gelas pengaduk.

Metode

Persiapan

Botol-botol kultur direndam dalam air sabun selama 1-2 hari. Kemudian dicuci bersih dan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan temperatur 121°C , tekanan 15 psi selama 1 jam. Selanjutnya botol-botol tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan temperatur 120°C , demikian juga dengan alat-alat lainnya seperti cawan petri dan alat-alat diseksi yang telah dibungkus dengan kertas coklat atau kertas alumunium.



Pembuatan Medium

Larutan-larutan baku yang sudah dibuat, dipersiapkan dengan seksama. Labu ukur 1 liter diisi sepertiganya dengan akuades. Kemudian satu demi satu larutan baku ditambahkan ke dalam labu ukur sesuai dengan komposisi medium yang diperlukan. Campuran diaduk setiap kali setelah penambahan larutan baku.

Sukrosa, asam amino dan vitamin segera ditambahkan ke dalam labu ukur dan kemudian diaduk sampai larut, diikuti dengan penambahan air kelapa yang telah disaring dua kali melalui kertas saring (sampai bening). Penambahan akuades berikutnya dilakukan sampai volume mencapai satu liter.

Pemeriksaan pH medium dilakukan dengan penetesan KOH 1 N atau HCl 1 N sambil diaduk sampai tercapai nilai pH 5.7-5.9.

Untuk pembuatan medium padat dapat ditambahkan agar 6-8 g/l medium dan diaduk merata. Selanjutnya larutan dipanaskan di atas api/pemanas sampai mendidih sambil diaduk dengan pengaduk magnetik supaya agar tidak menggumpal.

Medium dituang ke dalam botol kultur (kira-kira 20 ml) kemudian ditutup dengan kertas alumunium. medium disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121°C dan tekanan 15 psi selama 20 menit.

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

Selanjutnya medium disimpan dalam lemari dan dibiarkan selama 3 hari untuk dilihat, terjadi kontaminasi atau tidak.

Sterilisasi Bahan Tanaman

Tunas tebu dipotong dari tanaman induknya (Gambar 3) kemudian disterilisasi dengan cara mencuci bagian luarnya dengan air sabun kemudian dibilas dengan air bersih beberapa kali. Bagian permukaan disepra dengan alkohol 70% dan dibuka helai daun terluar sehingga tersisa beberapa helai daun muda yang masih menggulung. Kemudian direndam dalam clorox komersial (NaOCl 5.25%) 10% selama 15 menit sambil dikocok-kocok. Selanjutnya dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sisa clorox. (Keterangan: perendaman dalam clorox dan pembilasan dengan air steril dilakukan dalam kotak transfer secara aseptik).

Inisiasi Kalus

Eksplan yang telah disterilkan dipotong-potong kira-kira 1-1.5 cm, lalu ditanam pada medium mineral Murashige dan Skoog padat dengan perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada taraf konsentrasi 4 mg/l, 6 mg/l dan 8 mg/l. Komposisi lengkap medium disajikan dalam Tabel Lampiran 1. Tujuannya untuk mencari konsentrasi yang cocok



Gambar 3. Contoh Bagian Tanaman yang Diisolasi dari Tanaman Induknya

untuk inisiasi dan pertumbuhan kalus tebu BZ 148. selanjutnya diinkubasi pada temperatur 8°C dalam ruang gelap selama 3 hari untuk menghambat terjadinya pencoklatan (pengalaman dari percobaan terdahulu). Kemudian dipindah ke ruang kultur dengan temperatur $25-27^{\circ}\text{C}$ dengan intensitas penyinaran 800-1 000 lux selama 16 jam per hari.

Pengamatan dilakukan terhadap waktu pemunculan kalus, jumlah eksplan yang menghasilkan kalus, tipe kalus, intensitas pertumbuhan kalus serta gejala pencoklatan. Percobaan dilakukan sebanyak 10 ulangan untuk tiap koncentrasi.



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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

Perbanyak Kalus (Proliferasi Kalus)

Eksplan berkalus yang telah berumur 3 bulan dipindahkan dengan cara dibagi menjadi beberapa potong (tergantung dari banyaknya kalus yang dihasilkan) dan ditanam pada medium proliferasi (Tabel Lampiran 1). Kemudian disimpan dalam ruang kultur dengan temperatur 25-27°C. Pengamatan dilakukan terhadap kecepatan pertumbuhan kalus.

Pemeliharaan kalus yang telah mengalami diferensiasi dilakukan pada medium berkomposisi sama dengan medium proliferasi hanya ditambah dengan kinetin 1 mg/l.

Perlakuan Herbisida

Pembuatan medium. Pembuatan medium untuk perlakuan herbisida dilakukan dengan mencampur bahan-bahan sesuai dengan komposisi yang tercantum pada Tabel Lampiran 1. Untuk kontrol medium langsung dibagikan ke dalam botol-botol kultur sebelum diautoklaf. Sedangkan medium yang akan ditambah glifosat dibagikan ke dalam beberapa labu erlenmeyer besar yang telah diberi label untuk masing-masing perlakuan. Labu erlenmeyer ditutup dengan kertas alumunium selanjutnya diautoklaf bersama-sama dengan medium kontrol. Lama sterilisasi 20 menit dengan temperatur 121°C dan tekanan 15 psi.



Penambahan glifosat (98.28%). Penyaringan dan pen-campuran herbisida dilakukan secara aseptik dalam *laminar air flow cabinet* (kotak transfer). Bahan dan alat yang perlu disiapkan sebelum melakukan pekerjaan ini adalah sebagai berikut: air steril untuk pelarut glifosat glifosat sebanyak perlakuan (masing-masing 500 ml), air steril pencuci alat penyaring, glifosat murni yang telah ditimbang sesuai keperluan untuk masing-masing perlakuan, kertas alumunium steril, alat penyaring herbisida *filter-millipore* berdiameter pori $0.45 \mu\text{m}$ yang telah disterilisasi dalam autoklaf dan alat pengisap, botol-botol kosong steril untuk penampung hasil saringan glifosat, botol-botol kultur steril yang tertutup untuk medium tumbuh yang mengandung glifosat.

Sementara menunggu medium dingin (namun jangan sampai menggumpal) dilakukan penyaringan glifosat sebagai berikut:

Glifosat bubuk yang telah ditimbang dilarutkan ke dalam air steril sampai larut betul. Kemudian disaring menggunakan *filtermillipore* dengan bantuan alat pengisap dan hasil penyaringan langsung ditampung dalam botol-botol steril yang telah dipersiapkan. Demikian untuk semua konsentrasi herbisida.



Penambahan herbisida ke dalam medium dilakukan sam-bil dikocok sampai merata betul, baru dituang ke dalam botol-botol kultur steril. Medium disimpan selama 3 hari untuk dilihat terkontaminasi atau tidak.

Penanaman koloni kalus. Penanaman dilakukan terhadap kalus dari medium proliferasi. Tiga koloni kalus tebu tiap satu botol kultur dengan perlakuan herbisida. Berat masing-masing koloni kira-kira 0.1 g.

Pengamatan dilakukan dengan melihat persen pertumbuhan kalus baru dalam tiap konsentrasi glifosat, struktur kalus, warna serta gejala pencoklatan. Pengamatan dilakukan sampai kalus kontrol tidak memperlihatkan pertumbuhan lagi. Untuk tiap konsentrasi terdapat 10 ulangan.

Perhitungan Hasil

Pengolahan data dilakukan dengan mencari persentase kalus yang tumbuh.

Pada percobaan inisiasi kalus tebu dihitung jumlah eksplan yang mampu menghasilkan kalus untuk tiap perlakuan. Jumlah perlakuan terdiri 3 taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yaitu 4 mg/l, 6 mg/l dan 8 mg/l. Masing-masing perlakuan dengan 10 ulangan.



Rumus:

$$\frac{\text{Jumlah eksplan yang menghasilkan kalus}}{\text{ulangan}} \times 100\%$$

Pada percobaan perlakuan herbisida, dihitung jumlah koloni kalus tebu yang memperlihatkan pertumbuhan kalus baru untuk tiap konsentrasi glifosat. Perlakuan terdiri dari 6 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Masing-masing perlakuan dengan 10 ulangan dan tiap ulangan terdiri dari 3 koloni kalus. Jadi dapat disebutkan tiap konsentrasi terdiri atas 30 koloni kalus tebu BZ 148.

Rumus:

$$\frac{\text{Jumlah koloni kalus yang memperlihatkan pertumbuhan kalus baru}}{\text{Total koloni kalus tiap konsentrasi}} \times 100\%$$

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.



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 menggunakan 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

Sterilisasi

Kondisi aseptik merupakan syarat utama dalam pekerjaan kultur jaringan. Apabila kondisi tersebut tidak tercapai, maka akan terjadi peristiwa yang disebut kontaminasi. Kontaminasi adalah tumbuh dan berkembangnya organisme pesaing yang tidak diharapkan. Oleh karenanya botol kultur, eksplan, medium dan udara dalam tabung haruslah benar-benar steril.

Dalam percobaan pendahuluan dilakukan beberapa perlakuan sterilisasi terhadap eksplan sebelum ditanam pada medium kultur, yang merupakan usaha pencegahan kontaminasi yang berasal dari eksplan di lapang. Percobaan sterilisasi ini ditujukan untuk mencari komposisi larutan pensteril yang paling sesuai bagi jenis eksplan daun muda tanaman tebu BZ 148.

Hasil pengamatan tercantum dalam Tabel 1. Diantara ketiga macam kombinasi perlakuan sterilisasi diketahui bahwa komposisi yang terdiri dari alkohol 70%, NaOCl (5.25%) 10% dan akuades steril; merupakan komposisi pensteril yang dapat dianggap paling sesuai. meskipun tingkat kontaminasi masih cukup besar yaitu 50% namun bahan-bahan pensteril tersebut tidak mematikan sel-sel jaringan yang ditanam. Karena diharapkan selain bahan pensteril

tersebut mampu mencegah kontaminasi, juga tidak menimbulkan efek samping yang merugikan pertumbuhan eksplan itu sendiri.

Tabel 1. Hasil Pengamatan pada Hari Ke-7 Terhadap Percobaan Sterilisasi Tebu (*Saccharum officinale L.*) Varietas BZ 148

| Bahan Pensteril | Waktu | Tingkat Kontaminasi | Kontaminan | Keterangan (> 50%) |
|---------------------------|--------|---------------------|------------------|--------------------|
| Alkohol 70% | 2' | 33.33% | bakteri cendawan | sel mati |
| CaOCl ₂ 80 g/l | 5' | | | |
| CaOCl ₂ 40 g/l | 5' | | | |
| Akuades steril | 3X | | | |
| <hr/> | | | | |
| HgCl ₂ 0.2% | 5' | 50% | cendawan | sel mati |
| Akuades steril | 5X | | | |
| <hr/> | | | | |
| Alkohol 70% | diseka | 50% | cendawan | sel hidup |
| NaOCl (5.25%) 10% | 15' | | | |
| Akuades steril | 3X | | | |

Menurut Liu (1984) bagian apikal dan daun muda yang masih menggulung dari tanaman tebu terbungkus rapat oleh daun pelindung, sehingga biasanya bagian ini bebas dari penyakit maka sterilisasi sebelum tanam untuk eksplan ini tidak terlalu penting. Namun ditemukan beberapa kasus dalam percobaan sterilisasi dan inisiasi kalus tebu pada penelitian ini, kontaminasi seringkali disebabkan oleh eksplan yang telah terinfeksi sejak di lapang pada

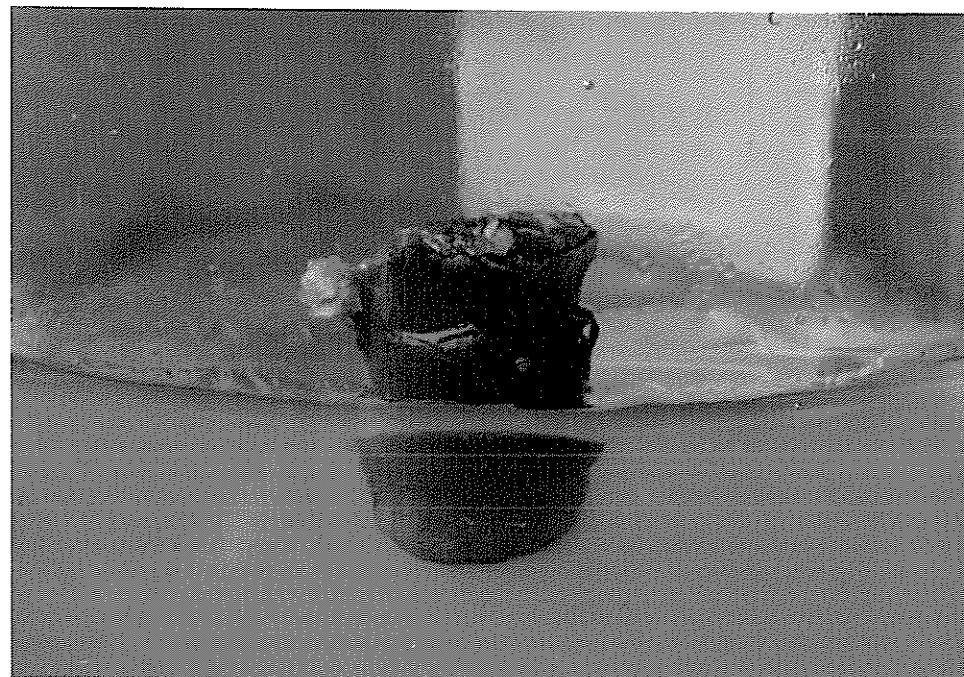


jaringan bagian dalamnya. Gejala ini terlihat berupa lingkaran berwarna jingga pada penampang melintang tunas tebu sebelum dilakukan sterilisasi. Gejala demikian lebih sering terlihat pada bagian pangkal daun dibanding pada bagian ujungnya. Hal ini dapat terjadi karena kemungkinan tertularnya penyakit pada tunas dari tanaman induknya. Dengan terlihatnya gejala tersebut lebih dapat dipastikan eksplan akan segera terserang bakteri begitu di tanam pada medium tumbuh, mengingat bahwa medium tumbuh eksplan juga merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikrorganisme. Hal ini tentunya akan mempengaruhi pertumbuhan eksplan berikut kemampuan dalam pembentukan kalus.

Inisiasi Kalus

Secara umum, dari hasil pengamatan terlihat bahwa eksplan mampu membentuk kalus pada setiap perlakuan medium dengan intensitas kalus yang tidak berbeda nyata antar perlakuan. Secara visual pembentukan kalus dimulai pada permukaan jaringan tanaman yang terluka, oleh karenanya dianjurkan posisi eksplan tegak dengan permukaan bawah yang terluka tertanam dalam agar dan permukaan atas yang terluka muncul di permukaan medium (Gambar 4).

muncul ke atas sedangkan sel-sel permukaan luar eksplan lebih sering mati yang diduga karena stres lingkungan.



Gambar 4. Posisi Eksplan Tegak pada Medium Tanam dan Terlihat Pertumbuhan Kalus dari Bagian Jaringan yang Terluka

Inisiasi kalus rata-rata terjadi antara minggu ke-2 sampai minggu ke-5. Inisiasi kalus tercepat yaitu pada minggu ke-2 sampai minggu ke-4 terjadi di medium dengan konsentrasi 8 mg/l 2,4-D. Selanjutnya diikuti oleh konsentrasi 4 mg/l dan 6 mg/l 2,4-D yaitu pada minggu ke-3 sampai minggu ke-5.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

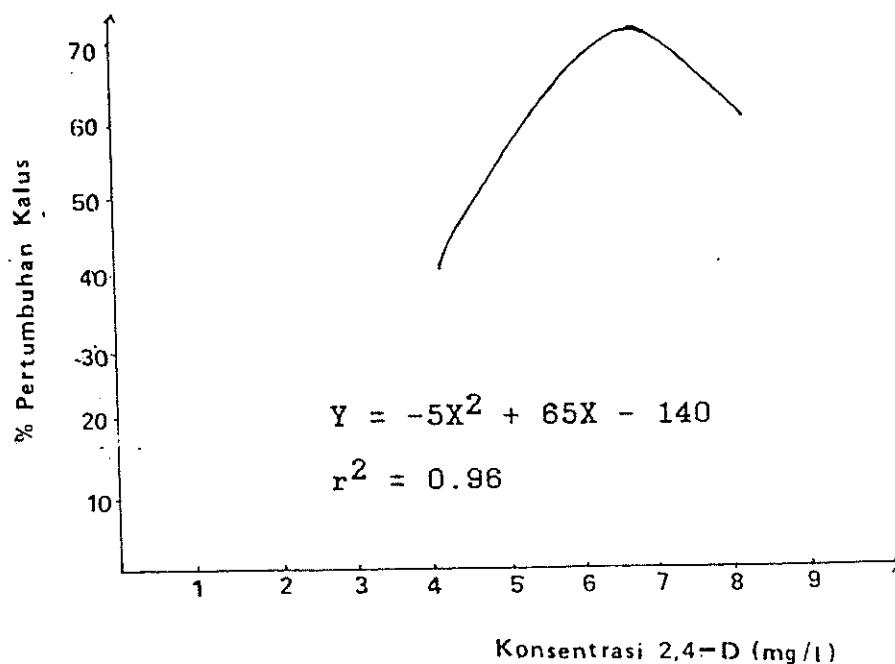
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

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

b. Pengutipan tidak menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

Persentase pertumbuhan kalus terbanyak terdapat pada medium dengan konsentrasi 6 mg/l 2,4-D yaitu sebesar 70%. Sedangkan pada konsentrasi 8 mg/l 2,4-D diperoleh 60% dan 40% pada konsentrasi 4 mg/l 2,4-D (Gambar 5). Dari data ini dapat diturunkan persamaan garis kuadratik $Y = -5X^2 + 65X - 140$, dengan nilai $Y_{\text{maks}} = 71.25\%$ pada $X = 6.5 \text{ mg/l}$ 2,4-D.



Gambar 5. Grafik Pertumbuhan Kalus *S. officinarum* L. Varietas BZ 148 pada medium Inisiasi Kalus

Tipe kalus yang diharapkan dalam percobaan ini adalah friabel, sehingga memudahkan perlakuan selanjutnya yaitu seleksi kalus yang toleran terhadap herbisida



glifosat. Karena sel-sel yang terpisah-pisah memungkinkan seluruh permukaan sel terkena senyawa kimia tersebut secara merata.

Kalus yang dihasilkan pada percobaan inisiasi kalus tebu ini ada tiga tipe yaitu tipe kalus kompak dengan struktur kalus yang padat, tipe kalus friabel dengan penampakan kalus yang lunak dan sel-selnya mudah dipisahkan dan tipe kalus kombinasi yaitu terdiri dari kalus kompak dan friabel dari satu sumber eksplan.

Di antara ketiga perlakuan konsentrasi 2,4-D tersebut kalus friabel dihasilkan paling banyak pada konsentrasi 8 mg/l 2,4-D sebanyak 30%. Pada konsentrasi 6 mg/l 2,4-D dihasilkan 20%, sedangkan pada konsentrasi 4 mg/l 2,4-D sebanyak 0%.

Kematian eksplan terbesar terdapat pada medium dengan konsentrasi 8 mg/l 2,4-D yaitu eksplan mati sebelum kalus tumbuh. Kalaupun tumbuh, kalus seringkali berwarna kecoklatan dan tidak tahan lama apabila tidak segera dipindahkan ke medium segar. Hal ini diduga konsentrasi 8 mg/l 2,4-D terlalu tinggi bagi jaringan tebu BZ 148. Karena zat pengatur tumbuh 2,4-D (asam 2,4-Diklorofenoksi asetat) adalah jenis auksin kuat yang seringkali dipergunakan sebagai herbisida untuk membunuh gulma terutama dari golongan dikotil (Heddy, 1986; Wattimena, 1988;

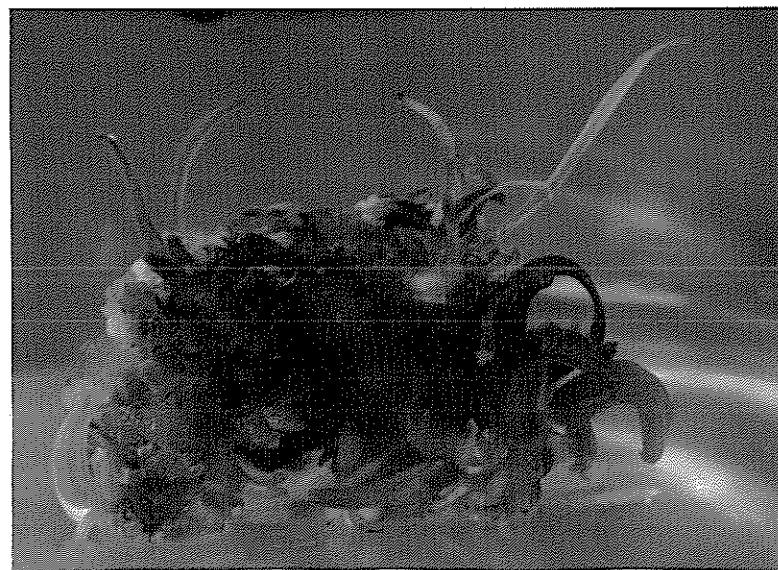
Fryer dan Matsunaka, 1988). Sedangkan konsentrasi 4 mg/l 2,4-D kurang memacu pertumbuhan kalus friabel, sehingga diambil alternatif bahwa konsentrasi 6 mg/l 2,4-D adalah konsentrasi yang paling memenuhi syarat untuk memacu pertumbuhan kalus dalam jumlah banyak dengan tipe kalus friabel yang dihasilkan cukup baik namun tidak banyak menyebabkan kematian jaringan.

Gambar 6 menunjukkan kalus dan tunas yang dihasilkan oleh eksplan daun muda dari tanaman tebu varietas BZ 148 pada umur 9 minggu, setelah ditanam pada medium dengan konsentrasi 6 mg/l 2,4-D yang tidak jauh berbeda dengan kalus dan tunas yang dihasilkan oleh kedua konsentrasi lainnya yaitu 4 mg/l dan 8 mg/l 2,4-D pada umur yang sama.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *S. officinarum* L. varietas BZ 148 ini memiliki kemampuan diferensiasi yang baik pada setiap perlakuan medium. Hanya pada 8 mg/l 2,4-D terlihat intensitas diferensiasinya semakin menuju. Rata-rata eksplan berdiferensiasi pada minggu ke-8 sampai minggu ke-11. Kebanyakan kalus lebih dulu membentuk daun, kemudian diikuti dengan pembentukan akar.

Peristiwa pencoklatan pada tahap inisiasi kalus tidak terlihat, mungkin karena perlakuan awal tanam eksplan yaitu penyimpanan dalam inkubator pada temperatur 8°C

dalam gelap selama 3 hari telah cocok untuk menekan pencoklatan pada tebu varietas 148 ini. Kalaupun ada pencoklatan yang terlihat pada medium tumbuh, seringkali karena ada bagian daun yang tidak terkena medium tumbuh sehingga mengering atau bagian jaringan yang mengering karena bahan pensteril.



Gambar 6. Kalus dan Tunas Umur 9 Minggu yang Dihasilkan pada Konsentrasi 6 mg/l 2,4-D

Proliferasi Kalus

Kalus yang ditumbuhkan pada suatu media perlu dipindahkan secara teratur dalam jangka waktu tertentu. Masa kultur yang panjang dalam media yang tetap akan mengalami kehabisan hara dan air, karena media menguapkan air dari masa ke masa. Selain kehabisan hara, sel-sel kalus juga



mengeluarkan senyawa hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan kalus itu sendiri. Oleh karena itu untuk menjaga kehidupan dan perbanyakannya yang berkesinambungan kalus yang dihasilkan perlu dipindahkan ke medium baru. Massa sel yang dipindahkan harus cukup banyak, supaya ada pertumbuhan yang cepat dalam media baru. Waktu yang tepat untuk memindahkan kultur tergantung dari kecepatan tumbuh kalusnya (Gunawan, 1987).

Pemindahan kalus ke medium proliferasi pada minggu ke-10 sampai minggu ke-12 setelah tanam eksplan. Mulanya pemindahan dilakukan ke medium proliferasi yang mengandung 1 mg/l kinetin dengan tujuan agar kalus memperbanyak diri, namun ternyata pada minggu ke-1 sampai minggu ke-3 setelah subkultur terlihat kalus mengalami differensiasi menjadi daun dan akar dengan pesatnya. Maka pada minggu ke-5 segera dilakukan pemindahan ke medium proliferasi tanpa kinetin, untuk menekan proses morfogenesis tersebut. Pengamatan sampai minggu ke-2 memperlihatkan adanya perkembangan kalus yang tidak begitu pesat.

Perlakuan Herbisida Glifosat

Perlakuan herbisida glifosat terhadap kalus tebu dilakukan dengan cara memindahkan kalus dari medium proliferasi (umur 2 minggu setelah pemindahan terakhir) ke medium baru yang telah mengandung herbisida.

Pengamatan terhadap pengaruh herbisida dilakukan selama 10-14 minggu. Hasil pengamatan secara umum menunjukkan bahwa daya toleransi *S. officinarum* L. varietas BZ 148 ini masih terlihat pada semua taraf konsentrasi herbisida yang diberikan. Namun tampak bahwa dengan meningkatnya konsentrasi herbisida, semakin sedikit kalus tebu yang memperlihatkan pertumbuhan kalus baru. Persentase pertumbuhan kalus optimum pada konsentrasi 20 ppm yaitu 36.7%. Hal ini dapat dimengerti karena konsentrasi glifosat murni 20 ppm setara dengan kandungan bahan aktif glifosat dalam 1 liter herbisida Roundup; dimana konsentrasi ini telah dipergunakan sebagai bahan yang dapat meningkatkan kadar sukrosa pada perkebunan tebu menjelang panen (*ripening*)¹. Sehingga konsentrasi ini tampaknya bahkan memberikan efek yang baik bagi pertumbuhan kalus *S. officinarum* L. varietas BZ 148.

Pertumbuhan kalus ini pesat sampai minggu ke-13, dengan warna kalus putih bersih dan tipe kalus friabel. Tipe kalus demikian juga masih terlihat dihasilkan pada konsentrasi glifosat 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm, hanya intensitas dan persentase pertumbuhannya semakin menurun

²Keterangan lisan Dr. Soekisman Tjitrosemito, MSc.



bersama kenaikan konsentrasi herbisida dalam medium tumbuh.

Pada histogram pertumbuhan kalus (Gambar 7) terlihat pertumbuhan kalus tebu justru lebih baik pada medium yang mengandung herbisida dibanding pada medium kontrol. Menurut Gunawan (1987) glifosat (N-fosfonometil-glisin) merupakan zat pengatur tumbuh yang tidak umum, yaitu senyawa yang mempunyai sifat mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Dan menurut Winata dan Harvey dalam Sherrington (1984) pada dosis subletal glifosat yang ditambahkan pada medium tumbuh dipergunakan untuk menginduksi kalus dari pucuk aksilar alfalfa dan dapat memberikan pengaruh yang sama dengan zat pengatur tumbuh yang umum. Meskipun demikian tidak semua konsentrasi glifosat dapat mendorong pertumbuhan kalus tebu BZ 148 ini lebih baik daripada pertumbuhannya pada medium kontrol. Konsentrasi yang tampaknya baik bagi pertumbuhan kalus tebu adalah 20 ppm (36.7%), 30 ppm (30%) dan 40 ppm (16.67%). Sehingga dapat dikatakan bahwa glifosat tidak selamanya memberikan efek yang kurang baik bagi pertumbuhan tanaman pada selang konsentrasi tertentu.

Pada Gambar 7 tersebut terlihat adanya sedikit peningkatan persentase pertumbuhan kalus baru yaitu mencapai 10% pada konsentrasi glifosat 60 ppm. Namun hal ini tidak dapat dikatakan bahwa konsentrasi tersebut

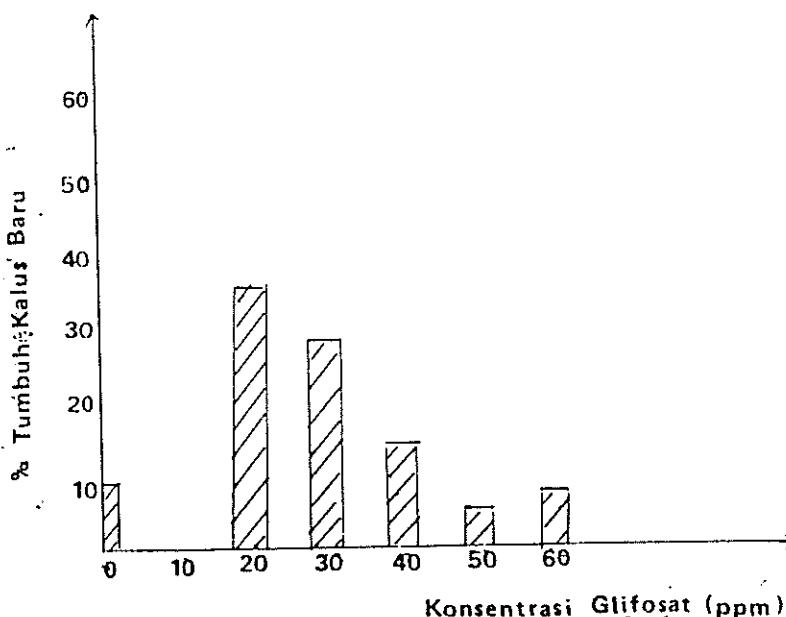
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

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.

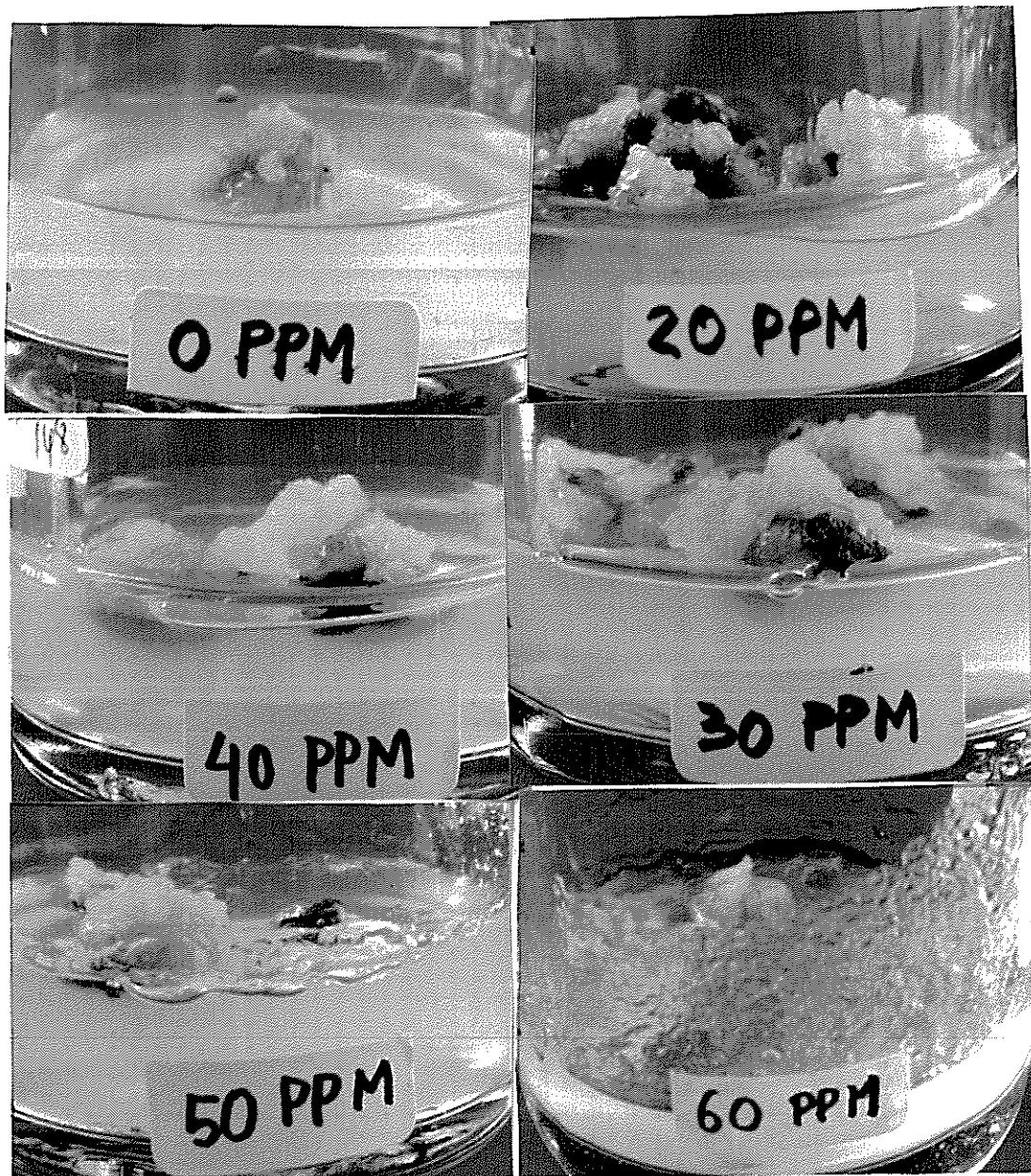
b. Pengutipan tidak menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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



Gambar 7. Histogram Pertumbuhan Kalus Baru dari *S. officinarum* L. Varietas BZ 148 pada Perlakuan Herbisida Glifosat (Pengamatan Minggu ke-10)

memberikan efek lebih baik terhadap pertumbuhan kalus apabila dibandingkan dengan konsentrasi 50 ppm yang ternyata menunjukkan persentase pertumbuhan kalus yang lebih rendah yaitu 6.67%. Kalus yang diperoleh pada konsentrasi 60 ppm ini lebih buruk dari kalus yang dihasilkan pada konsentrasi lainnya; kalus ini memiliki penampakan yang lembek dengan warna bening kecoklatan dan tampak tidak viabel. Sehingga dapat dikatakan bahwa kalus tebu varietas BZ 148 masih dapat mentolerir konsentrasi glifosat 60 ppm namun memberikan pertumbuhan dan perkembangan kalus yang buruk (Gambar 8).



Gambar 8. Perbandingan Visual Kalus Dalam Medium dengan Berbagai Tingkat Konsentrasi Glifosat (11 Minggu Setelah Perlakuan Herbisida)



Intensitas pertumbuhan kalus pada tiap konsentrasi semakin menurun dengan naiknya konsentrasi herbisida. Diperoleh intensitas maksimum pada konsentrasi glifosat 20 ppm.

Pencoklatan (*browning*) tidak nyata sampai minggu ke-14. Peristiwa terlihat pada beberapa konsentrasi glifosat dengan intensitas warna yang tidak tentu dan sejauh ini belum terlihat menyebabkan gangguan terhadap pertumbuhan kalus.

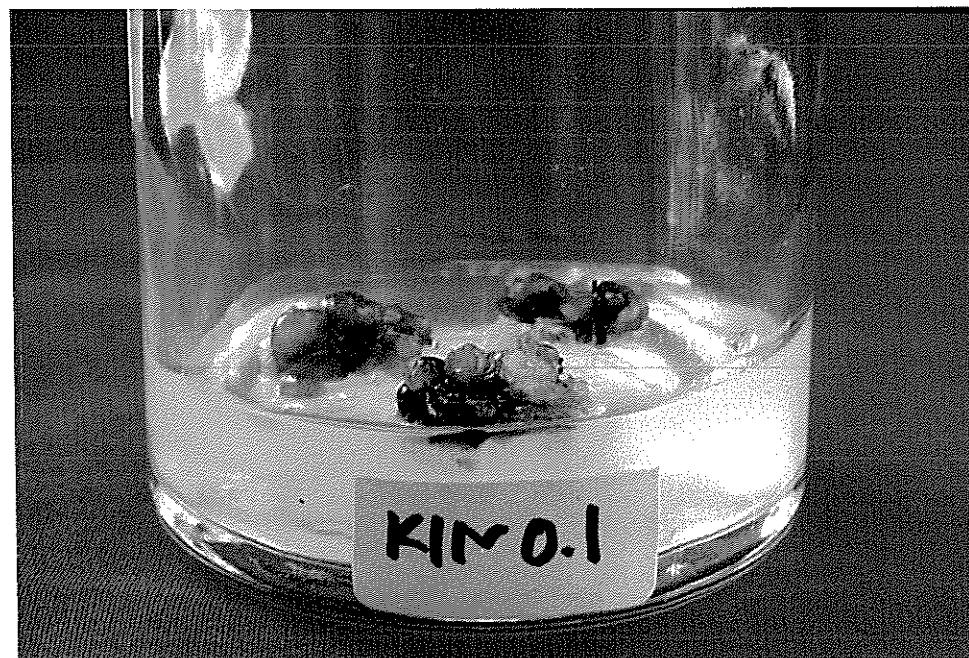
Gejala diferensiasi kalus pada perlakuan herbisida ini tidak begitu tampak sampai minggu ke-14. Hanya pada konsentrasi 20 ppm terlihat gejala ini sebanyak 30% berupa bintik-bintik ungu yang diperkirakan akan menjadi akar sedangkan pada konsentrasi 40 ppm dan 60 ppm hanya 1%.

Pada pengamatan warna kalus tampak warna hangus dan kecoklatan terdapat pada sebagian besar permukaan kalus baik pada medium kontrol maupun perlakuan herbisida lainnya. Menurut George dan Sherrington (1984) pemakaian medium yang hanya mengandung 2,4-D setelah beberapa waktu bila tidak dilakukan subkultur, maka kalus akan berubah menjadi berwarna coklat atau hitam. Keadaan ini dapat disebabkan oleh penggunaan 2,4-D yang merupakan auksin kuat sehingga dapat mematikan sel atau jaringan tanaman. Penambahan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin

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

ternyata dapat memperbaiki pertumbuhan kalus. Hal ini selaras dengan percobaan pemindahan kalus kontrol umur 11 minggu setelah perlakuan herbisida ke medium proliferasi yang mengandung 0.1 mg/l kinetin, ternyata 2 minggu kemudian kalus mulai memperlihatkan pertumbuhan (Gambar 9).

Kemungkinan lain dari perubahan warna kalus menurut pendapat Gunawan (1987) bahwa sel-sel heterogen dapat muncul selain dari bahan asalnya juga akibat subkultur berkali-kali.



Gambar 9. Pertumbuhan Kalus Baru Setelah Pemindahan ke Medium dengan Kinetin 0.1 mg/l dari Medium Kontrol (Minggu Ke-2)



Kecepatan perubahan warna hangus terlihat meningkat dengan naiknya konsentrasi herbisida, yaitu pada minggu ke-7 untuk konsentrasi 0 ppm sampai 50 ppm dan minggu ke-4 untuk konsentrasi 60 ppm. Diduga terdapat interaksi antara faktor-faktor di atas dengan glifosat terhadap sel-sel tebu yang peka, dimana hal ini semakin tampak dengan naiknya konsentrasi herbisida.



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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bahan pensteril yang baik adalah yang dapat mencegah kontaminasi, namun tidak menyebabkan kematian sel-sel eksplan yang ditanam.

Konsentrasi 6 mg/l 2,4-D (asam diklorofenoksi asetat) menghasilkan pertumbuhan kalus optimum sebanyak 70%, dengan tipe kalus friabel 20% dan intensitas pertumbuhan yang tidak berbeda dengan kedua konsentrasi lainnya. Konsentrasi ini dipergunakan pada tahap berikutnya yaitu proliferasi kalus dan perlakuan herbisida glifosat. Sedangkan dari persamaan kuadratik terdapat kemungkinan inisiasi kalus maksimum pada konsentrasi 6.5 mg/l 2,4-D sebanyak 71.25%.

Glifosat pada konsentrasi 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm bersama 6 mg/l 2,4-D, mampu memperbaiki pertumbuhan kalus tebu varietas BZ 148. Namun dengan meningkatkan konsentrasi glifosat pertumbuhan serta intensitas kalusnya semakin menurun.

Berdasarkan penampilan kalus, konsentrasi glifosat 50 ppm adalah konsentrasi maksimum yang dapat ditolerir oleh sel *S. officinarum* L. varietas BZ 148, dengan memberikan 6.67% kalus viabel.



- 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 menggunakan 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 agar penelitian dilanjutkan dengan uji regenerasi kalus tebu varietas BZ 148 yang diperkirakan toleran terhadap herbisida glifosat serta dilakukan uji ketahanan terhadap herbisida tersebut dalam bentuk tanaman lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., O. R. Madkar dan A. Arif. 1987. Penggunaan herbisida glifosat (Roundup) dan alachlor (Lasso) pada pengolahan tanah minimum untuk pertanaman tomat, kubis, petsai dan cabai merah. *Bulletin Peragi* 1(1):32-36.
- Anonim. 1979. Beberapa pengalaman tentang penggunaan herbisida Roundup dalam pemberantasan tumbuhan pengganggu di PN Perkebunan X. Makalah Simposium Herbisida Roundup ke III Medan 26-28 September 1979. Balai Penelitian Perkebunan Medan. 4 hal.
- Arif, A. 1979. Penggunaan herbisida Roundup dan prospek pengembangannya di Indonesia. Makalah Simposium Herbisida Roundup ke III Medan 26-28 September 1979. Balai Penelitian Perkebunan Medan. 6 hal.
- Bangun, P. dan H. Pane. 1984. Pengantar penggunaan herbisida pada tanaman pangan. *Bulletin teknik* (7):49.
- Chaleff, R. S. 1986. Selection for herbicide-resistant mutant, pp. 133-147. In D. A. Evans, W. R. Sharp and P. V. Ammirato (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 4. Macmillan Publishing Company, 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 Crop Improvement*. Science Press, Manila.
- Cole, D. J. 1985. Mode of action of glyphosate-a literature analysis, pp. 48-71. In E. Grossbard and D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth, London.
- Comai, L., D. Facciotti, D. M. Stalker, G. A. Thompson and W. R. Hiatt. 1985. Expression in plant of a bacterial gene coding for glyphosate resistance, pp. 329-337. In M. Zatkin (ed). *Biotechnology in Plant Science Relevance to Agriculture in The Eighties*. Orlando.

- Coupland, D. 1985. Metabolism of glyphosate in plants, pp. 25-34. In E. Grossbard and D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth, London.
- Duke, S. O. and R. E. Hoagland. 1985. Effect of glyphosate on metabolism of phenolic compounds, pp. 75-91. In E. Grossbard and D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth, London.
- Franz, J. E. 1985. Discovery, development and chemistry of glyphosate, pp. 3-17. In E. Grossbard and D. Atkinson (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth, London.
- Fryer, J. D. dan S. Matsunaka. 1988. Penanggulangan Gulma Secara Terpadu. Bina Aksara, Jakarta. 262 hal.
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetics ltd, Basingstoke. 790 p.
- Gunadi, T. 1979. Anggrek Dari Bibit hingga Berbunga. PAI Bandung/Priangan. 327 hal.
- Gunawan, L. W. 1987. Teknik Kultur Jaringan. PAU IPB, Bogor. 252 hal.
- Handro, W. 1981. Mutagenesis and in vitro selection, pp. 155-180. In T. A. Thorpe (ed). *Plant Tissue Culture*. Academic Press, London.
- Heddy, S. 1986. Hormon Tumbuhan. CV Rajawali, Jakarta. 97 hal.
- Hollander, H. and N. Armhein. 1980. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. *Plant Physiology* (66):823-829.
- Hutchinson, J. 1959. *The Families of Flowering Plants*, 2nd edition. The Clarendon Press, Oxford. 280 p.
- Jacobsen, H. J. 1983. Biochemical mechanism of plant hormone activity, pp. 672-695. In D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 1. Macmillan Publishing Company, New York.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Diarang 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 merupakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

- Liu, M. C. 1981. In vitro methods applied to sugarcane improvement, pp. 299-323. In T. A. Thorpe (ed). Plant Tissue Culture, Academic Press, London.
- _____. 1984. Sugarcane, pp. 573-591. In Sharp, Evans and Ammirato (eds). Handbook of Plant Cell Culture Crop Species. Macmillan Publishing Company.
- Majnu, M. 1975. Penumbuhan jaringan tanaman (plant tissue culture)-kegunaan dan teknik. Bulletin balai Penelitian Perkebunan Medan 6(1):151-157.
- Maliga, P. 1978. Resistance mutants and their use in genetic manipulation, pp. 381-392. In T. A. Thorpe (ed) Frontiers of Plant Tissue culture. Intern. Assoc. for Plant Tissue culture, Calgary.
- Mangoensoekardjo, S. 1979. Penelitian glyphosate pada tanaman perkebunan di Sumatera Utara. Makalah Simposium Herbisida Roundup Ke III Medan 26-28 September 1979. Balai Penelitian Perkebunan Medan. 5 hal.
- Meredith, C. P. and P. Carlson. 1982. Herbicide resistance in plant cell culture, pp. 275-289. In Le Baron and J. Gressel (eds). herbicide Resistance in Plants. John Willey & Sons.
- Nasution, I. M., S. Lubis, D. Siahaan dan Z. Abidin. 1987. Pengendalian gulma pada tebu yang diratoon di PTP IX. Gula Indonesia 13(2):33-35.
- Pierik, R. L. M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. martinus Nijhoff Publishers. 344 p.
- Sasongko, D. 1987. Gulma merambat di kebun tebu. Gula Indonesia 13(2):17-19.
- Sastrowijono, S. 1982. Tanda pengenal varietas tebu unggul F 154 (BZ 132), M 442-51 (BZ 148) dan PS 56 (BO 653). Bulletin Balai Penelitian Perusahaan Perkebunan Gula (88):1-8.
- Thompson, R. P. 1978. There was never been a herbicide like this before. Makalah Simposium Herbisida Roundup ke III Medan 26-28 September 1979. 32 hal.

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

- Tjitrosoedirdjo, S., I. H. Utomo dan J. Wiroatmodjo. 1984. Pengelolaan Gulma di Perkebunan tebu. PT Gramedia. 210 hal.
- Torres, K. C. 1957. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Van Nostrand Reinhold, New York. 285 p.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU IPB, Bogor. 145 hal.
- Windiharto, Supryanto, A. Kurnain dan C. Hidayat. 1987. Upaya dan organisasi pengendalian gulma di P. G. Cintamanis. Gula Indonesia 13(2):24-27.
- Vickery, M. L. and B. Vickery. 1981. Secondary Plant Metabolism. Univ. Park Press, Baltimore. 335 p.



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.

L A M P I R A N

Tabel Lampiran 1. Komposisi Medium Murashige dan Skoog dengan Modifikasi pada Inisiasi, Proliferasi dan Perlakuan Glifosat Terhadap Kalus *S. officinarum* L. Varietas BZ 148

| Nama Bahan/ Larutan Baku | Tahap Penelitian | | |
|--|------------------|-------------|---------------------|
| | Inisiasi | Proliferasi | Perlakuan Gli-fosat |
| -----mg/l----- | | | |
| NH_4NO_3 | 1 650 | 1 650 | 1 650 |
| KNO_3 | 1 900 | 1 900 | 1 900 |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 370 | 370 | 370 |
| KH_2PO_4 | 170 | 170 | 170 |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 440 | 440 | 440 |
| FeEDTA: | | | |
| a. Na_2EDTA | 37.25 | 37.25 | 37.25 |
| b. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 27.85 | 27.85 | 27.85 |
| Hara Mikro: | | | |
| a. KI | 0.85 | 0.85 | 0.85 |
| b. H_3BO_3 | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| c. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 22.3 | 22.3 | 22.3 |
| d. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 8.6 | 8.6 | 8.6 |
| e. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| f. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| g. $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0.025 | 0.025 | 0.025 |

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 menggunakan kepentingan yang wajar IPB University.

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

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

| Nama Bahan/ Larutan Baku | Tahap Penelitian | | |
|-----------------------------|------------------|-------------|---------------------------------|
| | Inisiasi | Proliferasi | Perlakuan Gli- fosat |
| -----mg/l----- | | | |
| Mio-inositol | 100 | 100 | 100 |
| Asam nikotinat | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Piridoksin-HCl | 0.1 | 4.0 | 4.0 |
| Tiamin-HCl | 0.1 | 0.4 | 0.4 |
| Glisin | 2 | 2 | 2 |
| Kinetin | 1 | - | - |
| Biotin | - | 0.2 | 0.2 |
| 2,4-D | 4 6 8 | 6 | 6 |
| Glifosat | - | - | 0 20 30 40 50 60 |
| Agar murni | 7.5 g/l | 7.5 g/l | 7.5 g/l |
| Sukrosa | 30 g/l | 30 g/l | 30 g/l |
| Air kelapa | 100 ml/l | 150 ml/l | 150 ml/l |
| pH medium | 5.7 | 5.7 | 5.7 |

Sumber: Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi,
FMIPA, Institut Pertanian Bogor