

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Tanaman Tebu

Tanaman tebu (*Saccharum Officinarum* L) merupakan tanaman perkebunan semusim penghasil gula. Tanaman tebu adalah salah satu anggota famili rumput-rumputan (*Graminae*) yang merupakan tanaman tropis, namun masih dapat tumbuh baik dan berkembang di daerah subtropis, pada berbagai jenis tanah dari daratan rendah hingga ketinggian 1.400 m di atas permukaan laut (dpl). Tanaman tebu diduga berasal dari Papua New Guinea. Pada tahun 8000 SM, tanaman ini menyebar ke Kepulauan Solomon dan Selandia Baru. Pada tahun 6000 SM tanaman ini menyebar ke Indonesia, Filipina dan India (Lahay, 2009).

Dalam sistem taksonomi tumbuhan, tanaman tebu termasuk ke dalam kingdom *Plantae*, divisi *Spermathophyta*, subdivisi *Angiospermae*, kelas *Monocotyledone*, ordo *Glumiflorae / Poales*, famili *Graminae / Poaceae*, subfamili *Panicoideae*, tribe *Andropogoneae*, genus *Saccharum*, spesies *Saccharum officinarum* L. (Indrawanto *et al.*, 2010). Menurut Wrigley pada tahun 1981 terdapat lima species *Saccharum* yaitu *Saccharum officinarum* L. ( $2n = 180$ ), *Saccharum spontaneum* L. ( $2n = 40-128$ ), *Saccharum barberi* Jeswiet ( $2n = 82-124$ ), *Saccharum sinense* Roxb.emend. Jeswiet ( $2n = 82-124$ ), dan *Saccharum robustum* brandes et Jeswwit ex Grassl ( $2n = 60-194$ ) (Lahay, 2009).

Pada buku-buku tebu terletak mata tunas yang dapat tumbuh menjadi kuncup tanaman baru dan terdapat mata akar tempat keluarnya akar untuk kehidupan kuncup tersebut. Batang tebu bersifat keras, tidak bercabang, dan di penampangnya terdapat lingkaran. Batang tebu juga memiliki lapisan lilin yang berwarna putih keabu-abuan dan biasanya banyak terdapat pada batang yang masih muda (James, 2004).

Bentuk daun tebu berwujud helaian dengan pelepah seperti pita berseling kanan dan kiri. Daun tebu merupakan daun tidak lengkap, yang terdiri dari helai daun dan pelepah daun, serta tidak memiliki tangkai daun. Tulang daun sejajar, di tengah berlekuk. Tepi daun kadang-kadang bergelombang serta berbulu keras (Indrawanto *et al.*, 2010).

Bunga tebu berupa malai dengan panjang antara 50—80 cm. Cabang bunga pada tahap pertama berupa karangan bunga dan pada tahap selanjutnya berupa tandan dengan dua bulir panjang 3—4 mm. Terdapat pula benangsari, putik dengan dua kepala putik dan bakal biji (Indrawanto *et al.*, 2010). Sistem perakaran tebu berbentuk serabut, tebal, dan berwarna putih. Akar tebu juga dapat berkembang menjadi akar setek yang berfungsi sebagai jangkar tanaman sehingga tebu dapat berdiri kokoh dan akar dapat tumbuh ke bawah tanah hingga 5 m sehingga memungkinkan untuk menyerap asupan air dan nutrisi dari tanah (Miller dan Gilbert, 2006).

Struktur tanah yang baik untuk pertanaman tebu adalah tanah yang gembur sehingga aerasi udara dan perakaran berkembang sempurna. Tanaman tebu tumbuh dengan baik pada tanah yang memiliki pH 6—7,5, akan tetapi masih

toleran pada pH antara 4,5—8,5. Dalam masa pertumbuhan tanaman tebu membutuhkan banyak air, sedangkan saat masak tanaman tebu membutuhkan keadaan kering agar pertumbuhan terhenti. Apabila hujan tetap tinggi maka pertumbuhan akan terus terjadi dan tidak ada kesempatan untuk menjadi masak sehingga rendemen menjadi rendah (Indrawanto *et al.*, 2010).

## **2.2 Kultur Jaringan**

Kultur jaringan adalah teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* baik berupa sel, jaringan, organ secara aseptik pada media kultur yang mengandung hara yang lengkap dalam kondisi lingkungan yang terkendali untuk tujuan tertentu (Yusnita, 2003). Menurut Lestari (2011), kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam perbanyakan tanaman secara klonal untuk perbanyakan massal. Ahlowalia *et al.* (2004) mendefinisikan kultur jaringan sebagai cara untuk menumbuhkan dan memperbanyak sel, jaringan, dan organ tanaman pada media padat atau cair dalam kondisi aseptik dan lingkungan yang terkendali.

Berdasarkan bagian tanaman (sel, jaringan, dan organ) yang dikulturkan, terdapat beberapa tipe kultur yaitu kultur kalus, kultur suspensi sel, kultur embrio, kultur ovul, kultur akar, kultur pucuk tunas, kultur anter, dan kultur kuncup bunga. Semua jenis tipe kultur tersebut sering disebut dengan kultur jaringan. Kultur jaringan mengacu pada teori totipotensi sel yang menyebutkan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang

lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh, jika kondisinya sesuai (Yusnita, 2003).

Kultur jaringan dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril (*mother stock*) sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk memperbanyak selanjutnya (Lestari, 2008). Dalam memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan dapat ditempuh melalui dua jalur, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Jalur embriogenesis somatik di masa mendatang lebih mendapat perhatian karena bibit dapat berasal dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak dibandingkan melalui jalur organogenesis. Di samping itu, sifat perakarannya sama dengan bibit asal biji (Lestari, 2011).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses perkembangan sel somatik baik haploid maupun diploid menjadi tumbuhan baru melalui tahapan pembentukan embrio tanpa melalui fusi gamet (Ali *et al.*, 2008). Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati fase kalus). Keberhasilan akan tercapai apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Nugrahani *et al.*, 2011).

Metode kultur jaringan memerlukan beberapa tahap, yaitu (1) penyediaan bahan tanaman (eksplan) dari induk terpilih, (2) sterilisasi eksplan yang akan ditanam pada media inisiasi, (3) penanaman pada media untuk penggandaan atau

multiplikasi tunas, (4) penanaman pada media untuk perakaran atau pembentukan plantlet, dan (5) aklimatisasi (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

Pemilihan sumber eksplan dengan tepat akan menentukan keberhasilan perbanyakan secara *in vitro*. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif, karena mempunyai daya regenerasi yang tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih sehingga kecil kemungkinannya untuk terkontaminasi (Yusnita, 2003).

Media kultur terdiri dari beberapa komponen utama berupa garam mineral, gula sebagai sumber karbon, dan air (Prakash *et al.*, 2004). Komponen lainnya dalam media kultur yang sering digunakan adalah suplemen organik, pematat (gel atau agar-agar) dan zat pengatur tumbuh. Menurut Prakash *et al.* (2004), ekstrak tanaman juga sering digunakan sebagai campuran dalam media atau yang disebut adenda. Jenis adenda yang sering digunakan adalah air kelapa, jus tomat, dan ekstrak pisang, yang efektif dalam menyediakan campuran nutrisi organik dan ZPT yang belum terdefinisi dengan jelas.

Berbagai komposisi media kultur telah terformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Contohnya, komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg *et al.*, B5 (1976), Linsmaier dan Skoog-LS (1965), Murashige dan Skoog-MS (1962), serta Woody Plant Medium-WPM (Lloyd dan McCown, 1980) (Yusnita, 2003).

### 2.3 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah ( $<1$  mM) mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Dewi, 2008). ZPT merupakan salah satu komponen penting yang menentukan keberhasilan dalam memperbanyak tanaman secara kultur jaringan. ZPT berperan penting pada kultur jaringan dalam menentukan arah perkembangan eksplan yang dikulturkan (Yusnita, 2003; Trigiono dan Gray, 2010).

Dua golongan ZPT yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. ZPT ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur (Arimarsetiowati dan Ardiyani, 2012). Hidayat (2007) juga menyatakan bahwa auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media kultur jaringan dan diberikan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan. Dua ZPT ini adalah yang paling berperan dalam proses morfogenesis tanaman. Penggunaan ZPT yang tepat akan menentukan keberhasilan dalam memperbanyak *in vitro*.

Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Pierik, 1987). Untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik seringkali auksin diperlukan dalam konsentrasi yang relatif tinggi.

ZPT auksin diantaranya adalah : *indoleacetic acid* (IAA), *indolebutyric acid* (IBA),  *$\alpha$ -naphthaleneacetic acid* (NAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D). Di alam IAA diidentifikasi sebagai auksin yang aktif di dalam tumbuhan (*endogenous*) yang diproduksi dalam jaringan meristematik yang aktif seperti contohnya tunas, sedangkan IBA dan NAA merupakan auksin sintesis (Arimarsetiowati dan Ardiyani, 2012).

Sitokinin memiliki pengaruh yang luas sebagai efek pengatur, termasuk pertumbuhan, diferensiasi, dan berbagai macam stadium perkembangan tanaman. ZPT yang penting bagi kultur tunas pucuk dan tunas buku (nodus) adalah sitokinin (Purwanto, 2008). Sitokinin adalah senyawa turunan adenin dan berperan dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh dalam metabolisme sel, dan merangsang sel dorman serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel (Karjadi dan Buchory, 2008).

#### **2.4 Kultur Jaringan Tebu (*Saccharum officinarum* L.)**

Kultur jaringan tebu pertama kali dilakukan oleh Heinz dan Mee pada tahun 1969 dengan meregenerasikan kalus tebu secara *in vitro* menjadi tanaman tebu. Sejak tahun 1970 Taiwan *Sugar Research Institute* memulai pengembangan tebu secara intensif melalui teknik kultur jaringan. Pada tahun 1977 Nadar dan Heinz berhasil mengembangkan tunas dan akar tebu dari kalus dengan menggunakan 2, 4-D dan NAA (Supriyatdi, 2010).

Shahid *et al.* (2001) sebagaimana dilaporkan oleh Sarwar dan Siddiqui (2004) telah mengembangkan teknik kultur jaringan dengan menggunakan eksplan daun dan media MS (Murashige dan Skoog) dengan berbagai konsentrasi 2,4-D untuk pertumbuhan eksplan. Demikian pula, Sorory dan Hosien (2000) sebagaimana dilaporkan oleh Sarwar dan Siddiqui (2004) mengemukakan bahwa jika dibandingkan dengan eksplan dari jaringan daun muda dan meristem apikal tebu untuk inisiasi kalus, eksplan daun apeks membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk menghasilkan kalus.

Regenerasi kalus pada tebu dapat terjadi melalui dua pola regenerasi, yaitu embriogenesis dan organogenesis, atau kedua-duanya. Khan dan Khatri (2006) menunjukkan bahwa embrio yang terbentuk bisa saja berasal dari suspensor kecil yang tidak jelas kehadirannya.

Keberhasilan regenerasi tanaman tebu secara *in vitro* telah banyak dilaporkan antara lain produksi dan regenerasi kalus, induksi tunas dan proliferasinya, serta induksi perakaran. Pada induksi kalus yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog) dengan auksin (2,4-D) 3 mg/l dan sitokinin (kinetin) 0,1 mg/l, untuk induksi tunas menggunakan kombinasi auksin (NAA) 2 mg/l dan sitokinin (BAP atau kinetin) antara 0,1—2 mg/l, sedangkan untuk induksi akar menggunakan auksin saja (IBA atau NAA) antara 1—3 mg/l (Farid, 2003; Chengalrayan *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2008; Gandonou *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2008; Behera dan Sahoo, 2009).

## 2.5 Mutasi dalam Pemuliaan Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Dalam bidang pemuliaan tanaman, teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki. Upaya meningkatkan keragaman genetik suatu tanaman dapat diperoleh melalui beberapa metode pemuliaan, antara lain introduksi, seleksi, hibridisasi dan mutasi.

Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba, acak, dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (*heritable*) (Melina, 2008). Mutasi juga dapat diartikan sebagai perubahan struktural atau komposisi genom suatu jasad yang dapat terjadi karena faktor luar (mutagen) atau karena kesalahan replikasi.

Peristiwa terjadinya mutasi disebut mutagenesis. Makhluk hidup yang mengalami mutasi disebut mutan dan faktor penyebab mutasi disebut mutagen (*mutagenic agent*) (Wariant, 2011). Mutasi dapat terjadi pada setiap bagian tanaman dan fase pertumbuhan tanaman, namun lebih banyak terjadi pada bagian yang sedang aktif mengalami pembelahan sel, misalnya pada tunas, biji, dan bagian tanaman yang lain (Melina, 2008).

Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (*spontaneous mutation*) dan dapat juga terjadi melalui induksi (*induced mutation*). Secara mendasar tidak terdapat perbedaan antara mutasi yang terjadi secara alami dan mutasi hasil induksi.

Keduanya dapat menimbulkan variasi genetik untuk dijadikan dasar seleksi tanaman, baik seleksi secara alami (*evolusi*) maupun seleksi secara buatan

(pemuliaan) (Lestari, 2012). Mutasi spontan (alami) adalah mutasi (perubahan materi genetik) yang terjadi akibat adanya sesuatu pengaruh yang tidak jelas, baik dari lingkungan luar maupun dari internal organisme itu sendiri (Warianto, 2011)

Mutasi buatan merupakan mutasi yang secara sengaja dilakukan sebagai salah satu cara untuk menimbulkan keragaman genetik. Mutasi secara buatan ini dapat dilakukan melalui induksi baik secara fisik dan kimiawi. Mutasi secara fisik dapat dilakukan dengan iradiasi sinar radioaktif, misalnya sinar gamma. Mutasi secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia yang bersifat mutagen, diantaranya: *colchisin*, *dietil sulfat* (DES), *etilenamin* (EI), *nitroso etil urea* (ENU), *nitroso metil urea* (MNU), dan *etil metansulfonat* (EMS) (Broertjes dan Van Harten, 1988 dalam Melina, 2008).

Dengan berkembangnya teknik kultur *in vitro* untuk memperbanyak tanaman maka aplikasi mutasi dapat dikombinasikan dengan kultur *in vitro*. Melalui kombinasi kedua teknologi tersebut peluang mendapatkan mutan/somaklon baru meningkat. Misalnya mutasi dengan menggunakan iradiasi yang dilakukan secara *in vitro*.

Menurut Melina (2008), iradiasi memiliki peran penting dalam peningkatan keragaman tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, antara lain: 1) iradiasi memungkinkan untuk meningkatkan hanya satu karakter saja pada suatu kultivar, tanpa mengubah karakter genetik yang lainnya, 2) sebagian besar tanaman yang diperbanyak secara vegetatif memiliki sifat heterozygous, sehingga dapat menghasilkan keragaman yang tinggi setelah diradiasi, dan 3) teknik pertumbuhan tunas adventif dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*, sehingga mempermudah dalam proses *screening* di lapang.

Selain kelebihan di atas, mutasi juga memiliki beberapa kekurangan, yaitu mutasi hanya mempengaruhi secara efektif gen-gen yang sudah ada. Mutasi tidak dapat membentuk gen baru. Sifat mutasi yang acak dan tidak dapat diarahkan untuk bekerja pada gen yang spesifik juga merupakan batasan dalam penggunaan mutasi. Hal ini menyebabkan hasil yang akan didapat dari proses mutasi tidak dapat diramalkan. Selain itu, kerusakan pada struktur genetik akibat mutasi dapat berubah normal kembali sebelum termanifestasi sebagai mutasi dan terekspresi sebagai fenotipe mutan (Melina, 2008).

## **2.6 Iradiasi Sinar Gamma**

Iradiasi sinar gamma adalah salah satu contoh induksi mutasi fisik yang sering dilakukan untuk menginduksi tanaman guna menghasilkan mutan. Pada tahun 1900 sinar gamma ditemukan oleh P. Villard setelah ditemukannya sinar alpha dan beta oleh E. Rutherford dan F. Soddy (Melina, 2008). Radiasi adalah pancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel, atau gelombang elektromagnetik (foton) dari suatu sumber energi (Batan, 2008). Radiasi sinar gamma dipancarkan dari isotop radioaktif, panjang gelombangnya lebih pendek dari sinar X, dan daya tembusnya adalah yang paling kuat, kekuatannya hampir 1 miliar kali lebih besar dibandingkan radiasi sinar X (Hidayat, 2004).

Gray adalah satuan SI yang digunakan untuk dosis radiasi. Kesatuan dosis radiasi adalah banyaknya energi yang diserap terhadap suatu benda atau target. Satuan Gray sebanding dengan 100 rad (*radiation absorbed dose*) atau 1 Gray setara 100

rad (Van Harten, 1998; Melina, 2008). Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengetahui tingkat radiosensitivitas suatu tanaman terhadap iradiasi sinar gamma adalah dengan mengetahui *lethal dosis* ( $LD_{50}$ ) dari tanaman tersebut (Herison *et al.*, 2008).  $LD_{50}$  yaitu dosis yang hanya mengakibatkan kematian 50% dari populasi yang mendapat perlakuan.