



## Research Article

DOI : 10.36728/afp.v22i2.3106

# PENGARUH PEMILIHAN EKSPLAN DAN VARIETAS TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN TEBU (*Saccharum Officinarum* L)

Yushi Mardiana<sup>\*1</sup>, Laili Dwi Putriani<sup>1</sup>, Pamuji Setyo Utomo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Kediri

\* E-mail: [yushimardiana@uniska-kediri.ac.id](mailto:yushimardiana@uniska-kediri.ac.id)

## ABSTRACT

Tissue culture is one of the appropriate plant propagation methods for producing superior seeds in large numbers and simultaneously. The aim of this research was to determine the effect of selecting different explants and varieties on callus induction in sugar cane plants. This research was carried out from March to May 2022 at the Tissue Culture Laboratory of the Sugar Research Center (Puslit) PTPN X Jengkol, Plosokidul Village, Plosoklaten District, Kediri Regency. The method used in this research was a Completely Randomized Design (CRD) which was arranged factorially with two replications. The first factor is the explant part of the sugar cane shoot (E) which consists of 6 levels, namely the 1st, 3rd, 5th, 7th, 9th and 11th pieces. The second factor is the types of varieties with different ripeness types (V) which consist of 3 levels, namely NX 01 (early ripe), Cenning (middle ripe), and PSDK 923 (slow ripe). Based on the data analysis that has been carried out, the results obtained are that the combination of treatment of sugarcane shoot explant parts (E) and varieties (V) shows a positive response to the callus emergence time variable with the fastest callus emergence being the combination of the 1st explant cutting treatment on the NX variety 01 with an average of 6.5 days. A single treatment of sugarcane shoot explant parts (E) had a very significant effect on the contamination percentage variable. The lowest contamination percentage observed in 11-th piece as 8,35%.

## KEYWORD

Keywords: Explant, Tissue Culture, Sugarcane Plants, Varieties

## INFORMATION

Received : 15 November 2023

Revised : 20 Desember 2023

Accepted : 23 Januari 2024

Volume: 24

Number: 1

Year: 2024

Copyright © 2024



by

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International Licence

## 1. PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Tanaman tebu merupakan bahan baku utama dalam pembuatan gula, baik gula pasir, gula merah, dan sebagainya. Tanaman tebu mengandung nira yang digunakan sebagai kristal-kristal gula dalam kebutuhan perindustrian. Industri gula turut andil dalam pertumbuhan perekonomian masyarakat dengan ekspor gula yang menambah devisa negara (Fitrianti, 2006 dan Sasangka, 2018).

Kebutuhan pasokan gula yang terus menerus meningkat di Indonesia akhir-akhir ini mengiringi meningkatnya kebutuhan pangan. Sehingga upaya perbanyak tanaman dalam jumlah yang besar perlu diupayakan khususnya pada tanaman tebu. Penyediaan bibit unggul pada tanaman tebu merupakan faktor penting dalam upaya pengembangannya. Dalam perbanyak tanaman tebu secara konvensional masih banyak keterbatasan dalam kemampuan menghasilkan bibit baru dalam jumlah banyak, seragam, dan dalam waktu singkat. Cara perbanyak tanaman tebu saat ini salah satunya melalui stek batang memiliki kelemahan yaitu memerlukan jumlah pohon induk yang banyak (Nurmalasari, et.al., 2013)

Salah satu upaya dalam perbanyak tanaman untuk mendapatkan bibit unggul dalam jumlah banyak dan serentak adalah melalui kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyak tanaman dan pemuliaan tanaman yang banyak dilakukan oleh pemulia saat ini. Menurut Fitrianti (2006), kultur jaringan telah diakui sebagai metode baru dalam perbanyak tanaman. Berbagai tanaman telah dikembangkan secara besar-besaran menggunakan teknik kultur jaringan, salah satunya adalah tanaman anggrek disusul dengan tanaman hias yang lain, sayuran, buah-buahan, pangan, dan tanaman hortikultura lainnya. Tanaman perkebunan dan kehutanan pun juga telah banyak diperbanyak melalui kultur jaringan. Tanaman yang dirasa secara ekonomi menguntungkan untuk diperbanyak secara kultur jaringan telah banyak dilakukan secara industrial. Tetapi terdapat beberapa tanaman yang kurang menguntungkan jika diperbanyak dengan kultur jaringan, seperti kecepatan penggandaan yang rendah, perlu banyak langkah untuk mencapai tanaman yang sempurna, dan tingginya tingkat penyimpangan genetik.

Penggunaan macam jaringan atau organ yang berbeda dalam kultur jaringan mempunyai tujuan yang berbeda-beda. Dalam aplikasinya, kultur jaringan memiliki banyak tipe dengan perbedaan jaringan yang digunakan dalam inisiasi. Keseluruhan tipe kultur memiliki tujuan masing-masing yang disesuaikan dengan visi misi dari dilakukannya kultur. Selain itu penggunaan tipe kultur yang tepat sesuai dengan jenis tanaman mempengaruhi keberhasilan teknik kultur jaringan (Sugiyarta et.al., 2010 dan Sugiyarta et.al., 2013).

Jenis eksplan merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Jenis eksplan yang digunakan menentukan tingkat keberhasilan dari mikropropagasi tanaman menggunakan sistem kultur jaringan. Berdasarkan penelitian Oratmangun et.al. (2017), diketahui bahwa penggunaan macam eksplan yang berbeda pada tanaman manggis menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada pengamatan yang dihasilkan. Penggunaan eksplan pucuk batang tanaman manggis merupakan penggunaan eksplan terbaik daripada eksplan nodus dan internodus.

Eksplan tebu yang sering digunakan adalah daun muda tebu yang masih menggulung. Eksplan didapatkan dari pucuk tebu yang dipotong tepat di atas meristem. Pada penelitian Minarsih et.al (2015), kalus yang dihasilkan dari eksplan daun muda tebu yang masih menggulung bersifat embrioid mengalami peningkatan yang besar mulai subkultur kedua dan memberikan hasil tertinggi pada subkultur kelima. Kalus embriogenik memiliki kelebihan mudah diregenerasikan dibanding kalus non embriogenik karena mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk organ (tunas, daun, dan akar) (Pudyastuti et.al, 2012).

## 2. METODE

### 2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan pada bulan Maret hingga Mei 2022. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Gula (Puslit) PTPN X Jengkol Desa Plosokidul Kecamatan Plosoklaten Kabupaten Kediri.

### 2.2. Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, tabung Erlenmeyer, botol kultur, pH meter, autoklaf, laminar air flow, hot plate dengan pengaduk bermagnet, baskom, spidol, pinset, jarum ose, aluminium foil, rak plastik, gelas ukur, nampan, scalpel, korek api, masker, sarung tangan, dan jas laboratorium.

#### b. Bahan

Bahan media yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan air kelapa dan auksin 2,4 D 1 mg/L. Sedangkan bahan sterilisasi yang digunakan adalah alkohol 70% dan aquades.

Bahan eksplan yang digunakan adalah pucuk tebu dari ketiga varietas yaitu NX 01, Cenning, dan PSDK 923 berumur 6 bulan, dipilih yang sehat dan bebas dari hama dan penyakit. Eksplan yang sehat dan bebas dari hama penyakit memiliki ciri yaitu daun tampak segar, tidak layu, serta tidak didapati adanya lubang atau goresan bekas luka yang disebabkan oleh hama daun ketika berada di lahan.

### 2.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan dua ulangan. Faktor pertama adalah bagian eksplan pucuk tebu yang meliputi potongan ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, ke-9 dan ke-11. Urutan potongan eksplan tebu tersebut dihitung mulai dari meristem apikal atau bagian yang paling bawah sebagai potongan pertama dan seterusnya. Faktor kedua adalah macam varietas dengan tipe pemasakan yang berbeda yaitu NX 01 (masak awal), Cenning (masak tengah), dan PSDK 923 (masak lambat).

Faktor I (bagian eksplan pucuk tebu)

- E1 = Potongan eksplan ke-1
- E2 = Potongan eksplan ke-3
- E3 = Potongan eksplan ke-5
- E4 = Potongan eksplan ke-7
- E5 = Potongan eksplan ke-9
- E6 = Potongan eksplan ke-11

Faktor II (Macam Varietas)

- V1 = Varietas NX 01 (masak awal)
- V2 = Varietas Cenning (masak tengah)
- V3 = Varietas PSDK 923 (masak lambat)

Setiap ulangan terdiri dari empat sampel, sehingga terdapat 144 botol kultur. Adapun perlakuan tersebut dipaparkan sebagai berikut :

E1V1 = Potongan eksplan ke-1 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E1V2 = Potongan eksplan ke-1 dari varietas Cening (masak tengah)  
E1V3 = Potongan eksplan ke-1 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)  
E2V1 = Potongan eksplan ke-3 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E2V2 = Potongan eksplan ke-3 dari varietas Cening (masak tengah)  
E2V3 = Potongan eksplan ke-3 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)  
E3V1 = Potongan eksplan ke-5 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E3V2 = Potongan eksplan ke-5 dari varietas Cening (masak tengah)  
E3V3 = Potongan eksplan ke-5 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)  
E4V1 = Potongan eksplan ke-7 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E4V2 = Potongan eksplan ke-7 dari varietas Cening (masak tengah)  
E4V3 = Potongan eksplan ke-7 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)  
E5V1 = Potongan eksplan ke-9 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E5V2 = Potongan eksplan ke-9 dari varietas Cening (masak tengah)  
E5V3 = Potongan eksplan ke-9 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)  
E6V1 = Potongan eksplan ke-11 dari varietas NX 01 (masak awal)  
E6V2 = Potongan eksplan ke-11 dari varietas Cening (masak tengah)  
E6V3 = Potongan eksplan ke-11 dari varietas PSDK 923 (masak lambat)

## 2.4. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi :

### a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yang meliputi logam dan gelas dicuci menggunakan sabun pencuci piring lalu dibilas menggunakan air bersih yang mengalir dan dikeringkan. Alat-alat yang berupa gelas disimpan dalam lemari penyimpanan agar terhindar dari debu dan kontaminan. Alat-alat yang berupa logam dimasukkan dalam Laminar Air Flow (LAF) lalu disterilisasi menggunakan sinar UV.

Sterilisasi alat bertujuan agar alat-alat yang digunakan untuk inisiasi pada kultur jaringan terbebas dari semua mikroorganisme yang tidak diinginkan. Sterilisasi alat juga bertujuan untuk meminimalisir kontaminasi pada kultur sehingga dengan terbebasnya alat dari seluruh mikroorganisme yang dapat mengganggu proses kultur jaringan diharapkan tingkat keberhasilan dari penelitian semakin tinggi.

### b. Pembuatan Media

Media merupakan faktor penting untuk keberhasilan kultur jaringan. Media yang digunakan harus sesuai dengan tanaman yang akan di kultur sehingga hasil yang didapatkan akan lebih maksimal. Untuk tanaman tebu media yang sering digunakan adalah media MS (Murashige & Skoog).

Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS (Murashige & Skoog) dengan penambahan zat pengatur tumbuh auksin 2,4 D dan air kelapa. Dipersiapkan terlebih dahulu stok media yang terdiri dari unsur hara makro dan unsur hara mikro yang

disebut stok A, B, C, D, E, dan F. Kemudian larutan stok A hingga F tersebut diencerkan dan disimpan dalam lemari pendingin.

Sukrosa ditimbang sebanyak 30 gram (untuk pembuatan media 1 liter) dimasukkan dalam Erlenmeyer dan ditambah aquades 800 ml, kemudian dilakukan pengukuran pH 5,8. Agar PA sebanyak 8 gram ditambahkan kedalam larutan sukrosa dan ditutup aluminium foil. Larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 110°C.

Larutan stok A dan B dipipet sebanyak 20 ml, sedangkan larutan stok C sampai F dipipet sebanyak 10 ml. Ditimbang inositol 0,001 gram, thiamine 0,0004 gram, piridoxine 0,004 gram, biotine 0,0002 gram, dan auksin 2,4 D dengan dosis 1 mg/L kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi sukrosa dan agar PA lalu ditambah air kelapa sebanyak 100 ml. Campuran bahan dalam Erlenmeyer diaduk menggunakan stirer dengan magnet pengaduk selama 5 menit. Larutan yang telah tercampur dimasukkan dalam botol kultur.

Botol kultur yang telah berisi media dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 118 oC untuk sterilisasi. Media kemudian disimpan di ruang penyimpanan media dengan suhu 20 oC. Setelah 7 hari media siap digunakan untuk penanaman eksplan.

Komposisi Medium Murashige dan Skoog (MS)

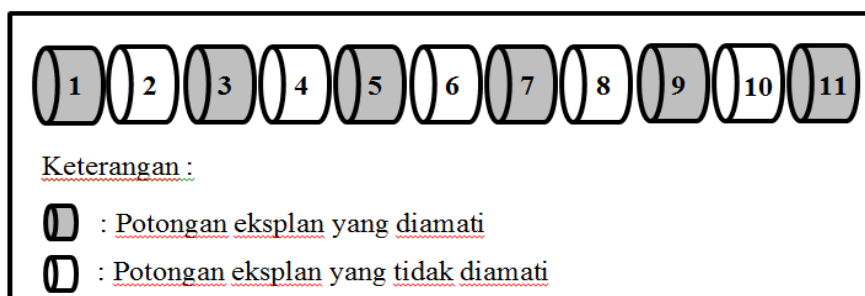
#### c. Persiapan Bahan Tanam

Sumber eksplan yang digunakan berasal dari daun muda tebu yang masih menggulung dari varietas NX 01, Cening, dan PSDK 923 yang berumur 6 bulan. Eksplan yang dipilih diambil dari tanaman yang sehat dan bebas hama penyakit.

Bahan eksplan dikupas pelepah luarnya lalu diambil sepanjang 15-20 cm dari meristem apikal. Kemudian eksplan dicuci menggunakan sabun pencuci piring untuk menghilangkan bakteri yang berasal dari asal eksplan yaitu yang terbawa dari lahan.

#### d. Penanaman Eksplan

Eksplan yang telah disiapkan dimasukkan dalam Laminar Air Flow (LAF) untuk dilakukan penanaman dengan peralatan yang telah disterilisasi. Eksplan yang ditanam dipotong diatas titik tumbuh. Daun muda tebu yang digunakan untuk eksplan memiliki panjang 5 cm. Eksplan disterilkan dengan dimasukkan alkohol 70% kemudian dilewatkan diatas api Bunsen burner lalu dikupas pelepah daun terluar hingga didapati diameter 0,5 cm. Bagian tersebut dipotong sebanyak 11 bagian dengan ketebalan 0,2-0,5 cm. Eksplan ditanam dalam botol kultur yang berisi media yang telah dipersiapkan satu minggu sebelumnya. Eksplan ditanam sesuai perlakuan yaitu hanya bagian eksplan potongan ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, ke-9 dan ke-11. Botol kultur kemudian ditutup menggunakan aluminium foil. Botol kultur dilewatkan diatas api bunsen burner sebelum dan sesudah ditutup dengan aluminium foil. Botol kultur yang telah berisi eksplan kemudian diinkubasi di ruang kultur dengan suhu ruangan 23<sup>o</sup>-25<sup>o</sup>C.



**Gambar 1.** Ilustrasi Pemilihan Potongan Eksplan

e. Perawatan dan Pengamatan

Perawatan dilakukan dengan mengamati terjadinya kontaminasi pada eksplan. Apabila ditemukan kontaminasi maka botol kultur akan dipisahkan dari botol kultur lainnya agar tidak merambat. Ruang kultur dipastikan dalam kondisi aseptik dan suhu ruangan antara 23° -25°C. Pengamatan dilakukan sesuai dengan prosedur pada variabel pengamatan.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Waktu Muncul Kalus

Pengamatan waktu munculnya kalus dilakukan untuk mengetahui kemampuan sel dari eksplan dalam beregenerasi dan berkembang menjadi kalus atau sekumpulan sel berdasarkan ketersediaan unsur hara dari media tanam. Berdasarkan hasil uji F, interaksi dari kedua faktor memiliki pengaruh yang sangat nyata terhadap variabel waktu muncul kalus. Faktor tunggal bagian eksplan pucuk tebu (E) dan macam varietas (V) juga memiliki pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu muncul kalus. Data waktu kemunculan kalus pada kombinasi perlakuan bagian eksplan pucuk tebu (E) dan macam varietas (V) disajikan dalam tabel berikut.

**Tabel 1.** Rata-Rata Waktu Muncul Kalus Pada Eksplan Yang Telah Diinisiasi

Perlakuan	Waktu Muncul Kalus (hari)	
E1V1	6,5	h
E1V2	8,875	c d e
E1V3	7,75	f g
E2V1	7,5	g h
E2V2	8,75	c d e f
E2V3	8,625	c d e f
E3V1	8,375	e f g
E3V2	8,875	c d e
E3V3	8,625	c d e f
E4V1	8,5	d e f g
E4V2	10,375	b
E4V3	8,75	c d e f
E5V1	9	c d e
E5V2	10,5	b
E5V3	9,125	c d e
E6V1	9,625	b c
E6V2	11,75	a
E6V3	9,5	b c d
BNJ 5%	1,047	

Keterangan : Angka-angka yang didampingi huruf sama pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5%.



Tabel 1 diatas menunjukkan rata-rata waktu muncul kalus pada kombinasi perlakuan bagian eksplan pucuk tebu (E) dan macam varietas (V) yang telah dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Dari tabel diketahui bahwa perlakuan terbaik adalah kombinasi perlakuan potongan eksplan ke-1 pada varietas NX 01 (E1V1) dengan waktu kemunculan kalus tercepat yaitu 6,5 hari tidak berbeda nyata dengan perlakuan potongan eksplan ke-3 pada varietas NX 01 (E2V1). Perlakuan terbaik E1V1 berbeda nyata dengan semua perlakuan selain E2V1. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lambat ditunjukkan oleh kombinasi perlakuan potongan eksplan ke-6 pada varietas Cenning (E6V2) yaitu 11,75 hari berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Hal tersebut disebabkan karena potongan awal terletak lebih dekat dengan meristem apikal atau biasa disebut meristem apeks atau pucuk. Meristem apikal berada tepat diatas primordium daun paling muda yang bersifat meristematis (Kusdianti, 2019). Pada tanaman tebu, meristem apikal berada pada ruas paling atas tanaman tebu (Pramanik dan Rachmawati, 2010). Meristem apikal mempunyai sel-sel yang masih sangat aktif membelah. Sel-sel yang lebih dekat dengan meristem apikal atau urutan potongan eksplan awal memungkinkan bahwa masih terjadi pembelahan secara aktif. Sehingga waktu kemunculan kalus semakin cepat terjadi daripada urutan potongan eksplan akhir yang semakin jauh dari meristem apikal. Dimana diketahui bahwa urutan potongan eksplan akhir lebih lambat dalam proses kemunculan kalus.

Meskipun proses kemunculan kalus lebih lambat tetapi pembengkakan terjadi hampir bersamaan pada setiap sampel eksplan pada keseluruhan potongan walaupun eksplan dari varietas Cenning sedikit lebih lambat dalam pembengkakan. Eksplan yang telah diinisiasi mengalami pembengkakan setelah dilakukan inkubasi pada ruang gelap sebelum kemunculan kalus. Pembengkakan dari eksplan menunjukkan bahwa eksplan tersebut telah melakukan respon pada media. Auksin yang ditambahkan kedalam media regenerasi in vitro berfungsi untuk menginduksi kalus, pembentukan kalus, dan pembentukan embrio somatik (Lutviana et.al, 2012). Media diserap oleh eksplan sebagai nutrisi untuk pembentukan kalus yang ditandai dengan tahap proliferasi (perbanyakkan sel) dengan ciri eksplan yang membengkak. Pembengkakan dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media. Zat pengatur tumbuh 2,4 D yang digunakan efektif dalam proses induksi kalus (Karyanti dan Tajudin, 2014). Auksin 2,4 D adalah auksin yang memiliki peran dalam pembelahan, pembesaran, dan pemanjangan sel akibat ion organik dan molekul organik yang masuk kedalam sel yang terjadi setelah eksplan merespon media dibawahnya (Argaloka, 2013).

### 3.2. Kontaminasi

Kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini memiliki beberapa jenis yaitu kontaminasi oleh jamur ataupun bakteri pada media dan eksplan yang diinisiasi. Kontaminasi menyebabkan media membusuk dan diikuti eksplan yang membusuk. Kontaminasi juga menyebabkan browning pada eksplan yang telah diinisiasi. Kontaminasi terjadi setelah dilakukan inisiasi eksplan pada media. Menurut Dwiyani (2015), kontaminasi dari mikroorganisme adalah permasalahan paling utama dalam kultur jaringan yang menyebabkan kegagalan. Kontaminasi membuat pengurangan jumlah eksplan yang dapat tumbuh dan apabila tidak diawasi dapat menular ke eksplan lain secara cepat. Oleh karena itu kondisi aseptik merupakan syarat penting dalam pelaksanaan kultur in vitro.

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam diketahui bahwa faktor tunggal macam varietas (V) dan bagian eksplan pucuk tebu (E) berpengaruh sangat nyata terhadap variabel kontaminasi. Sedangkan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap variabel kontaminasi. Data presentase kontaminasi dari perlakuan pengaruh bagian eksplan pucuk tebu (E) pada berbagai varietas (V) tersaji pada tabel dibawah ini.

**Tabel 2.** Rata-Rata Presentase Kontaminasi

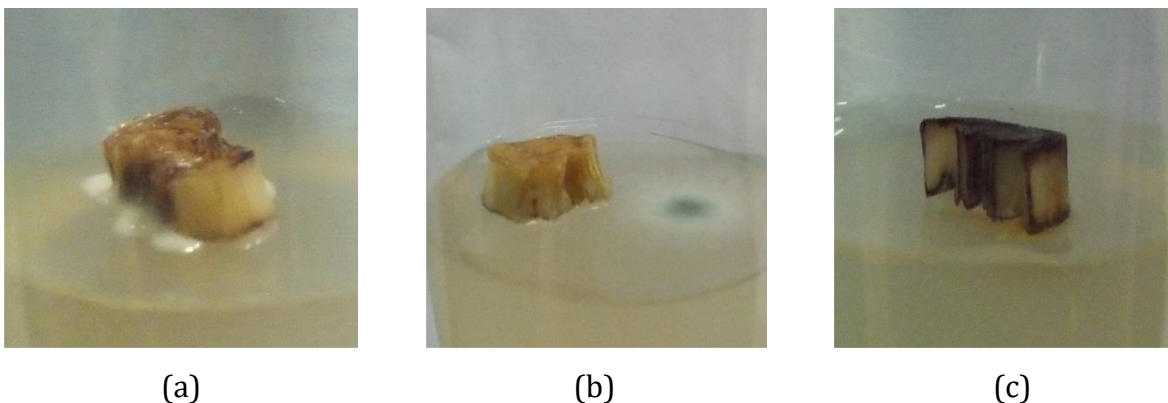
Perlakuan	Kontaminasi (%)	
E1	22,233	b c
E2	27,767	c
E3	13,9	a b
E4	13,9	a b
E5	11,133	a
E6	8,35	a
<hr/>		
BNT 5%	10,108	
<hr/>		
V1	18,075	b
V2	8,35	a
V3	22,217	b
<hr/>		
BNT 5%	7,148	

Keterangan : Angka-angka yang didampingi huruf sama pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

Tabel 2 diatas menunjukkan data rata-rata presentase kontaminasi yang telah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Pada tabel diketahui bahwa rata-rata presentase kontaminasi tertinggi diperoleh perlakuan potongan eksplan ke-3 (E2) yaitu 27,767% tidak berbeda nyata dengan perlakuan potongan eksplan ke-1 (E1) dan berbeda nyata dengan perlakuan bagian eksplan (E) yang lain. Sedangkan rata-rata kontaminasi terendah didapatkan oleh potongan eksplan ke-11 (E6) yaitu sebesar 8,35% tidak berbeda nyata dengan perlakuan E5, E4, dan E3.

Pada Tabel 2 diketahui bahwa rata-rata presentase kontaminasi tertinggi diperoleh varietas PSDK 923 (V3) dengan nilai 22,217 % tidak berbeda nyata dengan varietas NX 01 (V1) dan berbeda nyata dengan varietas Cenning (V2). Data paling rendah adalah varietas Cenning dengan rata-rata presentase kontaminasi sebesar 8,35%.

Kontaminasi yang ditunjukkan pada penelitian ini memiliki penampakan yang berbeda-beda. Kontaminasi lebih banyak muncul pada awal pengamatan yaitu pad 7 HST dan 14 HST. Setelah 21 HST dan seterusnya tidak terjadi kontaminasi pada kalus yang sedang terbentuk. Contoh dari kontaminasi yang terjadi tersaji pada gambar berikut.



**Gambar 2.** Kontaminasi (a) Kontaminasi bakteri yang berasal dari eksplan (b) kontaminasi jamur yang berasal dari media (c) Eksplan yang mengalami browning



Kontaminasi dapat terjadi karena perlakuan pada eksplan yang digunakan kurang tepat. Inokulan jamur dan bakteri yang berukuran sangat kecil membuat kontaminasi seringkali sulit untuk dicegah. Media kultur yang mengandung gula dan nutrisi lainnya untuk pertumbuhan eksplan sangat cocok sebagai tempat hidup mikroorganisme yang memerlukan sumber makanan untuk pertumbuhannya (Panglipur et.al,2013). Sehingga sedikit saja inokulan jamur yang ikut masuk dalam media kultur pada saat inisiasi ataupun sterilisasi maka akan dengan mudah untuk tumbuh dan berkembang dalam botol kultur selama masa inkubasi. Media dan eksplan dapat terkontaminasi oleh jamur karena merupakan substrat yang baik bagi pertumbuhannya (Oratmangun et al, 2017). Pencegahan kontaminasi dapat dilakukan dengan metode sterilisasi yang tepat pada eksplan dan media. Selain itu tindakan yang tepat saat dilakukannya inisiasi juga mempengaruhi tingkat kontaminasi yang terjadi.

Pada kasus lain, kontaminasi dapat terjadi apabila subkultur dilakukan terlambat. Subkultur pada waktu yang tepat dilakukan untuk menghindari kontaminasi dan kematian sel pada kalus yang telah berproliferasi (Permanik dan Rachmawati, 2010). Pada penelitian ini, subkultur dilakukan pada pengamatan terakhir yaitu 35 HST. Waktu tersebut sangat tepat untuk subkultur kalus tebu karena kalus tebu belum mengalami penurunan kecepatan pertumbuhan (Rasullah et.al., 2013).

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- a. Terjadi interaksi nyata antara perlakuan pemilihan eksplan tebu dan varietas terhadap pengamatan waktu muncul kalus. Kombinasi perlakuan potongan eksplan ke-1 pada varietas NX 01 menghasilkan waktu kemunculan kalus tercepat yaitu 6,5 hari.
- b. Terjadi pengaruh tunggal dari perlakuan pemilihan bagian eksplan tebu terhadap pengamatan persentase kontaminasi. Persentase kontaminasi terendah diperoleh dari potongan eksplan ke-11 yaitu sebesar 8,35%

#### DAFTAR PUSTAKA

- Argaloka, Aland Yusro. 2013. Pengaruh Kombinasi ZPT BAP dan 2,4 D terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Kotiledon Akasia (*Acacia mangium*) Pada Media MS. Undergraduate thesis Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Dwiyani, Rindang. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Denpasar. Pelawa Sari "Percetakan & Penerbit"
- Fitrianti, Alia. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Dan Kinetin Pada Medium Ms Dalam Induksikalus Sambiloto Dengan Eksplan Potongan Daun. Semarang. Universitas Negeri Semarang.
- Karyanti, Juandi. dan T. Tajuddin. 2014. Kemampuan Tumbuh Eksplan *Jatropha curcas* L. Pada Media In Vitro yang Mengandung Hormon IBA dan BA. Jurnal Bis,oteknologi dan Biosains Indonesia Vo. 1 No.1
- Kusdianti, R. 2019. Jaringan Meristem. Jurnal Pendidikan Biologi FPMIPA
- Lutviana, A. Y. S. Manuhara, dan E. S. Wida. 2012. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (*Heliantus annuus* L.). Surabaya. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga
- Minarsih, Hayati. 2015. Pengaruh jumlah subkultur dan media sub-optimal terhadap pertumbuhan dan kemampuan regenerasi kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.). Menara

Perkebunan 2016 84(1), 28-40

- Nurmalasari, T. Nurhidayati, dan Y. Remita. 2013. Pengaruh Medium MS dengan Penambahan Arginin 100 ppm Terhadap Pertumbuhan Tunas Apikal Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI. Jurnal Sains dan Seni POMITS Vol. 2, No.1
- Oratmangun, Kristina M., D. Pandiangana, dan Febby E. Kandou. 2017. Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE 6 (1) 47-52
- Panglipur, Dhewyangga Bismi, L. Sulistyowati, A. Muhibuddin, dan N. Hidayah. 2013. Uji Ketahanan Kalus Kultivar Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Penyakit Pokahbung Menggunakan Filtrat Kultur *Fusarium Moniliforme* Secara In Vitro. Jurnal HPT Vol. 1 No. 4
- Pramanik, D. dan F. Rachmawati. 2010. Pengaruh Jenis Media Kultur In Vitro dan Jenis Eksplan Terhadap Morfogenesis Lili Oriental. J. Hort. 20 (2)
- Pudyastuti, Sri, N. A. Habibah, dan Sumadi. 2012. Efektivitas SPT 2,4 D Pada Medium MS dan aLama Pencahayaan Untuk Menginduksi Kalus Dari Kotiledon Kedelai. Biosantifika 4 (1)
- Rasullah, Fintha Fenia Fatwa, Tutik Nurhidayati, Nurmalasari. 2013. Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 secara in viro pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin. JURNAL SAINS DAN SENI POMITS Vol. 2, No.2
- Sasangka, Niko Dwi. 2018. Pengaruh Macam dan Dosis Auksin Terhadap Induksi Kalus Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. Skripsi. Kediri. Universitas Islam Kediri.
- Sugiyarta, Eka, H. Budhisantosa, W. B. Widyasari, S. Lindawati, dan L. Koesmihartono Putra. 2013. Deskripsi Tanaman Tebu Varietas PSDK 923. Pemerintah Provinsi Jawa Timur.
- Sugiyarta, Eka, Kusmiyanto, A. Praptono, D. Heru, S. Sulu, B. Gandong, Sulistyana, dan Mardiyana. 2010. Deskripsi Tanaman Tebu Varietas Cenning. Dinas Perkebunan Provinsi Sulawesi Selatan.