

Regenerasi Tanaman dari Kalus Tebu yang Diiradiasi Sinar Gamma pada Medium dengan PEG 6000

Plant Regeneration of Gamma Ray Irradiated Callus of Sugarcane on the Medium with PEG 6000

Agus Purwito^{1*}, Nidya Ravenska¹, dan Awang Maharijaya¹

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 24 Maret 2016/Disetujui 26 11 Agustus 2016

ABSTRACT

Sugarcane cultivars tolerant to drought stress are needed for specific location. In vitro selection can be used to obtain plants tolerant to drought stress through regeneration of callus in the culture medium. The purpose of this study was to obtain regenerants from irradiated callus on the stress medium. The experimental design was a completely randomized design with two factors. The first factor was the regeneration medium (RG) added with PEG 6000, i.e., 0%, 5%, 10% and 15%, while the second factor was the dose of gamma ray irradiation i.e. 0 krad, 5 and 10 krad, and 15 krad. There were 12 treatments, each treatment was repeated 18 times and each repetition was a culture bottles planted with three chums of callus 10 mm diameter. RG medium was the MS medium added with 0.5 mg L⁻¹ BAP, Kinetin 0.1 mg L⁻¹ and IBA 1.0 mg L⁻¹. The higher the concentration of PEG, the less regenerants were produced. Regenerants could be generated from the selection medium PEG up to 15%. Several shoots still produced from callus irradiated with 10 krad. Selection medium with PEG up to 10% decreased the percentage of albino regenerants. The gamma ray irradiation dose and the concentration of PEG significantly affected the number of roots produced.

Keywords: drought tolerant, in vitro, polyethylene glycol, plantlets, albino

ABSTRAK

Penanaman tebu pada lokasi tertentu membutuhkan varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Seleksi in vitro dapat dipergunakan untuk mendapatkan tanaman yang toleran terhadap kekeringan melalui regenerasi tunas pada medium bercekaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan regeneran yang tumbuh pada medium seleksi dari kalus yang diiradiasi sinar gamma. Rancangan percobaan yang digunakan adalah acak lengkap dengan dua faktor percobaan. Faktor pertama adalah medium regenerasi (RG) yang ditambahkan PEG 6000 dengan 4 taraf konsentrasi, yaitu 0%, 5%, 10% dan 15%, sedangkan faktor kedua adalah dosis iradiasi sinar gamma dengan 3 taraf, yaitu 0 krad, 5 krad, dan 10 krad, sehingga terdapat 12 perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 18 kali dan setiap ulangan adalah satu botol kultur yang ditanami tiga klum kalus berdiameter sekitar 10 mm. Medium RG adalah medium MS yang ditambah BAP 0.5 mg L⁻¹, kinetin 0.1 mg L⁻¹, dan IBA 1.0 mg L⁻¹. Semakin tinggi konsentrasi PEG, semakin sedikit regeneran yang dihasilkan. Regeneran dapat dihasilkan dari medium dengan PEG sampai konsentrasi 15%. Sebagian besar regeneran dihasilkan dari kalus yang tidak diiradiasi yang ditanam pada medium tanpa PEG. Beberapa regeneran dapat dihasilkan dari kalus yang diiradiasi 10 krad. Medium regenerasi dengan PEG sampai 10% dapat mengurangi persentase regeneran albino dan meningkatkan tunas berwarna hijau sampai 50%. Kemampuan untuk memproduksi akar sangat ditentukan oleh dosis iradiasi dan konsentrasi PEG.

Kata kunci: cekaman kekeringan, in vitro, polietilene glikol, plantlet, albino

PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) di Indonesia awalnya ditanam di Pulau Jawa, namun untuk mencukupi kebutuhan konsumsi yang terus meningkat, pemerintah melakukan ekstensifikasi ke luar Jawa. Sebagian besar lahan di luar Jawa merupakan lahan kering dengan

sistem irigasi yang kurang baik (MurtiLaksono dan Anwar, 2014). Tanaman tebu memerlukan waktu 10-12 bulan mulai tanam sampai panen, sehingga harus menghadapi cekaman lingkungan dan faktor-faktor lain (Patade *et al.*, 2012). Kekeringan merupakan lingkungan tercekam yang menjadi salah satu kendala produksi tebu (Begum *et al.*, 2011). Salah satu upaya peningkatan produksi dalam lingkungan tercekam kekeringan ialah melalui penanaman varietas yang toleran.

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: apurwito@gmail.com

Varietas yang toleran cekaman dapat diperoleh melalui persilangan antar tetua, melalui tranfer gen (Vantini *et al.*, 2015), memanfaatkan bakteri endofit (Vargas *et al.*, 2014), seleksi tanaman menggunakan medium NaCl untuk toleransi terhadap cekaman salinitas, dan PEG atau mannitol untuk toleransi terhadap cekaman kekeringan (Errabii *et al.*, 2008; Begum *et al.*, 2011; Khumar *et al.*, 2011). Melalui teknik *in vitro*, kultivar yang toleran terhadap cekaman kekeringan dapat diperoleh dengan meregenerasikan tanaman dari kalus yang memiliki keragaman genetik pada medium seleksi menggunakan PEG (Begum *et al.*, 2011). Keragaman genetik kalus dapat ditingkatkan melalui iradiasi sinar gamma (Yaycili dan Alikamanoglu, 2012).

Penggunaan PEG (*poly ethylene glycol*) untuk seleksi terhadap cekaman kekeringan telah banyak dilakukan (Patade *et al.*, 2012; Afa *et al.*, 2013, Hemaprabha *et al.*, 2013). PEG ialah senyawa dengan berat molekul tinggi yang dapat larut air dengan sempurna (Patade *et al.*, 2012). PEG yang dilarutkan ke dalam air dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air dalam tanah dan dapat menurunkan potensial air secara homogen. Penurunan potensial air ini tergantung dari konsentrasi dan berat molekul PEG yang digunakan. Penggunaan PEG dalam kultur *in vitro* dapat mendekati kondisi kekeringan sebenarnya, karena PEG tidak diserap ke dalam jaringan tanaman. Dinding selulosa pada perakaran hanya dapat dilewati oleh PEG dengan berat molekul maksimum 3500 (Patade *et al.*, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah meregenerasikan kalus tebu varietas PSJT 941 yang diiradiasi sinar gamma dalam medium regenerasi yang ditambah PEG 6000. Tebu varietas PSJT 941 adalah varietas yang tahan terhadap beberapa hama dan penyakit, memiliki produktivitas dan rendaman yang tinggi serta agak toleran terhadap kekeringan (Ramadhan *et al.*, 2014).

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah gulungan daun paling muda dari tanaman tebu yang berumur 9 bulan di rumah kaca. Sterilisasi dilakukan dengan cara membakar pucuk tanaman tebu dalam nyala api bunsen setelah terlebih dahulu dicelupkan ke dalam alkohol 96%. Setelah dibakar, daun-daun dikupas sampai daun terdalam. Daun-daun paling muda yang diperoleh kemudian dipotong-potong dengan ukuran 3-4 mm dan ditanam pada medium induksi kalus (IK).

Induksi dan perbanyakkan kalus menggunakan medium IK yaitu medium dasar Murashige dan Skoog (MS) yang ditambah 2,4-D 3.0 mg L⁻¹ dan kinetin 0.1 mg L⁻¹, sedangkan medium regenerasi (RG) adalah medium MS yang ditambah BAP 0.5 mg L⁻¹, Kinetin 0.1 mg L⁻¹, dan IBA 1.0 mg L⁻¹ (Susiyanti *et al.*, 2007). Penelitian ini merupakan percobaan faktorial dengan 2 faktor yang disusun menggunakan rancangan acak lengkap. Faktor pertama adalah konsentrasi PEG 6000 dengan 4 taraf konsentrasi, yaitu 0%, 5%, 10%, dan 15%, yang ditambahkan pada medium RG, sedangkan faktor kedua adalah dosis iradiasi sinar gamma dengan 3 taraf, yaitu 0 krad, 5 krad, dan 10 krad, sehingga terdapat

12 perlakuan yang diulang sebanyak 18 kali. Setiap ulangan terdiri dari satu botol kultur yang ditanami 3 klum kalus tebu masing-masing berdiameter sekitar 10 mm.

Induksi kalus dilakukan dalam gelap selama 4-6 minggu pada medium IK, kemudian disubkultur pada medium yang sama sebanyak 3-4 kali untuk bahan percobaan. Kalus yang dihasilkan kemudian diiradiasi sinar gamma sesuai dengan perlakuan. Iradiasi sinar gamma dilakukan dengan menggunakan mesin Gamma Chamber 4000A (sumber Co-60 dengan aktivitas 1780, 5046 Ci) di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR), Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Jakarta. Kalus yang telah diiradiasi kemudian ditanam pada medium RG yang ditambah PEG 6000 sesuai perlakuan, tanpa pematid agar. Medium RG cair tersebut dilapisi busa dan kertas saring untuk menahan kalus agar tidak tenggelam dalam medium. Kultur kemudian diinkubasi pada ruang inkubasi dengan intensitas cahaya sekitar 1,000 lux dan lama penyinaran 16 jam per hari, pada suhu sekitar 25 °C.

Pengamatan pada medium regenerasi dilakukan setiap minggu selama 6 minggu terhadap jumlah regenerasi, tinggi tunas, jumlah akar dan warna regenerasi. Data yang diperoleh diuji secara statistik dengan uji F melalui analisis ragam (*anova*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi kalus adalah tahap pertama untuk mendapatkan keragaman secara *in vitro*. Eksplan yang ditanam dalam medium IK mulai membengkak pada umur satu minggu setelah tanam (MST) yang diawali dari pinggir eksplan. Pada umur 4-6 MST, eksplan telah menghasilkan kalus yang remah (*friable*) dan berwarna putih kekuningan. Kalus seperti ini umumnya memiliki potensi regenerasi yang tinggi. Kalus yang berumur lebih dari 8 minggu di medium IK menurun daya regenerasinya membentuk tunas dan segera membentuk akar. Oleh karena itu kalus harus disubkultur ke medium IK yang baru dan dipindahkan ke medium regenerasi pada 4-6 MST. Perbanyakkan kalus menggunakan medium IK yang disubkultur berulang kali pada medium yang sama dapat meningkatkan variasi somaklonal. Variasi somaklonal terjadi sebagai hasil dari proses endomitosis, atau karena perubahan struktur kromosom akibat terjadinya delesi, inversi atau translokasi selama kultur *in vitro*, sehingga menyebabkan perubahan genetik (Yaycili dan Alikamanoglu, 2012; Abdel-Raheem *et al.*, 2007). Tanaman tebu adalah tanaman poliploid yang tidak stabil, sehingga keragaman genetik antar sel somatikanya cukup tinggi (Begum *et al.*, 2011; Errabii *et al.*, 2008), oleh karena itu kalus tanaman tebu kemungkinan memiliki keragaman somaklonal yang tinggi pula.

Regenerasi Tunas

Kalus yang dihasilkan dari medium IK dapat dengan cepat beregenerasi membentuk tunas adventif setelah dipindahkan ke medium RG (Susiyanti *et al.*, 2007). Pada umur 2 MST, beberapa sel diantara kalus mulai beregenerasi

membentuk tunas. Pada medium dengan PEG 6000 regenerasi tunas terhambat, sehingga jumlah regenerasi menurun secara signifikan (Tabel 1). Kondisi tersebut disebabkan kalus menghadapi kendala dalam mengabsorpsi nutrisi, karena medium disimulasikan sama dengan kondisi kekeringan di lapang (Begum *et al.*, 2011; Bargava *et al.*, 2011). Beberapa kalus memproduksi antosianin berwarna merah muda, sebagai pertanda bahwa sel mengalami cekaman. Sel yang dapat beregenerasi menghasilkan tunas pada medium PEG kemungkinan adalah sel mutan putatif yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Penurunan jumlah regenerasi tersebut berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi PEG dalam medium dan hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya pada somaklon tebu (Begum *et al.*, 2011) dan pada *Cajanus cajan* (Khumar *et al.*, 2011). Terdapat interaksi antara konsentrasi PEG dengan dosis iradiasi sinar gamma yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi PEG dan dosis iradiasi, semakin sedikit regenerasi yang dihasilkan. Jumlah regenerasi terbanyak diperoleh dari kalus yang tidak diiradiasi sinar gamma dan ditanam pada medium tanpa PEG. Pada 6 MST, jumlah regenerasi yang tumbuh pada medium PEG 15% dari kalus yang tidak diiradiasi mencapai 22.8 regenerasi dan menurun menjadi 1.07 regenerasi jika kalus diiradiasi dengan dosis 5 krad, kemudian menurun rata-rata menjadi 0.24 regenerasi jika kalus diiradiasi dengan dosis 10 krad. Jumlah tunas regenerasi bertambah setiap minggu, dimana dengan meningkatnya konsentrasi PEG, jumlah tunas regenerasi yang terbentuk semakin sedikit (Gambar 1.A). Penelitian Hemon dan Sudarsono (2010) pada kacang tanah menunjukkan bahwa pembentukan embrio somatik sangat terhambat pada medium regenerasi dengan PEG 15%. Pada tanaman padi di lapangan, Afa *et al.* (2013) menggunakan

PEG 25% untuk mendeteksi ketahanan terhadap kekeringan. Konsentrasi PEG 6000 sebesar 5%, 10%, dan 15%, masing-masing adalah setara dengan -0.03, -0.19, dan -0.41Mpa.

Tunas regenerasi yang dihasilkan pada medium dengan PEG 15% sebagian besar berasal dari kalus yang tidak diiradiasi. Pada Gambar 1.B. dapat dilihat bahwa perlakuan iradiasi pada kalus sangat menghambat terbentuknya tunas regenerasi. Perlakuan iradiasi 5 krad menurunkan jumlah tunas sampai 60% dibandingkan dengan tanpa perlakuan iradiasi, sedangkan perlakuan iradiasi 10 krad, sebagian besar kalus tidak berkembang, berwarna coklat, dan mati setelah 2 MST. Kalus yang tidak diiradiasi dapat beregenerasi dan menghasilkan tunas yang banyak (Tabel 1). Gambar 2 menunjukkan adanya keragaman pertumbuhan tunas regenerasi antar perlakuan, baik karena pengaruh PEG maupun pengaruh dari iradiasi sinar gamma.

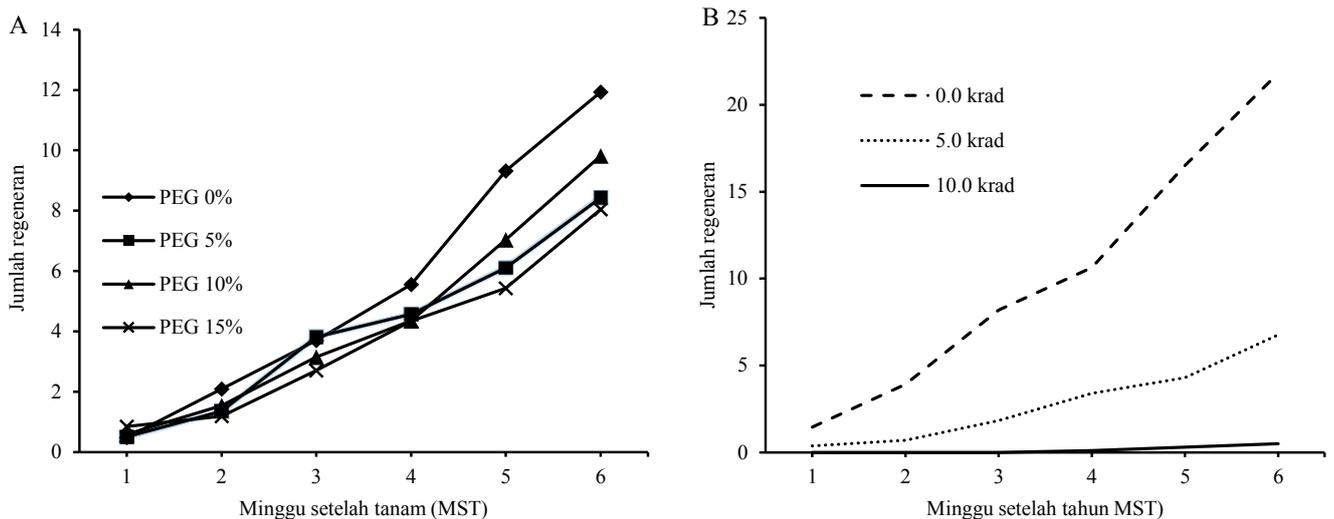
Perlakuan iradiasi untuk meningkatkan keragaman genetik dapat dilakukan baik pada biji, tunas, jaringan tanaman atau kalus. Perlakuan iradiasi pada kalus akan meningkatkan keragaman genetik pada setiap sel, sehingga apabila sel tersebut beregenerasi menjadi tanaman, maka kemungkinan untuk mendapatkan mutan solid sangat besar. Sebaliknya apabila bahan yang diiradiasi adalah biji atau tunas kemungkinan untuk mendapatkan tanaman kimera sangat besar.

Tunas-tunas yang dihasilkan dari kalus yang tidak diiradiasi dan tumbuh pada medium regenerasi dengan PEG 15% kemungkinan merupakan mutan putatif yang toleran terhadap kekeringan, karena tumbuh dari sel-sel yang memiliki keragaman somaklonal. Penelitian ini telah menghasilkan ratusan tunas regenerasi yang toleran terhadap PEG 15%, baik yang berasal dari kalus yang tidak diiradiasi maupun yang diiradiasi.

Tabel 1. Jumlah tunas regenerasi tanaman tebu dari kalus yang diiradiasi sinar gamma pada medium regenerasi dengan PEG 6000

Iradiasi (krad)	Konsentrasi PEG 6000 (%)			
	0	5	10	15
2 MST				
0	5.70a	2.67c	4.20b	3.15bc
5	0.57de	1.43d	0.43de	0.43de
10	0.00e	0.00e	0.00e	0.00e
4 MST				
0	12.19a	8.46b	11.00ab	10.87ab
5	4.50cd	5.24c	2.04de	1.87de
10	0.00e	0.00e	0.00e	0.28e
6 MST				
0	25.37a	16.52b	22.61a	22.80a
5	10.35c	8.78c	6.85c	1.07d
10	0.06d	0.00d	0.00d	0.24d

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama pada setiap MST tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam



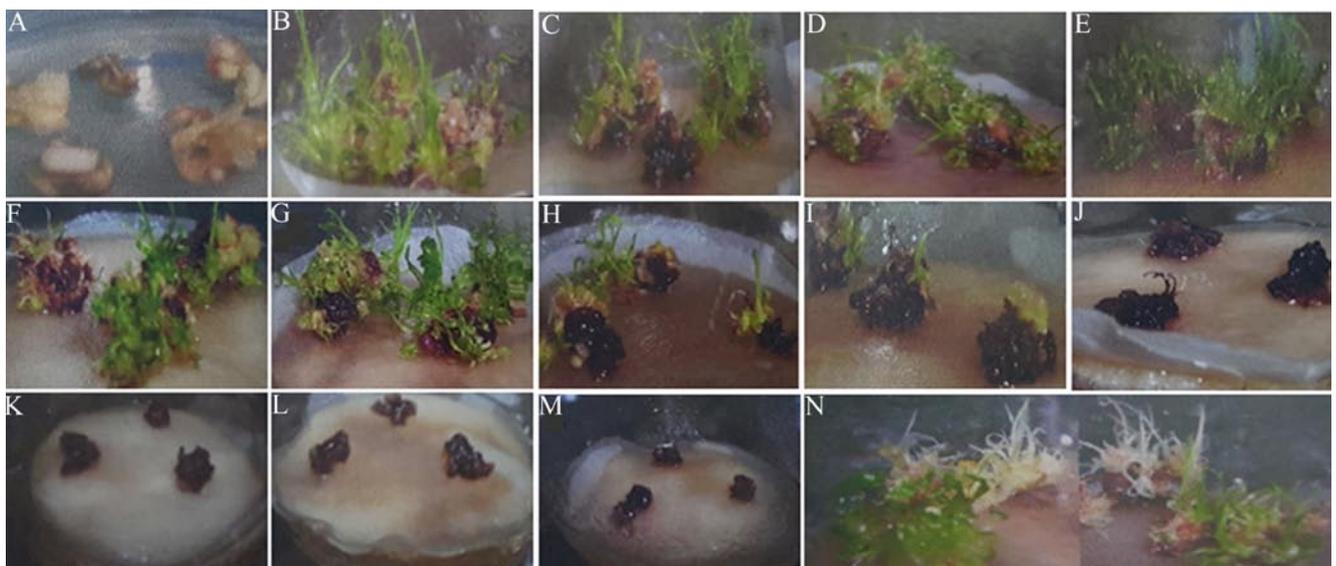
Gambar 1. Jumlah tunas regenerasi dari kalus tanaman tebu pada berbagai konsentrasi PEG (A) dan iradiasi sinar gamma (B)

Ukuran Tunas Regenerasi

Peningkatan konsentrasi PEG dalam kultur *in vitro* menghambat pertumbuhan tunas. Hal ini disebabkan penggunaan PEG pada medium akan meningkatkan tekanan osmosis dan menurunkan potensial air (Kumar *et al.*, 2011). Terhambatnya pertumbuhan tunas akibat penambahan PEG pada medium juga telah dilaporkan pada padi (Afa *et al.*, 2013), kacang tanah (Hemon dan Sudarsono, 2010) dan tomat (Abdel-Raheem *et al.*, 2007; Aazami *et al.*, 2010).

Interaksi antara konsentrasi PEG dan dosis iradiasi yang digunakan berpengaruh terhadap tinggi tunas. Secara umum peningkatan konsentrasi PEG dan dosis iradiasi

menurunkan ukuran tunas yang tumbuh. Pada perlakuan iradiasi 5 krad, pertumbuhan tunas pada medium RG sangat terhambat dibandingkan tanpa iradiasi, sedangkan perlakuan iradiasi 10 krad, sedikit sekali tunas regenerasi yang dapat tumbuh. Tinggi tunas pada 6 MST di medium PEG 15% dari kalus yang tidak diiradiasi dapat mencapai 1 cm, sedangkan kalus yang diiradiasi 10 krad tinggi tunas hanya mencapai 0.06 cm. Sebagian tunas tetap tumbuh pada konsentrasi PEG 15% sampai 6 MST (Tabel 2). Tunas yang tidak diiradiasi cenderung tumbuh lebih cepat dengan semakin tingginya konsentrasi PEG pada media. Hal ini kemungkinan disebabkan tingkat cekaman PEG masih dalam rentang yang dapat ditolerir.



Gambar 2. Kalus tebu pada medium IK (A), tunas regenerasi yang tumbuh pada kalus yang tidak diiradiasi pada medium RG dengan PEG 0% (B), 5% (C), 10% (D) dan 15% (E). Tunas regenerasi yang tumbuh pada kalus yang diiradiasi 5 krad pada medium RG dengan PEG 0% (F), 5% (G), 10% (H) dan 15% (I). Tunas regenerasi yang tumbuh pada kalus yang diiradiasi 10 krad pada medium RG dengan PEG 0% (J), 5% (K), 10% (L), 15% (M), dan regenerasi berwarna putih (N)

Keragaan Tunas

Warna tunas yang tumbuh sangat bervariasi tergantung perlakuan. Sebagian berwarna putih (albino), sebagian berwarna hijau muda, hijau atau hijau tua. Warna tunas diamati dengan menggunakan interval warna dari Munsell *Colour Chart*. Perlakuan PEG berpengaruh terhadap warna tunas yang dihasilkan. Persentase tunas albino semakin menurun dan persentase tunas berwarna hijau tua semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi PEG sampai 10%. Pada medium dengan PEG 5%, tunas albino menurun dari 45% menjadi 5%, sedangkan tunas berwarna hijau tua meningkat sampai 50% pada medium PEG 10% (Gambar 3A). Susiyanti *et al.* (2007) juga mendapatkan banyak tunas regenerasi yang berwarna putih atau albino dalam regenerasi tanaman tebu pada transformasi gen fitase. Hal yang sama juga terjadi pada regenerasi kultur anthera tanaman padi, dimana pemberian putresin 10^{-3} M dapat mengurangi tunas albino (Dewi *et al.*, 2006). Iradiasi sinar gamma 5 krad dapat meningkatkan tunas regenerasi berwarna hijau tua, sedangkan iradiasi sinar gamma 10 krad cenderung meningkatkan tunas albino (Gambar 3B).

Pertumbuhan Akar

Tumbuhnya akar pada medium regenerasi dengan PEG merupakan salah satu indikator tanaman toleran terhadap kekeringan (Hemon dan Sudarsono, 2010). Menurut Whalley *et al.* (1998) pada larutan PEG dengan konsentrasi tinggi akan menyebabkan penghambatan tumbuh akar, baik dalam diameter maupun pemanjangan akar.

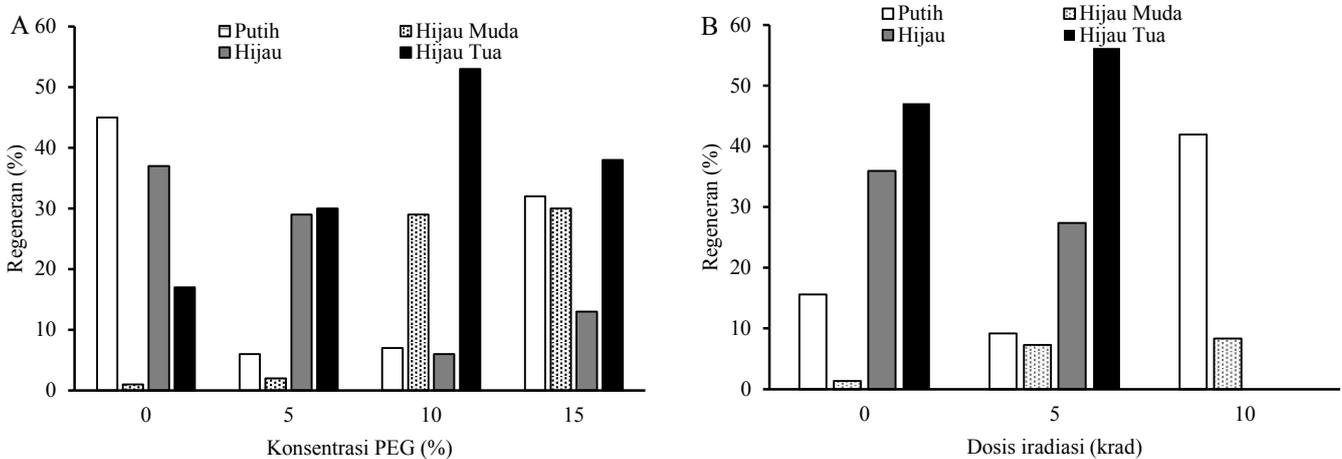
Terdapat interaksi antara perlakuan PEG dan iradiasi sinar gamma terhadap jumlah akar yang dihasilkan. Pada umur 6 MST, jumlah akar pada tunas dari kalus yang tidak diiradiasi tidak berbeda nyata dalam medium dengan atau tanpa PEG. Tunas dari kalus yang diiradiasi 5 krad pada medium tanpa PEG menghasilkan akar lebih banyak dibandingkan dengan tunas dari kalus yang tidak diiradiasi. Jumlah akar pada medium dengan konsentrasi PEG 10% dan 15% menurun, sedangkan pada kalus yang diiradiasi 10 krad sama sekali tidak ada tunas yang menghasilkan akar baik yang ditumbuhkan pada medium tanpa maupun dengan PEG (Tabel 3).

Perlakuan iradiasi 5 krad dapat menghasilkan akar yang banyak pada medium tanpa PEG, namun jumlah akar

Tabel 2. Tinggi tunas regenerasi tebu (cm) dari kalus yang diiradiasi sinar gamma pada medium RG yang mengandung PEG pada 5 dan 6 MST

Iradiasi (krad)	Konsentrasi PEG 6000 (%)			
	0	5	10	15
5 MST				
0	0.56a	0.56a	0.72a	0.72a
5	0.35b	0.33b	0.13c	0.06c
10	0.01c	0.00c	0.02c	0.06c
6 MST				
0	0.73cb	0.92ab	0.96a	1.00a
5	0.53d	0.57cd	0.24e	0.08f
10	0.02f	0.00f	0.00f	0.06f

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama pada setiap MST tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam



Gambar 3. Persentase regenerasi berdasarkan warna tunas pada medium regenerasi yang mengandung PEG (A) dan regenerasi dari kalus yang diiradiasi sinari gamma (B)

Tabel 3. Jumlah akar per tunas tanaman tebu asal kalus yang diiradiasi sinar gamma pada medium regenerasi dengan PEG

Iradiasi (krad)	Konsentrasi PEG 6000 (%)			
	0	5	10	15
2 MST				
0	0.00c	0.00c	1.80b	1.52b
5	4.85a	2.41b	0.13c	0
10	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
4 MST				
0	0.35e	2.07cd	3.11bc	2.83bc
5	7.13a	4.28b	1.15de	0.65de
10	0.00e	0.00e	0.00e	0.00e
6 MST				
0	4.13bc	4.26b	3.63bc	3.41bc
5	10.91a	5.30b	2.44cd	1.32de
10	0.00e	0.00e	0.00e	0.00e

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama pada setiap MST tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam

tersebut menurun secara signifikan pada medium dengan PEG sampai 15%. Beberapa tunas yang mampu berakar, baik dari kalus yang diiradiasi maupun yang tidak diiradiasi kemungkinan merupakan mutan putatif yang toleran terhadap kekeringan. Pada penelitian ini belum mempelajari peubah pertumbuhan akar, seperti panjang akar, percabangan akar dan diameter akar. Penelitian ini telah menghasilkan tunas pada medium regenerasi dalam jumlah banyak. Sebagian dari regenerasi tersebut kemungkinan besar merupakan tunas yang mengalami mutasi. Oleh karena itu diperlukan pengujian lebih lanjut. Selain itu, mutan putatif yang dihasilkan harus dapat ditanam di lapangan untuk pengujian peubah agronominya, seperti tinggi tanaman, ukuran batang, perakaran, umur tanaman dan produktivitasnya. Mutan toleran terhadap kekeringan yang dihasilkan diharapkan tidak merubah karakter agronomi dan rendamen tebu klon PSJT 941.

KESIMPULAN

Regenerasi dapat diperoleh dari kalus yang ditumbuhkan pada medium regenerasi yang ditambahkan PEG 6000 pada konsentrasi 0-15%. Semakin tinggi konsentrasi PEG yang ditambahkan ke dalam medium, semakin sedikit regenerasi yang dihasilkan. Iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap jumlah regenerasi, ukuran regenerasi dan kemampuan berakar. Dosis iradiasi 5 krad meningkatkan jumlah akar pada regenerasi di medium PEG 5%, sedangkan dosis iradiasi 10 krad ialah dosis yang sangat menghambat tumbuhnya regenerasi. Seleksi pada medium PEG 5-15% mengurangi regenerasi albino dan

meningkatkan jumlah regenerasi yang berwarna hijau dan hijau tua. Ratusan tanaman mutan putatif toleran terhadap PEG 15% telah dihasilkan, baik berasal dari kalus yang tidak diiradiasi maupun dari kalus yang diiradiasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aazami, M.A., M. Torabi, E. Jalili. 2010. *In vitro* response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. *African J. Biotech.* 9:4014-4017.
- Abdel-Raheem, A.T., A.R. Ragab, Z.A. Kasem, F.D. Omar, A.M. Samera. 2007. *In vitro* selection for tomato plants for drought tolerance via callus culture under polyethylene glycol (PEG) and mannitol treatments. *Afr. Crop Sci. Conf. Proc.* 8:2027-2032.
- Afa, L.A., B.S. Purwoko, A. Junaedi, O. Haridjaja, I.S. Dewi. 2013. Deteksi dini toleransi padi hibrida terhadap kekeringan menggunakan PEG. *J. Agron. Indonesia* 41:9-15.
- Begum, M.K., M.O. Islam, M.A.S. Miah, M.A. Hossain, N. Islam. 2011. Production of somaclonal *in vitro* for drought stress tolerant plantlet selection in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Agriculturists.* 9:18-28.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, I.H. Somantri, M.A. Chozin. 2006. Regenerasi tanaman pada kultur antera beberapa aksesori padi indica toleran aluminium. *J. AgroBiogen* 2:30-35.

- Errabii, T., C.B. Gondonou, H. Essalmani, J. Abrini, M. Idaomar, N.S. Senhaji. 2008. Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. *Afri. J. Biotechnol.* 5:1488-1493.
- Hasbullah N.A, R.M. Taha, A. Saleh, N. Mahmud. 2012. Irradiation effect on *in vitro* organogenesis, callus growth and plantlet development of *Gerbera jamesonii*. *Hort. Brasileira* 30:252-257.
- Hemaprabha, G., D.S. Swapna, L. Leena, B. Sajitha, S. Venkataramana. 2013. Evaluation of drought tolerance potential of elite genotypes and progenies of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). *Sugar Tech.* 15:9-16.
- Hemon, A.F., Sudarsono. 2010. Evaluation of somaclones peanut plants regenerated from repeat cycles of *in vitro* selection against drought stress. *J. Agron. Indonesia* 38:36-42.
- Kumar, R.R., K. Karjol, G.R.Naik. 2011. Effect of polyethylene glycol induced water stress on physiological and biochemical responses in pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) RRST-Plant Physiol. 3:148-152.
- Murtalaksono, K., S. Anwar. 2014. Potensi, kendala, dan strategi pemanfaatan lahan kering dan kering masam untuk pertanian (padi, jagung, kedele), peternakan, dan perkebunan dengan menggunakan teknologi tepat guna dan spesifik lokasi. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. Palembang 26-27 September 2014.
- Patade, V.Y., Bhargava, S., P. Suprasanna. 2012. Effects of NaCl and iso-osmotic PEG stress on growth, osmolytes accumulation and antioxidant defense in cultured sugarcane cells. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 108:279-286.
- Ramadhan, I.C., Taryono, R. Wulandari. 2014. Keragaan pertumbuhan dan rendemen lima klon tebu (*Saccharum officinarum* L.) di ultisol, vertisol, dan inceptisol. *Vegetalika* 3:77-87.
- Susiyanti, G.A. Wattimena, M. Surahman, A. Purwito, D.A. Santosa. 2007. Transformasi tanaman tebu (cv. PSJT 941) dengan gen fitase menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* GV 2260 (pBinPI-IIEC). *Bul. Agron.* 35:205-211.
- Taheri, S., T.L. Abdullah, Z. Ahmad, N.A.P. Abdullah. 2014. Effect of acute gamma irradiation on *Curcuma alismatifolia* varieties and detection of DNA polymorphism through SSR marker. *BioMed Research International* (2014):1-18.
- Vantini, J.S., G.C. Dedemo, D.F.J. Gimenez, L.F. Fonseca, R.I. Tezza, M.A. Mutton, J.A. Feroo, M.I. Feroo. 2015. Differential gene expression in drought-tolerant sugarcane roots. *Genet. Mol. Res.* 14:7196-7207.
- Vargas, L., Santa Brígida AB, Mota Filho JP, de Carvalho TG, Rojas CA, Vaneechoutte D, et al. 2014. Drought tolerance conferred to sugarcane by association with *Gluconacetobacter diazotrophicus*: a transcriptomic view of hormone pathways. *PLoS ONE* 9(12): e114744. doi:10.1371.
- Whalley, W.R., A.G. Bengough, A.R. Dexter. 1998. Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedlings. *J. Exp. Bot.* 49:1689-1694.
- Yaycili, O., S. Alikamanoglu. 2012. Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turk. J. Biol.* 36:405-412.