

## RINGKASAN

**Dhewyangga Bismi P. 0910480042. Pengujian Ketahanan Kalus Beberapa Kultivar Tebu (*Saccharum officinarum* L) Terhadap Penyakit Pokahbung Menggunakan Filtrat Kultur *Fusarium moniliforme*. Di bawah bimbingan Prof.Ir.Lilieek Sulistyowati,Ph.D. sebagai Pembimbing Utama, Dr. Anton Muhibuddin,SP., MP. Sebagai Pembimbing Pendamping I dan Nurul Hidayah, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping II.**

---

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L) adalah satu anggota familia Graminaedan salah satu komoditas penting pembuatan gula dikarenakan dalam batangnya terkandung 20% cairan gula. Penurunan produksi tebu di Indonesia dapat disebabkan oleh penyakit tanaman salah satunya adalah *Fusarium moniliforme* Sheldon (teleomorph *Gibberella fujikuroi*) penyebab penyakit pokahbung. Penggunaan varietas tahan merupakan salah satu solusi untuk mengendalikan penyakit salah satunya yaitu dengan teknik kultur jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji tingkat ketahanan beberapa kalus kultivar tebu terhadap penyakit pokahbung secara *in vitro*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan Pemuliaan BALITTAS Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Pebruari 2013 - Juli 2013. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor yaitu faktor I adalah lima macam kultivar tebu dengan ulangan tiga kali. Faktor II yaitu konsentrasi filtrat *Fusarium moniliforme* 50% dan 60 %. Data diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisa statistika uji T berpasangan pada taraf 5%.

Inokulasi terhadap lima kalus kultivar tebu terhadap filtrat *F.moniliforme* memberikan pengaruh yang signifikan dalam berbagai indikator parameter pengamatan. Warna kalus memberikan kalus tahan pada kultivar PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.04.395 pada konsentrasi 50%, dan PS.05.311, PS.06.121 pada konsentrasi 60%. Indikator biomassa kalus juga menunjukkan bahwa kalus kultivar PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.06.121 pada konsentrasi 50% dan PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.06.121, PS.04.395 pada konsentrasi 60% memiliki sifat tahan terhadap inokulasi *F.moniliforme*. Berat kering kalus pada kultivar berikut PS.06.195, PS.06.121 pada konsentrasi 50% dan PS.06.195, PS.05.311 dengan konsentrasi 60%, menunjukkan kalus tahan terhadap inokulasi filtrat *F.moniliforme* dan indicator terakhir yaitu panjang kalus menunjukkan adanya tingkat ketahanan kalus pada kultivar PS.06.195, PS.05.311, PS.06.121 pada konsentrasi 50% dan PS %.06.195, PS.06.121 dengan konsentrasi inokulasi filtrat *F.moniliforme* 60%. Kalus pada kultivar PS.06.195 dan PS.05.311 merupakan kalus kultivar tahan dari seluruh parameter pengamatan.

## SUMMARY

**Dhewyangga Bismi P. 0910480042. Test Of Callus Resistance Five Sugarcane Cultivars To Pokkahboeng By Using *Fusarium moniliforme* Filtrate Kultur. Supervised by Prof. Ir.Lilieek Sulistyowati, Ph.D., Dr. Anton Muhibuddin,SP., MP. and Nurul Hidayah, M.Si.**

---

*Saccharum officinarum* is belong to Graminae family and one of the important source of sugar manufacture. That by its 20% content of sugar beet. Decreasing of sugarcane production in Indonesia could be affected by plant diseases such as pokkahboeng, caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon (teleomorph *Gibberella fujikuroi*). Resistance varieties is one of the solution for controlling the disease by tissue culture techniques.

This research was conducted at Phytopatology and Breeding Laboratory of Indonesia Sweetener and Fiber Crops Research Institute Malang. This Research was done on February-July 2013. The research was conducted using completely randomized design with two factors, five cultivars sugarcane was repeated three times and *Fusarium moniliforme* filtrate concentration 50% dan 60%. Observational data obtained from the experiments were analyzed using the paired T test at the level of 5%.

Inoculation on five callus sugarcane cultivars to *F.moniliforme* filtrate gave significantly effect on every observation indicator parameters. Callus colour gave resistance to PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.04.395 on concentration 50%, and PS.05.311, PS.06.121 on concentration 60%. Indicator of callus biomass showed that PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.06.121 on concentration 50% and PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.06.121, PS.04.395 on concentration 60% had resistance to inoculation of *F.moniliforme*. Callus dry weight on these cultivar PS.06.195, PS.06.121 on concentration 50% dan PS.06.195, PS.05.311 on concentration 60%, showed that callus resistance to inoculation of *F.moniliforme* and the last indicator was callus height showed callus resistance level to cultivars PS.06.195, PS.05.311, PS.06.121 on concentration 50% dan PS.06.195, PS.06.121 on *F.moniliforme* filtrate concentration 60%. PS.06.195 dan PS.05.311 are the most resistance cultivars from among the others from all of parameters.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan kasih sayang serta hidayah-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian yang berjudul Pengujian Ketahanan Kalus Lima Kultivar Tebu (*Saccharum officinarum* L) Terhadap Penyakit Pokahbung Menggunakan Filtrat Kultur *Fusarium moniliforme* secara *in vitro*.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada IbuProf. Ir. Liliek Sulistyowati,Ph.D, Bapak Dr. Anton Muhibuddin,SP., MP dan Ibu Nurul Hidayah, M.Si selaku pembimbing atas segala kesabaran arahan, bimbingan dan saran yang diberikan selama penyusunan hasil penelitian kepada penulis. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Sri Karindah, MS selaku penguji atas nasehat, arahan dan bimbingan kepada penulis.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Bapak Ketua Jurusan Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU. dan Bapak Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS. Selaku dosen pembimbing akademik atas segala nasehat dan bimbingannya kepada penulis, serta kepada karyawan dan Laboran Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, FP, UB, atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada Bapak Drs. Kadarusman dan Ibu Lilis Setyanie, S.Pd serta Rayi Zulva Ramadhan yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan. Dukungan dan kebersamaan Bayu W. dan teman-teman PeWe, Auto, HPT'09, teman-teman Mikologi '09 dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu. Terimakasih pula kepada teman-teman dan laboran laboratorium Fitopatologi dan Pemuliaan BALITTAS Malang atas dukungan dan semangatnya. Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Trenggalek pada tanggal 12 Agustus 1990 sebagai putri pertama dari dua bersaudara dari Bapak Drs. Kadarusman dan Ibu Lilis Setyanie,S.Pd.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Negeri 5 Lawang Malang pada tahun 1997-2003, kemudian melanjutkan ke SMPN 1 Lawang pada tahun 2003-2006. Pada tahun 2006-2009 penulis studi di SMAN 1 Lawang. Pada tahun 2009 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi Jurusan Hama Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui jalur PSB.

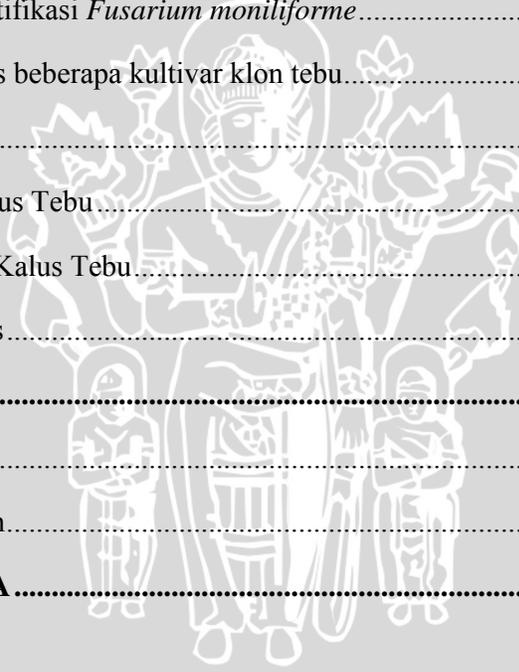
Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum Mata Kuliah Dasar Perlindungan Tanaman pada tahun ajaran 2010-2011 dan 2011-2012, Mikologi pada tahun 2012-2013, dan Ilmu Penyakit Tanaman pada tahun 2012-2013. Penulis pernah aktif dan masuk dalam kepengurusan Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman pada tahun 2012-2013. Penulis juga aktif dalam beberapa kepanitiaan di Fakultas Pertanian dan Universitas Brawijaya Malang pada tahun 2012.



## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	4
1.3 Hipotesis .....	4
1.4 Manfaat .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tanaman Tebu .....	5
2.2 Penyakit-penyakit pada tanaman tebu .....	7
2.3 Pengendalian <i>Fusarium moniliforme</i> pada tanaman tebu .....	13
2.4 Teknologi untuk mendapatkan tanaman tahan .....	15
2.5 Kultur jaringan sebagai seleksi ketahanan tanaman .....	16
<b>III. METODOLOGI .....</b>	<b>18</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	18
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian .....	18
3.3 Alat dan Bahan .....	18
3.3.1 Alat .....	18
3.3.2 Bahan .....	18
3.4 Pelaksanaan .....	19

3.4.1. Sterilisasi.....	19
3.4.2 Tahapan pembuatan media MS.....	19
3.4.3 Seleksi eksplan tanaman tebu.....	20
3.4.4 Inokulasi eskplan tanaman tebu.....	20
3.4.5 Isolasi <i>Fusarium moniliforme</i> .....	21
3.4.6 Pembentukan filtrate toksin <i>Fusarium moniliforme</i> .....	21
3.4.7 Mekanisme uji ketahanan.....	21
3.4.8 Pengamatan.....	22
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1 Isolasi dan identifikasi <i>Fusarium moniliforme</i> .....	24
4.2 Ketahanan kalus beberapa kultivar klon tebu.....	25
4.2.1 Warna kalus.....	25
4.2.2 Biomassa Kalus Tebu.....	30
4.2.3 Berat Kering Kalus Tebu.....	33
4.2.4 Panjang Kalus.....	36
<b>V. KESIMPULAN.....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Kritik dan Saran.....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>40</b>



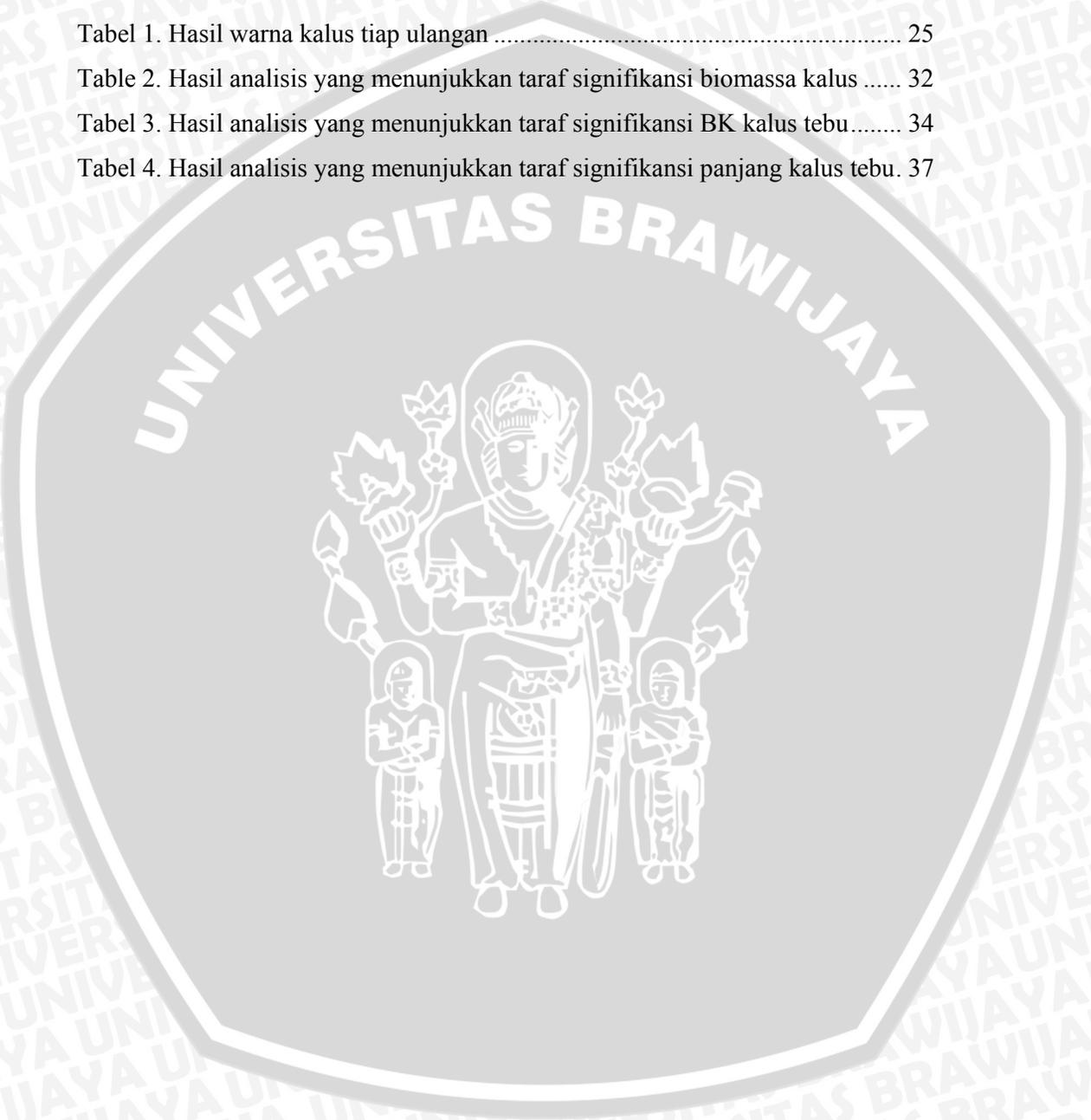
## DAFTAR GAMBAR

Nama	Halaman
Gambar 1. Miselium dan spora <i>F.moniliforme</i> hasil isolasi dari pokahbung .....	9
Gambar 2. Gejala pokahbung pb 1 (gb. A1 & A2), pb 2 (B), pb 3 (C) .....	11
Gambar 3. Hasil isolasi <i>Fusarium moniliforme</i> pada media PDA.....	24
Gambar 4. Mikroskopis <i>Fusarium moniliforme</i> (perbesaran 400x).....	25
Gambar 5. Grafik biomassa kalus 5 macam kultivar tebu pada konsentrasi 50% dan 60% serta kontrol .....	31
Gambar 6. Grafik berat kering akhir kalus kultivar tebu pada pemberian FK <i>F.moniliforme</i> dengan konsentrasi 50% dan 60% serta kontrol .....	34
Gambar 7. Perbandingan panjang kalus yang tidak dapat berdiferensiasi (A) dan kalus yang berdiferensiasi membentuk tunas (B) .....	36



## DAFTAR TABEL

Nama	Halaman
Tabel 1. Hasil warna kalus tiap ulangan .....	25
Table 2. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi biomassa kalus .....	32
Tabel 3. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi BK kalus tebu.....	34
Tabel 4. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi panjang kalus tebu.	37



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L) adalah salah satu anggota familia rumput-rumputan (Graminae) yang merupakan tanaman asli tropika basah, namun masih dapat tumbuh baik dan berkembang di daerah subtropika, pada berbagai jenis tanah dari daratan rendah hingga ketinggian 1.400 m diatas permukaan laut (dpl). Tanaman tebu dikenal sebagai bahan pangan sumber pemanis alami seperti madu.

Tanaman tebu (*Saccharum* sp.) merupakan salah satu komoditas penting untuk dijadikan bahan utama pembuatan gula yang sudah menjadi kebutuhan primer dalam rumah tangga, hal ini dikarenakan dalam batangnya terkandung 20% cairan gula. Gula merupakan komoditas yang penting bagi masyarakat Indonesia dan perekonomian pangan Indonesia baik sebagai kebutuhan pokok untuk dikonsumsi langsung seperti makanan atau minuman ,maupun sebagai bahan baku industri dan bahan bakar etanol bersumber dari molase.

Indonesia merupakan salah satu Negara di Asia yang memberikan kontribusi yang besar terhadap perkembangan gula dunia. Indonesia memiliki iklim yang cocok bagi pertumbuhan tebu dengan berbagai macam kultivar. Secara umum tanaman tebu tumbuh didaerah tropika dan subtropika sampai batas garis isotherm 20<sup>0</sup>C yaitu antara 190 LU– 350 LS. Faktor iklim dan kondisi yang menguntungkan di Indonesia yang beriklim tropis dapat menghasilkan kultivar tebu yang baik. Usaha budidaya tebu di Indonesia dilakukan pada lahan sawah berpengairan dan tadahhujan serta pada lahan kering/tegalan dengan rasio 65% pada lahan tegalan dan 35% padalahan sawah.Kondisi tanah yang baik bagi tanaman tebu adalahyang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah, selain ituakar tanaman tebu sangat sensitif terhadap kekuranganudara dalam tanah sehingga pengairan dan drainase harusangat diperhatikan. Sampai saat ini daerah/wilayah pengembangan tebu masih terfokus di PulauJawa yakni di Provinsi, Jawa Timur, Jawa Tengah, DI. Yogyakarta dan Jawa Barat

yang diusahakan di lahan sawah dan tegalan. Sedangkan usahatani tebu pada lahan tegalan pengembangannya diarahkan ke Luar Jawa seperti di Provinsi Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Lampung, Sulawesi Selatan dan Gorontalo.

Penyakit tanaman merupakan salah satu permasalahan penting produksi tebu di Indonesia maupun di negara lain. Jumlah pathogen tanaman yang menyebabkan kerusakan besar dan luas terus bertambah seiring dengan adanya bertambahnya kultivar baru dan adanya anomali iklim (Abadi, 2000). Penyakit tebu salah satu faktor penting dalam penurunan produksi. Keberadaan penyakit tebu di Indonesia perlu karena hampir dapat dijumpai pada pertanaman tebu sepanjang tahun disebabkan Indonesia beriklim tropis. Pengembangan strategi pengelolaan penyakit yang efektif dan efisien dapat dikaji lebih dalam guna menekan adanya serangan pathogen yang semakin meluas. Tanaman tebu dapat terserang beberapa macam penyakit, antara lain yaitu busuk batang, embun bulu, penyakit blendok, noda merah, noda mata, noda kuning, noda coklat, noda cincin, karat oranye, garis coklat, penyakit puru daun Fiji dan pokah bung. Beberapa diantara penyakit tersebut merupakan penyakit penting tanaman tebu meskipun keberadaannya tidak selalu menimbulkan kerugian secara ekonomis yang besar.

Salah satu penyakit yang menyerang pertanaman tebu di Indonesia adalah pokahbung. Penyakit pokahbung merupakan penyakit penting pada tanaman tebu yang menyerang tanaman muda yang dibudidayakan secara komersial. Bolle (1927) pertama kali mengisolasi dan menginokulasi pathogen pokahbung di Jawa dan menemukan bahwa penyakit ini disebabkan oleh *Fusarium moniliforme* Sheldon (teleomorph *Gibberella fujikuroi*). Asal nama pokahbung merupakan bentuk bahasa Jawa yang menggambarkan perubahan bentuk atau kerusakan tunas. *Fusarium* spp. divisi *Liseola* yang menyebabkan penyakit pada jagung, sorghum, padi dan tebu ini juga memproduksi mikotoksin seperti fumonisins, moniliformin and beauvericin (Semangun, 2008). *F. moniliforme* tidak hanya menyerang tanaman budidaya saja akan tetapi pathogen tular tanah ini juga menyebabkan penyakit pada beberapa hewan ternak.

Pengendalian penyakit pokahbung dewasa ini sangat diperhatikan karena adanya kerugian secara ekonomis yang cukup besar. Penyakit serius pada tanaman tebu yang disebabkan oleh pokahbung dimulai dari fase 1 yang dinilai masih

dapat ditoleransi, akan tetapi pada kondisi lingkungan yang menguntungkan, patogen akan dengan cepat berkembang dan menyebar. Pengendalian penyakit pada pertanaman tebu dilakukan untuk menekan adanya perkembangan patogen yang lebih meluas. Pengelolaan penyakit pokok bung dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu seperti teknik pengendalian biologi, fisik dan kimia. Pengendalian biologi dengan menggunakan *Trichoderma viride* (Gholib, et. al. 2006), penggunaan Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) dan Kunyit (*Curcuma domestica*) (Dhani, et. al. 2012), serta penggunaan metil jasmonate dan sitokinin (Ketabchi & Shartash, 2011) dapat menekan perkembangan inokulum secara signifikan. Penggunaan varietas tahan juga dilakukan karena varietas tahan dapat mencegah adanya kejadian penyakit. Varietas tahan dapat menekan perkembangan penyakit dalam jangka waktu yang lama (Vishwakarma, et. al., 2013). Selain itu, pengendalian secara kimiawi juga dilakukan dengan aplikasi penggunaan pestisida dengan bijaksana (Raid, 2012).

Salah satu pengendalian penyakit yang disebabkan oleh cendawan *F.moniliforme* var. subglutinans adalah dengan penggunaan varietas tahan. Penggunaan varietas tahan merupakan salah satu cara untuk mengendalikan penyakit ini karena tidak menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Penggunaan varietas tahan juga memiliki beberapa kelebihan antara lain pengadaan bibit yang murah secara kamoesial, mudah diaplikasikan, mengurangi penggunaan pestisida, menurunkan penyebaran inokulum dan mengurangi laju infeksi patogen, kompatibel dengan pengendalian yang lainnya (Zadoks & Zchein, 1979 dalam Wati, 2006). Langkah awal yang penting untuk mendapat kultivar tahan terhadap cendawan *F.moniliforme* adalah dengan cara menyeleksi berbagai kultivar yang ada dengan cara eksplorasi, konservasi karakterisasi dan evaluasi, serta penyediaan sumber genetik dan keterangan lengkap mengenai system ketahanannya ( Sutopo dan Nasir, 2002 dalam Wati, 2006).

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu cara mendapatkan kultivar tahan terhadap infeksi patogen. Kultur jaringan dapat menghasilkan bibit tebu yang baik dan sehat tanpa terbawa penyakit oleh induk sebelumnya. Perakitan varietas tahan secara *in vitro* dengan teknik kulltur jaringan dapat digunakan sebagai media seleksi untuk mendapatkan tanaman tahan dengan jumlah besar.

Metode seleksi *in vitro* dilakukan dengan mengkulturkan massa sel atau sel pada media yang mengandung metabolit dari pathogen. Teknik kultur jaringan dengan penggunaan aplikasi kalus pada media selektif penyakit pokahbung yang tertular melalui tanah dapat ditekan serangannya. Selain itu, hasil varietas unggul tebu yang sehat dapat diperbanyak secara masal dengan waktu yang singkat.

### 1.2 Tujuan

Menguji tingkat ketahanan lima kaluskultivar tebu terhadap penyakit pokahbung yang disebabkan oleh cendawan *F.moniliforme* secara *in vitro*.

### 1.3 Hipotesis

Limakaluskultivar tebu yang diuji memiliki tingkat ketahanan yang berbeda terhadap infeksi *F.moniliforme*.

### 1.4 Manfaat

Memperoleh informasi terhadap karakter sifat ketahanan lima kultivar tebu yang tahan terhadap penyakit pokahbung sebagai bahan dalam upaya mendukung perakitan varietas tahan dan dapat digunakan sebagai rujukan bagi perkebunan tebu serta perusahaan gula.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Tebu

Tanaman tebu tergolong tanaman perdu dengan nama latin *Saccharum officinarum*. Di daerah Jawa Barat disebut Tiwu, di daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur disebut Tebu atau Rosan. Menurut Syakir (2010), klasifikasi tanaman tebu adalah:

Kingdom : plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledone

Ordo : Graminales

Famili : Graminae

Genus : Saccharum

Species : *Saccharum officinarum*

Tanaman tebu memiliki morfologi yang tinggi kurus, tidak bercabang dan tumbuh tegak. Tanaman yang tumbuh baik, tinggi batangnya dapat mencapai 3 – 5 meter atau lebih. Batang memiliki lapisan lilin berwarna putih dan keabu-abuan dan banyak terdapat pada batang muda. Ruas-ruas batang dibatasi oleh buku-buku. Ketiak daun memiliki sebuah kuncup yang biasa disebut “mata”. Pengenalan varietas tebu dapat dilihat dari bentuk ruas batang dan warna batang tebu yang bervariasi.

Daun tebu di ujung batang dan terpisah ke arah samping terdiri atas dua bagian, yaitu pelepah daun (*leaf sheath*) dan helai dan (*leaf blade*). Pelepah daun membungkus/membalut ruas batang. Pelepah-pelepah ini selain melindungi bagian batang yang masih lunak, juga melindungi mata tunas. Letak daun batang berseling pada buku ruas yang berurutan. Helai daun berbentuk pita yang panjangnya 1 – 2 meter dan lebarnya 2 – 7 cm. Tepi daun bergerigi kecil dan banyak mengandung silikat.

Bunga tersusun dalam 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 benangsari, tangkai sari dan tepung sari menjurai keluar setelah bunga cukup matang. Bunga berkembang pada pagi hari dengan jangka waktu pembungaan pada satu malai berlangsung beragam antara 5 sampai 12 hari. Buah tebu seperti padi, memiliki satu biji dengan besar lembaga 1/3 panjang biji. Biji tebu dapat ditanam di kebun percobaan untuk mendapatkan jenis baru hasil persilangan yang lebih unggul.

Akar terbentuk dari bibit stek adalah akar adventif yang berwarna gelap dan kurus. Setelah tunas tumbuh, maka fungsi akar ini akan digantikan oleh akar sekunder yang tumbuh di pangkal tunas. Pada tanah yang cocok akar tebu dapat tumbuh panjang mencapai 0,5 – 1,0 meter. Tanaman tebu berakar serabut maka hanya pada ujung akar-akar muda terdapat akar rambut yang berperan mengabsorpsi unsur-unsur hara.

Menurut Syakir (2010), tebu dapat tumbuh pada berbagai kondisi lahan pada daerah tropika dan subtropika. Sesuai dengan daerah asalnya sebagai tanaman tropis, tanaman tebu tumbuh baik di daerah tropis, tetapi dapat pula ditumbuhkan di daerah sub tropis sampai garis isotherm 20<sup>0</sup>C, yaitu pada kawasan yang berada di antara 39<sup>0</sup>LU dan 35<sup>0</sup>LS. Suhu rata-rata tahunan sebaiknya berada di atas 20<sup>0</sup>C dan tidak kurang dari 17<sup>0</sup>C. Pertumbuhan yang optimum dicapai pada suhu 24<sup>0</sup>– 30<sup>0</sup>C. Tumbuhan ini dapat hidup pada berbagai ketinggian, mulai dari pantai sampai dataran tinggi (1400 m di atas permukaan laut/dpl). Namun, mulai ketinggian 1200 m dpl, pertumbuhan menjadi lambat. Menghendaki curah hujan tahunan 1000 – 1250 mm, menyebar merata. Ochse *et al* (1961) dalam Syakir (2010) menambahkan bahwa hujan harus turun teratur selama pertumbuhan vegetatif dan menjelang saat pematangan tanaman tebu membutuhkan beberapa bulan kering. Penyinaran dibutuhkan 12-14 jam setiap harinya. Proses asimilasi akan terjadi secara optimal, apabila daun tanaman memperoleh radiasi penyinaran matahari secara penuh.

Kondisi tanah yang baik bagi tanaman tebu adalah yang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah. Akar tanaman tebu sangat sensitif terhadap kekurangan udara dalam tanah sehingga pengairan dan drainase harus sangat diperhatikan. Drainase yang baik dengan kedalaman sekitar 1 meter memberikan

peluang akar tanaman menyerap air dan unsur hara pada lapisan yang lebih dalam sehingga pertumbuhan tanaman pada musim kemarau tidak terganggu.

Drainase yang baik dan dalam juga dapat menyalurkan kelebihan air di musim penghujan sehingga tidak terjadi genangan air yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman karena berkurangnya oksigen. Drainase yang baik dan dalam juga dapat menyalurkan kelebihan air di musim penghujan sehingga tidak terjadi genangan air yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman karena berkurangnya oksigen dalam tanah. Tingkat pH tanah yang optimum untuk tebu adalah 6,5 – 7,0.

## 2.2 Penyakit-penyakit pada tanaman tebu

### 2.2.1 Macam-macam penyakit pada tanaman tebu

Tanaman tebu dapat terserang oleh beberapa kejadian penyakit yang disebabkan oleh jenis pathogen yang berbeda-beda. Kehilangan hasil akibat serangan penyakit pada pertanaman tebu menyebabkan kerugian yang besar. Berikut adalah beberapa macam penyakit tebu yang dinilai dapat menurunkan nilai ekonomis menurut (Achadian, et. al., 2011).

#### 2.2.1.1 Garis coklat

Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Bipolaris stenospita*. Perkembangan penyakit garis coklat didukung oleh kekurangan nutrisi dan unsure hara yang diserap oleh tanaman pada kondisi lingkungan yang tidak sehat. Gejala kecoklatan yang terlihat dapat memiliki panjang 5-7,5 mm x 2-4 mm.

#### 2.2.1.2 Karat oranye

Patogen *Puccinia kuehni* menyebabkan penyakit karat oranye dan dapat berkembang dengan cepat pada kondisi lingkungan yang hangat dan lembab. Penyakit ini biasa muncul pada musim penghujan. Memiliki gejala makroskopis penyakit dengan luasan antara 3-3 mm x 1-2 mm.

#### 2.2.1.3 Noda mata

*Bipolaris sacchari* merupakan pathogen penyebab noda mata. Lingkungan yang basah dan dingin dapat menyebarkan inokulum dari cendawan ini. Kenampakan secara makroskopis dapat berupa noda agak bulat memanjang

dengan ukuran antara 0,5-4 mm x 0,5-2 mm. Bagian tengah noda gelap dan dikelilingi halo berwarna kuning.

#### 2.2.1.4 Blendok

Disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas albilineans*. Gejala yang dapat ditimbulkannya adalah berupa garis klorosis pada daun, nekrosis pada jaringan daun dan batang mati. Tebu yang kekurangan air dapat menyebabkan penyakit blendok tersebut meluas.

#### 2.2.1.5 Busuk batang fusarium

Jamur *F.moniliforme* merupakan pathogen penyebab busuk batang fusarium. Kondisi yang lembab dapat memacu berkembangnya laju inokulum pathogen. Gejala seperti “terpotong pisau” adalah gejala umum pada batang yang terserang.

#### 2.2.1.6 Daun putih

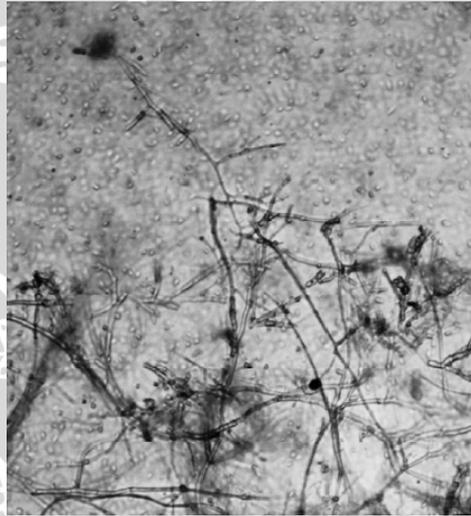
Disebabkan oleh fitoplasma dan didukung oleh populasi vektor *Matsumuratettix hiroglyphicus* yang tinggi pada musim panas. Gejala utamanya adalah klorosis (pewarnaan putih) pada daun.

### 2.2.2 *Fusarium moniliforme* pada tanaman tebu

*F.moniliforme* memiliki tingkatan klasifikasi yang termasuk dalam filum Ascomycota, kelas Ascomycetes, ordo Hypocreales, dengan teleomorph pada genus *Gibberella*. Jamur *F.moniliforme* dapat bertahan pada residu tanaman busuk. Pathogen dapat menginfeksi inang yang luas. Beras, jagung, sorghum, dan banyak rumput-rumputan memungkinkan untuk terinfeksi. Jamur ini juga mempengaruhi banyak penyakit seperti hawar biji, hangus, busuk batang, dan kekerdilan pada tanaman yang berbeda (Raid, 2012). Tidak hanya tanaman yang dibudidayakan yang terserang oleh *F.moniliforme*, akan tetapi hewan ternak juga memiliki peluang terinfeksi oleh cendawan ini. *F.moniliforme* dapat bertahan hidup sebagai cendawan saprofit pada sisa-sisa tanaman, dan spora umumnya disebarkan melalui udara (Lyrene, 1976)

Penyebab penyakit : Jamur membentuk makrokonidium bengkok seperti sabit yang mempunyai 3-7 sekat, berukuran 25-60 x 2,5-4 µm tergantung dari banyaknya sekat. Memiliki mikrokonidium bersel satu, berbentuk kumparan atau jorong, 14-18 x 4,5-6 µm. Jamur membentuk peritesium bulat telur atau

porongserta kadang-kadang berbentuk bola atau pipih, dengan ukuran 270-350 x 250x 300 mm. Umumnya perisetium terdapat pada bagian yang mati pada upih daun, helai daun, dan batang tebu (Semangun, 2008). Askospora kebanyakan bersel dua meskipun kadang-kadang bersel tiga atau empat dengan ukuran 14-18 x 4,5 – 5,5 mm. Miselium berukuran antara 1,75-7,00  $\mu\text{M}$  dan umumnya berbentuk flokos dengan tepung yang berada pada permukaan media agar (Vishwakarma, et. al. 2013). Dalam biakan murni jamur yang masih muda memiliki meselium hialin, sedang yang sudah berumur tua berwarna kecoklatan (Semangun, 2008).



Gambar 1. Miselium dan spora *F. moniliforme* hasil isolasi dari pokahbung (Vishwakarma, et. al. 2013).

Teleomorf dari *F. moniliforme* adalah *Giberella fujikuroi* (Saw.) Ito ap. Ito et Kamura, yang disebut juga dengan nama *Gibberella moniliformis* (Sheld.) Wineland. Teleomorf jarang ditemukan. van Dillewijn *et al.*, pada tahun 1963 untuk pertama kali menemukan fase teleomorph di Jawa.

*F. moniliforme* menunjukkan perbedaan warna pada media agar. Warna yang dihasilkan antara lain kuning pucat, merah muda dan ungu. Hal ini disebabkan adanya pigmentasi dari metabolisme selama pertumbuhannya pada media agar. Pertumbuhan konidia juga dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa. PDA mampu menumbuhkan jamur *F. moniliforme* dengan baik dan lebih cepat apabila strain *F. moniliforme* tersebut memiliki sifat virulensi yang lebih tinggi daripada strain *F. moniliforme* yang avirulen. Pertumbuhan yang cepat ini dipengaruhi oleh sumber nitrogen seperti magnesium nitrit yang mengandung sodium nitrat. Panas

juga mempengaruhi pertumbuhan dan sporulasi jamur *F.moniliforme*(Vishwakarma,.et. al. 2013).

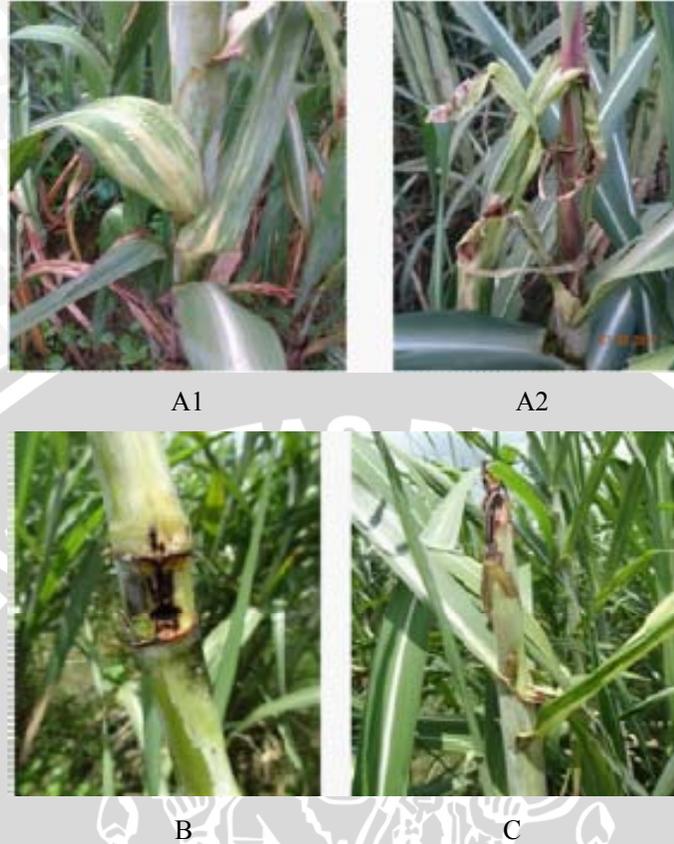
Daur penyakit: cendawan terutama disebarkan dengan konidium. Infeksi hanya terjadi pada pangkal daun termuda yang belum membuka (daun -1 dan -2). Konidium dapat mencapai tempat permukaan daun karena konidium masih berbentuk corong terbawa oleh tetes tetes air ke bawah melalui sisi dalam daun -1 (Bolle, 1936dalam Semangun, 2008)

*F.moniliforme* mengakibatkan penyakit yang biasa dikenal dengan nama pokahbung. Penyakit ini tersebar di Jawa, Sumatera, Kalimantan dan Sulawesi, meskipun belum terdapat di Irian dan Maluku (Suwarno , 1992 dalam Semangun, 2008). Bolle (1927) pertama kali mengisolasi dan menginokulasi pathogen pokahbung di Jawa. Asal nama pokahbung merupakan bentuk bahasa Jawa yang menggambarkan perubahan bentuk atau kerusakan pucuk. *Fusarium* spp. divisi *Liseola* yang menyebabkan penyakit pada jagung, sorghum, padi dan tebu juga memproduksi mikotoksin seperti *fumonisins*, *moniliformin* and *beauvericin* (Govender, 2010).

Umumnya karakteristik dari pokahbung adalah perubahan bentuk dan pemendekan ujung (pucuk) dan daun, daun menggulung dan mengeriting, klorosis (penguningan) pada pangkal daun muda dan patah membujur menyerupai tangga pada tepian daunsering pula diikuti dengan bagian tepi daun yang berwarna gelap, dan timbul pula kematian pucuk.Bagian daun yang terserang selalu lebih kecil daripada daun normal. Lembaran daun juga mengalami klorosis dan terbentuk area garis merah. Garis-garis merah yang tidak beraturan akan tumbuh pada bagian klorosis daun pada daun dewasa. Area garis merah tersebut biasanya tumbuh membentuk lubang dengan tidak beraturan.

Bolle (1935) dalam Semangun (2008) membagi gejala pokahbung menjadi 3 tingkat, yang lazimnya disebut pb 1, pb 2, pb 3.

a. Fase Pb 1 gejala yang ditimbulkan hanya terdapat pada daun. Helaian yang baru saja membuka pangkalnya tampak klorosis. Pada bagian ini kelak timbul titik-titik atau garis-garis merah. Kalau penyakit meluas kedalam, maka daun yang belum terbuka akan terserang pula. Daun ini akan rusak dan tidak dapat membuka dengan sempurna.



Gambar 2. Gejala pokahbung pb 1 (gb. A1 & A2), pb 2 (B), pb 3 (C) (Vishwakarma,*et. al.*, 2013).

- b. Fase Pb 2 jamur juga akan menyerang ujung batang yang masih muda, tetapi tidak menyebabkan pembusukan. Pada batang yang muda terdapat garis merah kecoklatan yang dapat meluas menjadi rongga rongga yang dalam. Rongga-rongga ini memiliki sekat-sekat melintang hingga tampak seperti tangga. Jika ujung batang tumbuh terus akan terjadi hambatan pertumbuhan dan pada bagian batang terserang tadi akan membengkok.
- c. Fase Pb 3, titik tumbuh yang terserang akan mengalami pembusukan. Busuknya titik tumbuh akan menyebabkan matinya tanaman.

Pokahbung dapat secara beragam berkembang dari beberapa gejala umum pada kondisi yang menguntungkan, akan tetapi hasil akhirnya adalah adanya perubahan bentuk, menggulungnya ujung (pucuk) atau kerusakan batang. Hasil akhirnya adalah adanya kematian pucuk, tetapi umumnya pucuk baru perlahan akan tumbuh secara normal dan membentuk jaringan tebu. Berbeda dengan sebelumnya, hasil penelitian Raid (2012), beberapa kejadian penyakit pokahbung

mengakibatkan adanya kematian pucuk yang mengakibatkan kematian seluruh tanaman. Gejala penyakit ini tergantung pada kerentanan kultivar dan lingkungan pertumbuhan organisme tersebut.

Menurut Mohammadi, *et.al.*, (2012) batang yang diinokulasikan pada uji patogenisitas pokahbung menunjukkan adanya perubahan warna dari merah menjadi coklat tua (perubahan warna internal dan eksternal), semua isolat menunjukkan perubahan warna pada batang kecuali pada perlakuan kontrol tanpa adanya inokulasi.

Temperatur adalah salah satu faktor alam yang penting pengaruhnya terhadap perkembangan dan penyebaran inokulum patogen. *Fusarium moniliforme* dapat tumbuh dan bersporulasi pada temperatur antara 20-30<sup>0</sup> C pada kondisi *in vitro* maupun *in vivo*. Temperatur minimum, optimum dan maksimum pertumbuhan patogen adalah 10-15°C, 30°C dan 35-40°C. Kejadian penyakit terparah dapat berlangsung pada kondisi temperatur 20°C-32°C dengan kelembapan yang tinggi yaitu mencapai 70-80% serta cuaca yang berawan pada musim penghujan dimulai dari bulan Juli hingga September (Vishwakarma, *et. al.*, 2013). Apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan, patogen bertahan hidup dalam bagian tanaman, baik di lapangan maupun selama masa penyimpanan. Pada saat kondisi lingkungan menguntungkan, patogen akan tumbuh dan berkembang pada bagian tanaman dan menular ke bagian tanaman lain (Djaenuddin, 2011).

Pokahbung muncul pada masa kondisi yang lembab dan diikuti dengan musin hujan. Pokahbung dapat muncul pada berbagai varietas dibandingkan penyakit lainnya. Hal ini dikarenakan patogen terdapat pada bagian permukaan tanaman yang dengan mudah sporanya akan tersebar melalui angin (Raid, 2012). Pathogen ini dapat dengan mudah ditemui pada akhir musim semi sampai awal musim panas. Umumnya muncul selama kondisi kebiasaan panas ketika tebu tumbuh subur.

### 2.3 Pengendalian *Fusarium moniliforme* pada tanaman tebu

Pengendalian atau pengelolaan penyakit dilakukan bertujuan untuk melindungi tanaman atau untuk mengurangi tingkat kerusakan tanaman. Teknik pengendalian penyakit merupakan usaha untuk melindungi tanaman inang dari infeksi patogen. Hal yang demikian disebut dengan profilaksis. Dalam pengelompokan profilaksis, terbagi menjadi 3 bagian yaitu, proteksi, peraturan dan eradikasi. Proteksi dilakukan dengan penggunaan bahan kimia (khemoterapi) yang bersifat perlindungan dan pengelolaan lingkungan yang menguntungkan bagi tumbuhan namun tidak bagi patogen. Peraturan dilakukan oleh pihak berwenang dalam hal ini negara melalui lembaga seperti badan karantina tumbuhan dan pengamat organisme pengganggu tanaman (monitoring). Sementara eradikasi dilakukan untuk penyembuhan dengan cara menghilangkan patogen yang menyerang dari sistem pertanaman. Cara inilah yang banyak digunakan dalam pelaksanaannya di lapang.

Pengendalian terhadap pokahbung yang disebabkan oleh *F.moniliforme* telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Pengendalian mulai dari biologi, kimia dan teknis diadaptasi oleh hasil penelitian. Pengendalian secara biologis misalnya dengan penggunaan mikroba antagonis. *T. viridae* memiliki peran yang nyata dalam pengendalian *F. moniliforme* secara *in vitro*. Berdasarkan hasil penelitian Gholib dan Kusumaningtyas (2002) ini dapat disimpulkan bahwa jamur *T. viride* pertumbuhannya agresif, menutupi koloni patogen lain, menghambat pertumbuhan patogen *F. moniliforme*, bahkan dapat melisis dinding hifa dengan enzim yang dihasilkannya, atau biasa disebut dengan *cellwall degrading enzymes*/CWDE. Selain itu jamur *T. viride* dapat melilit hifa *F. moniliforme* sehingga tidak dapat berkembang dan bersporulasi.

Pengendalian biologi selanjutnya adalah dengan menggunakan ekstrak tumbuhan yang memiliki kemampuan antagonis dalam perkembangan patogen. Beberapa bahan alami mampu menghambat pertumbuhan jamur diantaranya adalah ekstrak etanol kunyit *Curcuma domestica* memiliki aktivitas antifungi terhadap *Alternaria porri* secara *in vitro* (Nurhayati *et al.*, 2008). Penghambatan ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap *Aspergillus* spp. dan *F. moniliforme* (Handajani dan Purwoko, 2008). Ekstrak metanol daun salam

(*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk purut (*Citrus hirtus*) dapat menurunkan jumlah konidia dan berat hifa terhadap jamur *Fusarium oxysporum* (Noveriza dan Miftakhurohmah, 2010). Pengaruh ekstrak metanol daun salam terhadap jamur *F. moniliforme* memiliki diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 70 % (11,43 mm) dan ekstrak metanol daun kunyit memiliki daya hambat tertinggi pada konsentrasi 70 % (5,75 mm).

Hal ini disebabkan adanya senyawa flavonoid yang masuk ke dalam sel jamur melalui lubang pada membran sel yang terbentuk karena senyawa fenol telah mendenaturasi lipid membran sel. Senyawa protein tersebut akan terdenaturasi oleh flavonoid melalui ikatan hidrogennya. Kemampuan flavonoid mengikat protein menyebabkan pembentukan dinding sel terhambat sehingga pertumbuhan hifa juga terhambat karena komposisi dinding sel yang diperlukan tidak terpenuhi.

Penggunaan tanaman tahan juga merupakan salah satu teknik pengendalian yang sering digunakan. Penggunaan tanaman tahan dilakukan secara luas oleh pemulia tanaman karena memiliki banyak keunggulan seperti mudah diaplikasikan, tidak mencemari lingkungan, mengurangi dampak penggunaan pestisida, menurunkan laju inokulum dan mengurangi laju infeksi, serta kompatibel dengan pengendalian lain.

Pengelolaan lingkungan juga dapat dilakukan untuk menekan perkembangan inokulum *F.moniliforme*. Seperti misalnya kebersihan lahan dari brangkasan tebu yang sebelumnya terinfeksi oleh *F.moniliforme*, sanitasi lingkungan dengan melakukan *heating*, dan menjaga pH tanah agar tetap pada nilai pH kurang dari 6,00 (Raid,2000).

Penggunaan pestisida *Bavistin* (1 g/L air) atau *Blitox* (0,2%) atau *Copper oxychlorides* serta 0,3% *Dithane M-45* (3 g/L air) merupakan teknik pengendalian secara kimiawi yang efektif dapat menekan serangan patogen. Penyemprotan dilakukan selama 2 sampai 3 kali dengan interval 15 hari (Vishwakarma *et. al.*, 2013). Penggunaan pestisida layak untuk digunakan apabila digunakan secara tepat. Penggunaan pestisida harus dilakukan dengan bijaksana untuk menghindari adanya ketimpangan secara ekologis.

## 2.4 Teknologi untuk mendapatkan tanaman tahan

Sumber gen untuk ketahanan tanaman berasal dari tanaman tahan. Beberapa ketahanan tanaman dapat berasal dari varietas komersial asli dari daerah tersebut, dari luar daerah tersebut, varietas yang dibuang oleh pemulia karena tidak menunjukkan adanya gen ketahanan yang dimilikinya, kekerabatan tanaman liar dan tanaman hasil mutasi buatan. Pemuliaan tanaman dilakukan untuk menghasilkan tanaman tahan. Hal ini banyak dilakukan karena dapat menghasilkan produktifitas yang tinggi dalam jumlah besar dengan waktu yang singkat. Metode pemuliaan tanaman yang umum digunakan untuk memperoleh sifat ketahanan dapat bergantung pada bagaimana mekanisme sistem tanaman tersebut melakukan perkawinan. Akan tetapi seleksi ketahanan terhadap suatu penyakit hubungannya dengan sistem perkawinan tanaman akan menjadi lebih kompleks, karena harus adanya hubungan/interaksi antara tanaman dengan penyakit.

Menurut Abadi (2000), teknik pemuliaan klasik yang dapat digunakan untuk pemuliaan terhadap ketahanan penyakit diantaranya adalah dengan penggunaan seleksi benih, seleksi silsilah, seleksi berulang, murni dan beberapa teknik lainnya. Seleksi benih yaitu seleksi massa pada benih dari tanaman yang sangat tahan yaitu tanaman yang bertahan hidup dilahan dimana infeksi alami terjadi secara berkala. Seleksi silsilah yang melibatkan galur murni tanaman yang sangat tahan dan keturunannya diperbanyak secara terpisah dan diinokulasikan secara berulang untuk menguji ketahanannya. Metode ini mudah dan efektif pada tanaman yang menyerbuk sendiri seringkali seleksi silsilah ini diawali dengan persilangan dua tetua yang memiliki sifat ketahanan dan sifat agronomis yang berbeda untuk mendapatkan keturunan F1 yang tahan terhadap penyakit dan memiliki karakter agronomis yang diinginkan. Seleksi berulang dilakukan dengan menggunakan varietas yang diinginkan akan tetapi rentan disilangkan dengan kultivar lain atau kerabat liarnya yang membawa sifat gen ketahanan terhadap penyakit tertentu. Keturunannya selanjutnya diuji ketahanannya dan individu yang tahan disilangkan kembali pada varietas yang diinginkan tadi. Hal ini diulang kembali hingga didapatkan ketahanan yang stabil dilihat dari latar belakang genetik dari varietas yang diinginkan. Teknik lainnya yaitu dengan penggunaan

hibrida F1 dari dua galur yang berbeda tetapi masih homolog dan membawa gen yang berbeda dalam ketahanan, penggunaan perangsang mutan alami dan buatan yang menunjukkan kenaikan ketahanan terhadap tanaman dan perubahan jumlah kromosom.

Transformasi genetik juga merupakan salah satu teknik untuk mendapatkan varietas tahan. Menurut Abadi (2000) DNA diintroduksi ke dalam sel atau protoplas tanaman, dan DNA mungkin dapat atau mungkin tidak dapat berintegrasi dalam DNA kromosomal. Sampai saat ini lebih dari selusin gen untuk ketahanan penyakit telah diisolasi, dan telah ditransformasikan untuk ketahanan terhadap penyakit. Gen tersebut berasal dari gen tanaman inang, jamur, bakteri, dan virus. Pada umumnya diperkirakan bahwa pemuliaan tanaman untuk ketahanan terhadap penyakit melalui teknik rekayasa genetik akan lebih cepat menghasilkan tanaman yang tahan dibandingkan dengan cara klasik atau dengan melalui kultur jaringan.

Fusi protoplas dapat digunakan pula dalam perakitan tanaman tahan. Fusi protoplas akan sangat berguna bila dilakukan pada dua tanaman yang memiliki perbedaan tingkat ketahanan. Fusi protoplas pada tanaman semacam itu akan menghasilkan tanaman diploid dengan menggabungkan gen tahan dari dua galur haploid yang sangat tahan.

### **2.5 Kultur jaringan sebagai seleksi ketahanan tanaman**

Kemajuan dalam kultur jaringan yang meliputi perbanyakan pucuk meristem, kultur kalus, produksi tanaman haploid serta isolasi kultur, transformasi, fusi dan regenerasi protoplas ke dalam keseluruhan tanaman, telah membuka kemungkinan untuk perakitan tanaman tahan. Beberapa teknik kultur jaringan misalnya regenerasi tanaman dari kalus memungkinkan tanaman dapat memiliki variabilitas dalam banyak sifat termasuk sifat ketahanan tanaman terhadap penyakit. Kultur jaringan kalus pada tanaman yang tahan terhadap penyakit, terutama sangat berguna pada tanaman yang diperbanyak dengan cara klon. Produksi planlet dari meristem dan kultur jaringan dari bagian tanaman lainnya memungkinkan perbanyakan yang cepat dari tanaman dengan genotip khusus, terutama pada tanaman yang tidak mudah dikembangkan dengan biji.

Kultur *in vitro* tebu pertama kali dilakukan tahun 1961 oleh Nickell. Teknik ini memiliki potensi besar dalam pengembangan dan perbaikan genetik tanaman. Kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman yang seragam dan secara genetik identik dengan tanaman induk. Penelitian kultur jaringan tebu bertujuan antara lain untuk mengamati keragaman genetik kultur sel dan tanaman hasil regenerasinya, menemukan tanaman yang tahan penyakit, memperoleh tanaman dengan kandungan gula tinggi, mengamati organogenesis dan embriogenesis pada kultur tebu.

Tanaman hasil kultur jaringan dari kultur kalus sering menunjukkan variabilitas yang tinggi tetapi kebanyakan tanaman yang dihasilkan tidak berguna. Contohnya adalah ketahanan yang meningkat karena terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Cochliobolus* dan *Ustilago* didapatkan dari kultur jaringan tebu.



### III. METODOLOGI

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan Laboratorium Pemuliaan Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) Malang. Penelitian ini dilakukan pada bulan Pebruari 2013 - Juli 2013.

#### 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan yaitu lima macam klon tebu yaitu PS.06.195, PS.04.129, PS.05.311, PS.06.121 dan PS.06.395 yang diinokulasikan dengan filtrat *Fusarium moniliforme* dengan dua konsentrasi masing-masing 50% dan 60 %. Setiap perlakuan dilakukan dengan ulangan tiga kali dan disetiap ulangan terdiri atas 3 botol yang masing-masing berisi satu kalus perbotol dengan ukuran  $\pm 2-3$  mm. Interval pengamatan dilakukan setiap 4 hari sekali setiap minggunya setelah muncul gejala selama satu bulan. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisis statistika uji T berpasangan pada taraf 5%.

#### 3.3 Alat dan Bahan

##### 3.3.1 Alat

Pembiakan kultur *F.moniliforme* : autoklaf, oven, LAFC, alat diseksi (pinset/scalpel,cawan petri), plastik wrap, botol falkon, milipore 0,2 mm (untuk mendapatkan filtrate toksin) dan label. Penumbuhan kalus : alat-alat dari bahan gelas (erlenmeyer, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, botol/bulb, labu ukur, pengaduk dan botol ukur, cawan petri), rak kultur, lampu TL 40, bunsen, aluminium foil, sarung tangan, dan hand sprayer.

##### 3.3.2Bahan

Eksplan tebu diperoleh dari klon kultivar koleksi Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) Malang. Filtrat toksin *F.moniliforme*diperoleh dari hasil isolasi daun tebu bergejala pokah bung. Media PDA digunakan sebagai

media pertumbuhan inokulum *F.moniliforme* serta media MS padat digunakan sebagai media inisiasi dan inokulasi eskplan tebu.

### 3.4 Pelaksanaan

#### 3.4.1. Sterilisasi

Alat-alat dissecting-set dan glass ware yang akan digunakan untuk kulturjaringan, setelah dicuci dan dikeringkan kemudian disteril dengan menggunakan oven lalu dibungkus dengan kertas payung dandisterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}$  C, tekanan 15 psi, dan lama sterilisasi 20-30 menit (Prihandana dan Hendroko, 2006)

#### 3.4.2 Tahapan pembuatan media MS

1. Menyiapkan peralatan yang akan digunakan : timbangan analitik, gelas ukur, gelas piala, Erlenmeyer, tabung kultur, aluminium foil, pipet, stiring hot plate, dan pH meter.

2. Menyiapkan larutan induk sesuai dengan kebutuhan lalu dituang ke wadah plastic. Larutan makro dan mikro dan sertalarutan hormone dan vitamin, ditimbang sesuai dosis dan dimasukkan kedalam wadah untuk dihomogenkan. Kemudian menimbang sukrosa sebanyak 30 gram lalu dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 800 ml. Selanjutnya ditambah air kelapa sebanyak 100 ml. sehingga volume larutan menjadi 900 ml. Campuran larutan induk yang sebelumnya telah dilarutkan ke dalam aquadest, ditambahkan ke dalam larutan sukrosa dengan air kelapa sebanyak 100 ml, sehingga volume menjadi 1000 ml. lalu dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer hingga menjadi homogeny.

3. Mengukur pH media, pH yang dibutuhkan di dalam pembuatan media ialah sebesar 5,8. Jika pH masih dibawah 5,8 maka diperlukan larutan NaOH untuk menaikkan pH agar menjadi 5,8 dan jika pH diatas 5,8 maka diperlukan larutan KCl untuk menurunkan pH agar menjadi 5,8.

4. Setelah itu larutan media dalam Erlenmeyer ditutupp dengan menggunakan aluminium foil dan diikat dengan tali untuk menghindari adanya media yang tumpah pada saat pemasakan dan pensterilan dengan autoklaf.

5. Pemasakan dan pensterilan media menggunakan autoklaf. Suhu yang digunakan untuk pemasakan media adalah  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Sedangkan suhu yang digunakan untuk pensterilan media adalah  $118^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Pemasakan media bertujuan untuk melarutkan agar dan sukrosa supaya homogeny.

6. Laurutan media dituang kedalam tabung kultur yang telah disiapkan dengan masing-masing volumenya adalah 20 ml. selanjutnya tabung kultur ditutup menggunakan plastic dan diikat dengan karet gelang untuk menghindari adanya kontaminasi.

Media kultur terdiri dari media dasar MS inti dengan modifikasi dengan menggunakan sukrosa, agar-agar powder dan ZPT. Alasan menggunakan sukrosa yaitu karena pada waktu pemanasan medium sukrosa akan terhidrolisis menjadi monosakarida yang lebih mudah digunakan daripada fruktosa dan glukosa. Sedangkan agar-agar powder berfungsi sebagai pematat untuk menumbuhkan kalus. Penambahan auksin yaitu 2,4 D berfungsi sebagai induksi dan penumbuhan kalus.

### **3.4.3 Seleksi eksplan tanaman tebu**

Eksplan tanaman tebu diambil langsung dari tanaman tebu dewasa yaitu bagian pucuk karena bagian tersebut merupakan daerah jaringan meristem yaitu jaringan yang aktif membelah. Eksplan yang digunakan adalah irisan daun muda yang masih muda yang masih menggulung dari pucukan tebu berumur 3-7 bulan. Dipilihnya jaringan daun muda yang masih menggulung karena merupakan bagian yang paling cepat membentuk kalus.

### **3.4.4 Inokulasi eksplan tanaman tebu**

Inokulasi eksplan merupakan tahap pertama sebagai awal dari penumbuhan kalus. Tahapan inokulasi kalus sebagai berikut: tanaman yang berumur  $\pm$  3-7 bulan (di dalam botol kultur), disayat dan dipotong berupa bagian tunas pucuk menggunakan pisau skapel steril, dengan ukuran masing-masing  $\pm$  2-3 mm, direndam dalam larutan antiseptis (alcohol 95%) kemudian ditanam ke dalam media MS dengan menggunakan pinset steril. Botol kultur tersebut kemudian ditutup dengan menggunakan plastic dan diikat dengan karet gelang. Botol-botol

tersebut disimpan di dalam rak yang tertutup kain berwarna gelap agar kalus tumbuh dengan cepat.

#### **3.4.5 Isolasi *Fusarium moniliforme***

Isolasi *F.moniliforme* dilakukan dari bagian tanaman tebu bergejala penyakit pokahbung dengan ciri-ciri helaian yang baru saja membuka pangkalnya tampak klorosis dan pada bagian ini kelak timbul titik-titik atau garis-garis merah. Tanaman daun tebu yang bergejala pokah bung diisolasi pada media PDA (Potato Dextrose Agar). Tanaman yang bergejala dipotong  $\pm 1$  cm dengan bagian 50% bergejala dan 50% sehat, kemudian disteril dengan menggunakan alcohol 70% dan aquades dengan pengulangan 3 kali masing-masing 3 menit. Lalu ditanam pada media PDA selanjutnya diinkubasi selama 7 hari. Setelah 7 hari hasil isolasi tersebut diamati kemudian dimurnian supaya didapatkan isolatmurni *F.moniliforme*. Ciri-ciri koloni biakan pokahbung pada media PDA yaitu berwarna putih keunguan dengan spora udara yang sedikit. Pemurnian dilakukan dengan menggunakan media PDA. Isolat pokahbung murni dibiakan selama 10 hari sebelum pembentukan filtrat Fusarium.

#### **3.4.6 Pembentukan filtrate toksin *Fusarium moniliforme***

Konidia cendawan *F.moniliforme* diperoleh dari biakan isolat yang berumur 10 hari pada media PDA. Sebanyak  $\pm 10$  ml air steril dituang di atas kultur. Suspensi yang berisi konidia cendawan dimasukkan ke dalam falkon 15 ml dan divortek selama  $\pm 1$  menit. Suspensi selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 10.000 xg selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet konidia diresuspensikan dengan penambahan 5 ml akuades steril kemudian disaring dengan *milipore* 0,2 mm untuk mendapatkan filtrate toksin sampai dengan konsentrasi 100%. Konsentrasi filtrate yang digunakan sebagai uji ketahanan adalah 50% dan 60%.

#### **3.4.7 Mekanisme uji ketahanan**

Mekanisme uji ketahanan beberapa kultivar kalus tebu dilakukan di Laboratorium kultur jaringan BALITTAS dengan menggunakan media pertumbuhan kalus padat. Media yang digunakan sebagai media pertumbuhan uji ketahanan adalah media MS Iyang dihomogenkan dengan filtrate *F.moniliforme*. Dalam satu media uji ketahanan dengan konsentrasi 50%, volume filtrate

Fusarium dengan konsentrasi 50% diambil dari konsentrasi filtrate 100% sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan dengan media MS I sebanyak 10 ml, sehingga terbentuk media uji dengan konsentrasi 50%. Selanjutnya media uji ketahanan dengan konsentrasi 60%, volume filtrate Fusarium dengan konsentrasi 60% diambil dari konsentrasi filtrate 100% sebanyak 12 ml kemudian ditambahkan dengan media MS I sebanyak 8 ml, sehingga terbentuk media uji dengan konsentrasi 60%. Setelah terbentuk media uji ketahanan, kalus yang telah berusia 4 minggu dipindahkan pada media uji. Setiap 1 botol media uji berisi masing-masing 1 kalus. Pindahkan kalus pada media uji dilakukan dengan hati-hati. Setelah kalus dipindah, selanjutnya botol-botol tersebut diletakkan pada rak kultur dengan pencahayaan lampu TL 40.

### 3.4.8 Pengamatan

Parameter pengamatan meliputi :

a. Kalus hidup

Kalus hidup ditandai dengan adanya pertambahan massa pada hari pertama pengamatan hingga hari pengamatan terakhir. Metode yang digunakan adalah dengan cara menimbang masa kalus pada setiap waktu pengamatan. Kategori kalus hidup apabila terdapat kalus dengan massa yang bertambah pada setiap pengamatan, dan kategori kalus mati apabila terdapat kalus dengan tidak adanya massa yang bertambah pada setiap pengamatan.

b. warna kalus

Kalus yang sehat ditandai dengan adanya warna yang lebih terang daripada kalus yang sakit. Apabila terdapat warna yang senada akan tetapi pertumbuhannya berbeda, dilakukan uji lanjutan yaitu dengan menekan bagian kalus dengan menggunakan scalpel steril pada LAFC. Kalus sehat apabila kalus tersebut saat ditekan keras, dan kalus mati apabila saat ditekan mengeluarkan cairan busuk.

c. Panjang kalus

Perhitungan panjang kalus dilakukan didalam LAFC untuk menghindari kontaminasi. Perhitungan panjang kalus dilakukan dengan menggunakan penggaris sederhana dengan beralaskan kertas millimeter block guna menambah daya akurasinya.

d. Berat kering kalus

Pengamatan berat kering kalus dilakukan pada akhir pengamatan. Pengamatan ini dilakukan dengan cara kalus dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  selama  $2 \times 24$  jam. Lalu kemudian ditimbang massa akhirnya pada setiap ulangan.



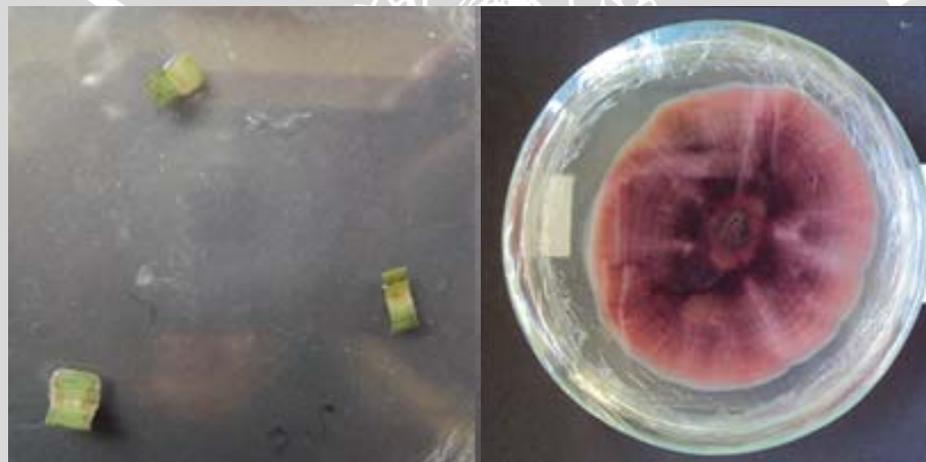
#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyakit tumbuhan adalah setiap kerusakan yang berkaitan dengan pengambilan nutrisi, mineral dan air, gangguan sintesa bahan makanan, translokasi dan

metabolism sedemikian rupa sehingga mempengaruhi penampakan, hasil tanaman apabila dibandingkan dengan tanaman yang sehat dari varietas yang sama karena adanya gangguan patogen atau gangguan factor lingkungan. Penyakit tumbuhan yang disebabkan oleh pathogen dapat terjadi akibat adanya interaksi antara patogen dan inang, serta didukung oleh faktor lingkungan. Patogen menyerang tumbuhan karena selama perkembangan evolusinya telah mendapatkan kemampuan memanfaatkan zat-zat yang dihasilkan tumbuhan inang.

#### 4.1 Isolasi dan identifikasi *Fusarium moniliforme*

Isolat *F.moniliforme* yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil dari Uji Postulat Koch. Isolat *F.moniliforme* tersebut diinokulasikan pada daun tebu dan ditunggu hingga muncul gejala.



A

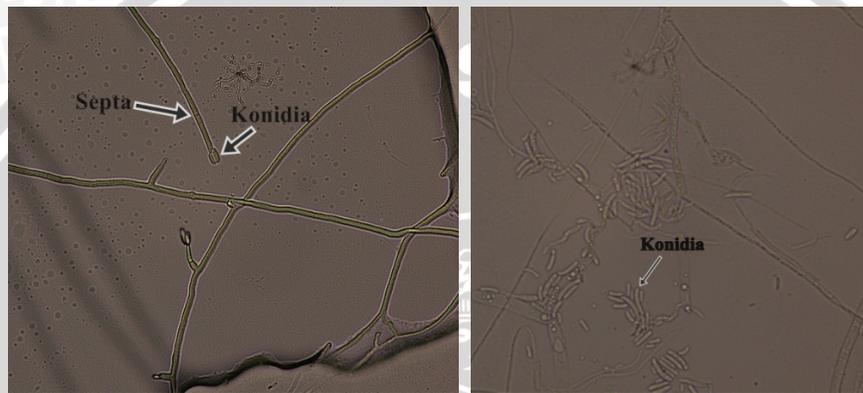
B

Gambar 3. Hasil isolasi *Fusarium moniliforme* pada media PDA.

A. Hasil inokulasi, B. *F.moniliforme* umur 7 hari

Ciri-ciri dari biakan murni pada media PDA adalah koloni dengan warna putih keunguan dengan masa spora udara yang tipis dan tidak mencapai luasan yang maksimum pada cawan petri berdiameter 9 cm setelah biakan berumur 7 hari sejak isolasi pada kondisi suhu, kelembapan, dan cahaya ruangan (kondisi gelap dan terang masing-masing 12 jam) di laboratorium Fitopatologi.

Secara mikroskopis diketahui bahwa cendawan ini memiliki miselium yang hyaline bercabang dan bersekat. Makrokonidia berbentuk bulan sabit, berwarna hyalin dan bersekat. Mikrokonidianya berbentuk bulat dan membentuk rantai panjang serta hyalin dan berwarna terang. Sesuai dengan Semangun, (2008) jamur membentuk makrokonidium bengkok seperti sabit yang memunyai 3-7 sekat, berukuran 25-60 x 2,5-4  $\mu\text{m}$ , tergantung dari banyaknya sekat. Memiliki mikrokonidium bersel satu, berbentuk kumparan atau jorong, 14-18 x 4,5-6  $\mu\text{m}$ .



Gambar 4. Mikroskopis *Fusarium moniliforme* (perbesaran 400x)

## 4.2 Ketahanan kalus beberapa kultivar klon tebu

### 4.2.1 Warna kalus

Penelitian terhadap ketahanan kalus terhadap beberapa klon tebu ini berpengaruh pada warna kalus. Adanya kenampakan perubahan kalus terlihat jelas setiap minggunya pada setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan selama 4 minggu sekali dengan mengamati adanya perubahan warna jika dibandingkan dengan kontrol. Hasil dari rerata perubahan warna pada akhir pengamatan disajikan pada tabel 1 berikut ini :

Tabel1. Hasil warna kalus tiap ulangan

Perlakuan	Gambar	Keterangan	
		Warna	Ketahanan*

Kontrol + PS.06.195



Kuning Tahan

Kontrol + PS.04.129



Kuning Tahan

Kontrol + PS.05.311



Kuning Tahan

Kontrol + PS.06.121



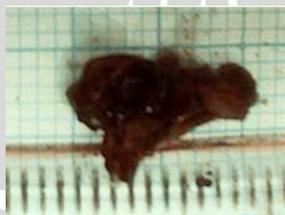
Kuning Tahan

Kontrol + PS.04.395



Kuning Tahan

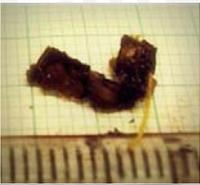
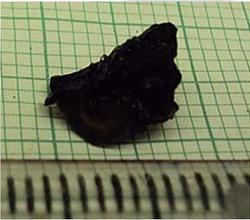
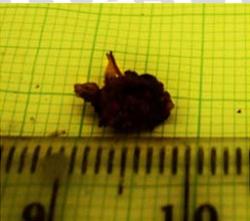
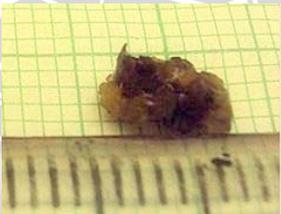
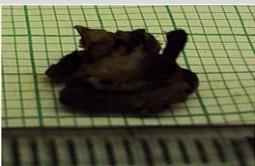
50 % + PS.06.195



Cokelat  
Hitam Tahan

Tabel ketahanan kalus berdasarkan Yunus(2000)

Perlakuan	Gambar	Keterangan	
		Warna	Ketahanan
Kontrol + PS.06.195		Kuning	Tahan
Kontrol + PS.04.129		Kuning	Tahan
Kontrol + PS.05.311		Kuning	Tahan
Kontrol + PS.06.121		Kuning	Tahan
Kontrol + PS.04.395		Kuning	Tahan
50 % + PS.06.195		Cokelat Hitam	Tahan

50 % + PS.04.129		Cokelat Hitam	Moderat
50 % + PS.05.311		Hitam	Rentan
50 % + PS.06.121		Kuning Cokelat	Tahan
50 % + PS.04.395		Cokelat Hitam	Moderat
60% + PS.06.195		Kuning Cokelat	Tahan
60% + PS.04.129		Kuning Cokelat dan tumbuh sedikit tunas	Tahan
60% + PS .05.311		Cokelat Hitam	Moderat

Terdapat kalus tanaman berdasarkan Yunus(2000)

Perlakuan	Gambar	Keterangan	
		Warna	Ketahanan

60% + PS.06.121

Cokelat  
Hitam Moderat

60% + PS.04.395

Kuning  
Cokelat Tahan

\*Tingkat ketahanan kalus berdasarkan Yunus(2000)

Hasil warna kalus pada setiap ulangan menunjukkan adanya perubahan warna kalus yang signifikan. Perubahan warna kalus dengan warna yang paling gelap adalah pada perlakuan 50 % + PS.05.311 dan 60% + PS.06.121. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa warna dengan tingkat gelap paling tinggi yaitu pada klon PS.05.311 dengan konsentrasi filtrat kultur *F.moniliforme* sebesar 50% yang memiliki warna hitam. Sedangkan rerata warna kalus yang paling terang adalah pada perlakuan dengan konsentrasi 60% pada klon PS.06.195 yaitu dengan rerata warna kuning coklat. Klon PS.04.129 memiliki warna cerah kuning kecoklatan dengan tumbuhnya sedikit tunas. Hal ini menunjukkan adanya sifat yang tahan pada klon PS.04.129 terhadap FK *F.moniliforme*.

Segi kepekaan kalus dalam warna berpengaruh terhadap ketahanan kalus terhadap cekaman pathogen. Kalus yang memiliki warna paling gelap diindikasikan memiliki ketahanan yang rentan terhadap pathogen *F.moniliforme* daripada kalus yang berwarna lebih coklat. Hal ini disebabkan sudah tidak adanya kalus yang mampu berdiferensiasi dan tidak dapat melakukan pembelahan selnya. Seperti pula dengan tanaman yang sehat, kalus sakit pun akan mengalami penurunan tingkat kecerahan warna apabila terkena serangan pathogen. Warna kalus yang terlihat lebih coklat atau mengarah ke coklat tua mungkin disebabkan adanya senyawa fenol dari jaringan. Menurut Wattimena (1991) dalam Trimulyono, *et. al.* (2004), senyawa-senyawa fenol dapat menghambat

pembelahan sel, pembesaran sel dan pertumbuhan. Hal ini sesuai pernyataan mengenai hubungan pembelahan sel dan penyerapan warna oleh Steve dan Sussex (1994) dalam Tonga, *et. al* (2012) yang pendapat bahwa warna kalus yang menunjukkan kalus bagus adalah hijau karena aktifitas pembelahan selnya tinggi ditunjukkan dengan penyerapan warna yang tinggi.

Hubungan antara ketahanan kalus dan perubahan intensitas warna kalus juga diperkuat oleh pernyataan Yunus (2000) yaitu kriteria tingkat ketahanan sel kalus adalah tinggi apabila sel kalus memiliki warna putih kekuningan, sedang apabila sel kalus memiliki warna kekuningan dan rendah apabila sel kalus memiliki warna coklat kehitaman.

Selain itu, Hassanein (1999) *cit.* Matheka *et al.*, (2008) dalam Zuhilmi, *et. al* (2012) menyatakan bahwa pencoklatan eksplan merupakan efek dari hilangnya air akibat sel mengalami cekaman osmotik. Kalus mati merupakan kalus yang tidak tertransformasi, dan kalus yang mengalami pencoklatan sehingga tidak mampu bertahan dalam medium mengandung higromisin. Sedangkan kalus tumbuh pada medium seleksi adalah kalus transforman. Kalus tersebut berwarna kuning, remah, berstruktur embriogenik, dan berkembang membentuk planlet (Siswanto, *et. al.*, 2003)

Perlakuan kontrol tidak terlihat adanya perubahan warna yang signifikan, karena tidak adanya perlakuan penambahan konsentrasi filtrat kultur *F.moniliforme*. Warna yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol adalah berwarna kuning, sesuai dengan warna kalus sebelum diinokulasikan dengan media MS I + filtrat *F.moniliforme*. Hal ini menunjukkan kalus tanpa inokulasi filtrat masih dapat melakukan proses diferensiasi kalus meskipun ada beberapa kalus yang mengalami sedikit pencoklatan.

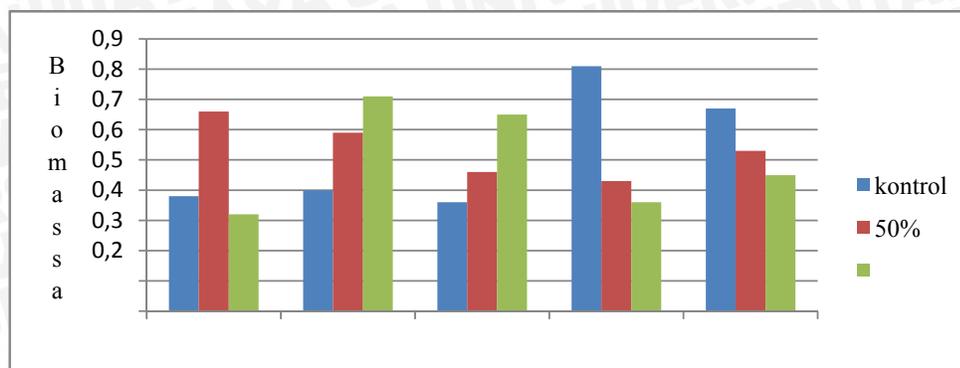
Kemungkinan adanya pencoklatan ini disebabkan karena faktor mekanik, salah satunya adalah saat pemotongan kalus pada LAFC pada saat sterilisasi. Pemotongan pada kalus yaitu dengan cara memotong kalus berdekatan dengan pembakaran api Bunsen. Hal lain yang dapat menyebabkan *browning* (pencoklatan) pada kalus yaitu dikarenakan adanya senyawa kimiawi yang mendorong pembentukan senyawa fenol seperti yang dikemukakan Santoso dan Nursandi (2003) dalam Tonga, *et. al* (2012).

#### 4.2.2 Biomassa Kalus Tebu

Kalus tebu yang telah diberi perlakuan filtrat kultur *Fusarium moniliforme* 60% dan 50% dalam media MS I menunjukkan respon yang beragam dalam perkembangan berat basah kalus. Tiga klon tebu yang diinokulasikan pada media MS I + filtrat toksin *Fusarium* menunjukkan adanya penurunan berat basah yang signifikan tiap minggunya, akan tetapi dua klon lainnya menunjukkan adanya penambahan berat basah hingga terlihat terbentuknya pertumbuhan tunas yang sehat pada beberapa ulangan.

Dari hasil rerata berat basah kalus menunjukkan bahwa pada Klon PS. 04. 129 dan PS 05. 311 menunjukkan adanya pertambahan massa kalus setiap minggunya. Klon PS. 04. 129 menunjukkan rerata berat basah kalus sebesar 0,59 g pada konsentrasi filtrat 50% dan 0,71 g pada konsentrasi filtrat 60%, rerata massa ini lebih besar apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu sebesar 0,40 g saja. Begitu pula dengan klon PS.05.311 yang juga menunjukkan bertambahnya rerata massa kalus tiap minggunya, yaitu pada konsentrasi 50% dan 60% yang masing-masing sebesar 0,46 g dan 0,65 g lebih besar jika dibandingkan dengan massa kontrol sebesar 0,36 g (grafik 1). Hal ini juga terjadi pada klon PS. 06. 195 pada konsentrasi filtrat 50% yang menunjukkan nilai rerata pertumbuhan diferensiasi kalus yang lebih besar daripada pertumbuhan kalus kontrol. Hal ini berbeda dengan konsentrasi 60% yang menunjukkan adanya penurunan rerata massa kalus tiap minggunya. Penurunan massa kalus yang terlihat signifikan terdapat pada klon PS .06.121.

Hasil analisis ragam menggunakan uji T menunjukkan ada dua hal yang terlihat jelas pada hasil signifikan perlakuan. Hasil signifikan pertama yang menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan klon dengan pemberian filtrat kultur (FK) *F.moniliforme* dan hasil signifikan kedua adalah tidak adanya beda nyata antar perlakuan klon dengan pemberian filtrat kultur *F.moniliforme*.



Gambar 5. Grafik biomassa kalus 5 macam kultivar tebu pada konsentrasi 50% dan 60% serta kontrol

Hasil uji T menunjukkan adanya salah satu perbedaan nyata terhadap perlakuan Kontrol PS.04.395 - FK 50%. PS.04.395. Nilai signifikansi dari perbandingan antara kedua perlakuan ini adalah sebesar 0,059, dimana nilai ini memiliki nilai signifikansi lebih besar daripada nilai kritik 0,05. Sehingga didapatkan hasil analisis yang menunjukkan adanya beda nyata pada perlakuan ini yang didasarkan pada penerimaan  $H_0$ . Hal ini berarti kultivar PS.04.395 pada konsentrasi filtrat kultur *F. moniliforme* memiliki sifat ketahanan yang rentan apabila dibandingkan dengan kontrol, kultivar yang sama pada perlakuan konsentrasi FK Fusarium berbeda dan kultivar lainnya. Sedangkan pada beberapa perlakuan kultivarlainnya apabila dibandingkan dengan kontrol masing-masing perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini disebabkan adanya nilai signifikansi lebih kecil daripada nilai kritiknya. Sehingga dapat dikatakan pada perlakuan ini nilai  $H_0$  ditolak yang artinya tidak ada perbedaan antara perlakuan kontrol dan perlakuan kultivar yang diinokulasikan dengan menggunakan kultur filtrat *F.moniliforme*. Hasil analisa tersebut menunjukkan adanya kalus yang bersifat tahan terhadap inokulasi filtrat *F.moniliforme* karena tidak adanya pengaruh yang berbeda antara kontrol dengan kalus perlakuan.

Beberapa hal mempengaruhi sifat ketahanan dari suatu kalus tanaman, yaitu proses diferensiasi masing-masing kalus dan tanggapannya terhadap suatu penyakit. Sifat genetika setiap kalus yang berbeda juga berpengaruh terhadap respon serangan penyakit .

Berdasarkan hasil analisis ragam diatas, diketahui bahwa konsentrasi filtrat kultur *F. moniliforme* memberikan pengaruh beda nyata terhadap pertumbuhan maupun penurunan diferensiasi kalus.

Table 2. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi biomassa kalus

	Pasangan Pengujian	Sig	Alpha
Pasangan 1	Kontrol PS.06.195 - FK 50%. PS.06.195	0,021	0,05
Pasangan 2	Kontrol PS.06.195 - FK 60%. PS.06.195	0,001	0,05
Pasangan 3	Kontrol PS.04.129 - FK 50%. PS.04.129	0,001	0,05
Pasangan 4	Kontrol PS.04.129 - FK 60%. PS.04.129	0,012	0,05
Pasangan 5	Kontrol PS.05.311 - FK 50%. PS.05.311	0,014	0,05
Pasangan 6	Kontrol PS.05.311 - FK 60%. PS.05.311	0,008	0,05
Pasangan 7	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,002	0,05
Pasangan 8	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,002	0,05
Pasangan 9	Kontrol PS.04.395 - FK 50%. PS.04.395	0,059	0,05
Pasangan 10	Kontrol PS.04.395 - FK 60%. PS.04.395	0,015	0,05

Adapun kriteria tingkat ketahanan sel kalus menurut Yunus (2000) adalah:

(1) tinggi: apabila sel kalus mampu berproliferasi secara cepat, struktur kompak, warna putih kekuningan, (2) sedang: apabila sel kalus kurang dapat berproliferasi, struktur remah, warna kekuningan (3) rendah: apabila sel kalus tidak mampu berproliferasi, struktur lembek, warna coklat kehitaman. Maka dapat disimpulkan bahwa kalus dengan klon PS.04.395 memberikan tingkat ketahanan yang rendah terhadap filtrat kultur *F.moniliforme* pada konsentrasi 50%. Hal ini disebabkan oleh filtrat toksin kultur *F.moniliforme* menurunkan massa kalus secara signifikan. Hal ini dimungkinkan kalus tidak dapat membatasi pengaruh filtrat *F.moniliforme* dengan adanya sifat struktural (penebalan dinding sel), sehingga mengakibatkan kerusakan berat yang menimbulkan kerugian yang berarti.

Kalus tahan memiliki salah satu bentuk pertahanan eksplan terhadap pengaruh filtrat *F.moniliforme* dengan diproduksinya senyawa fenol oleh jaringan inang dalam responnya terhadap filtrat Fusarium (Van den Bulk, 1991) dalam Wati (2006). Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar penghambatan ekstrak *F. moniliforme* terhadap sel kalus menyebabkan semakin besar persentase penyusutan massa kalus (Yunus, 2000). Hal ini juga dimungkinkan karena adanya faktor genetika yang mengekspresikan gen kerentanan pada serangan Fusarium

pada setiap klon tebu yang diinduksi kultur Fusarium. Alin & Nurdi (2003) dalam Kusumawati (2012) menyatakan bahwa pengaruh perbedaan sifat genetik suatu varietas tanaman mempengaruhi daya perkembangan tanaman tersebut pada berbagai kondisi lingkungan maupun cekaman yang diberikan.

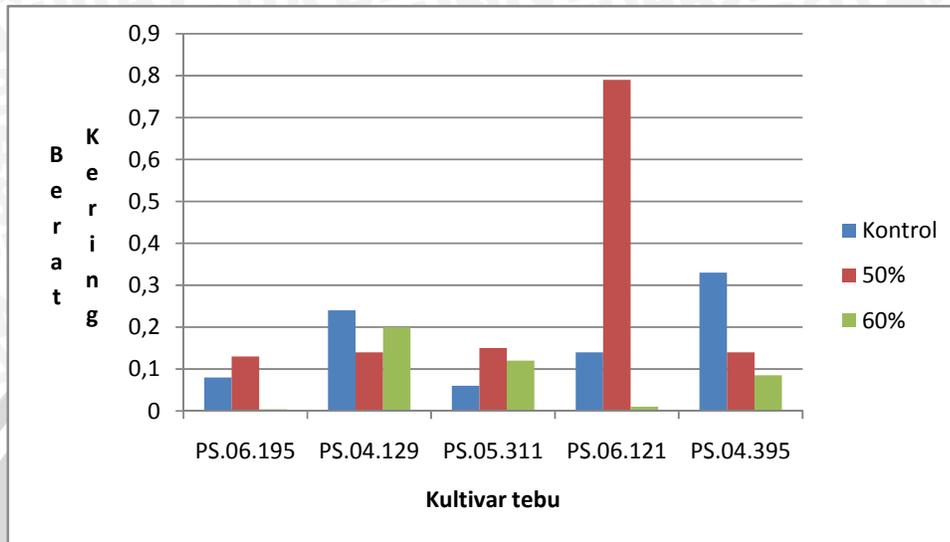
Hasil analisis regresi antara warna kalus dan rerata biomassa kalus tidak terdapat hubungan yang nyata ( $R^2=0,11$ ), hal ini berarti tidak ada hubungan antara warna kalus dengan rerata massa kalus. Sehingga warna kalus tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan maupun penurunan massa kalus. Dengan demikian semakin hitam warna kalus tidak mempengaruhi penurunan rerata massa kalus, begitu sebaliknya, semakin besar penurunan massa kalus tidak mempengaruhi perubahan yang signifikan terhadap warna kalus. Hal ini berbeda dengan pernyataan Yunus (2000) bahwa terdapat hubungan antara warna kalus dengan tingkat ketahanan kalus berdasarkan tingkat poliferasi kalus.

#### 4.2.3 Berat Kering Kalus Tebu

Berat kering kalus diukur pada akhir pengamatan. Kalus dipanen setelah masa inkubasi selama 4 minggu. Kalus yang diamati dilepaskan dari media MS I + filtrat kultur Fusarium moniliforme pada konsentrasi 50% dan 60%. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven untuk mengetahui berat kering akhir.

Hasil akhir berat kering kalus menunjukkan bahwa berat akhir setiap perlakuan seragam. Perbedaan mencolok terlihat pada berat kering kultivar tebu PS.06.121 sebesar 0,79 g pada konsentrasi FK *F.moniliforme* 50%. Berat kering akhir kultivar PS.06.121 merupakan berat kering akhir tertinggi diantara perlakuan lainnya. Hal ini dimungkinkan karena klon PS.06.121 memiliki biomassa yang paling tinggi diantara klon lainnya, sehingga pada perlakuan pengeringan menggunakan oven, kalus yang memiliki biomassa yang tinggi akan mengalami penguapan yang lebih kecil daripada kalus yang memiliki biomassa yang rendah. Berat kering terendah dihasilkan pada kultivar PS.06.195 pada konsentrasi FK *F.moniliforme* 60% yaitu dengan nilai BK sebesar 0,004 g saja. Berdasarkan grafik 2 diatas, dapat diketahui bahwa berat kering masing-masing klon perlakuan kontrol dan dengan inokulasi dengan FK *F.moniliforme* 60%

seragam, sedangkan pada konsentrasi 50% BK yang dihasilkan berbeda secara signifikan, khususnya pada klon PS.06.195.



Gambar 6. Grafik berat kering akhir kalus kultivar tebu pada pemberian FK *F.moniliforme* dengan konsentrasi 50% dan 60% serta kontrol

Hasil analisis ragam uji T menghasilkan sebaran data bervariasi. Beberapa klon menunjukkan hasil yang tidak nyata apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, dan sebagian data lagi menunjukkan nilai yang berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Nilai beda nyata dan tidak beda nyata pada masing-masing perlakuan ditentukan oleh adanya interpretasi dari penerimaan H0 dan penolakan H0.

Hasil analisis statistika menghasilkan data bahwa pada klon FK 50%. PS.06.195, FK 60%. PS.06.195, FK 60%. PS.05.311, FK 50%. PS.06.121 memiliki nilai signifikansi yang lebih rendah daripada nilai kritik 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa pada perlakuan tersebut H0 ditolak, sehingga perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan yang diinokulasikan dengan perlakuan kontrol.

Tabel3. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi BK kalus tebu

Pasangan Pengujian	Sig	Alpha
--------------------	-----	-------

Pasangan 1	Kontrol PS.06.195 - FK 50%. PS.06.195	0,016	0,05
Pasangan 2	Kontrol PS.06.195 - FK 60%. PS.06.195	0,023	0,05
Pasangan 3	Kontrol PS.04.129 - FK 50%. PS.04.129	0,46	0,05
Pasangan 4	Kontrol PS.04.129 - FK 60%. PS.04.129	0,809	0,05
Pasangan 5	Kontrol PS.05.311 - FK 50%. PS.05.311	0,251	0,05
Pasangan 6	Kontrol PS.05.311 - FK 60%. PS.05.311	0,009	0,05
Pasangan 7	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,184	0,05
Pasangan 8	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,006	0,05
Pasangan 9	Kontrol PS.04.395 - FK 50%. PS.04.395	0,688	0,05
Pasangan 10	Kontrol PS.04.395 - FK 60%. PS.04.395	0,576	0,05

Sedangkan pada klon FK 50%. PS.04.129, FK 60%. PS.04.129, FK 50%. PS.05.311, FK 50%. PS.06.121, FK 50%. PS.04.395 dan FK 60%. PS.04.395 memiliki nilai signifikansi yang lebih besar daripada  $H_0$  sehingga  $H_0$  diterima. Interpretasi dari  $H_0$  diterima yaitu perlakuan yang diberikan dengan adanya inokulasi filtrat kultur *F.moniliforme* memberikan pengaruh yang nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan adanya reaksi ketahanan yang diberikan pada setiap kultivar tebu yang diinokulasi.

Kadar air pada kultivar yang memiliki rerata biomassa rendah, apabila pada perlakuan pengeringan menggunakan oven, kalus dengan biomassa yang rendah akan mengalami penguapan yang lebih tinggi daripada pada kalus yang memiliki biomassa yang lebih besar. Trimulyono (2004) menyebutkan bahwa berat basah kalus akhir yang diperoleh dari hasil penelitian menunjukkan beda nyata namun berat kering kalus yang diperoleh tidak menunjukkan beda nyata, hal ini dimungkinkan karena kalus yang diperoleh setelah perlakuan lebih banyak mengandung air sehingga pada saat proses pengeringan, air akan menguap yang akan mempengaruhi berat kering kalus.

Berat kering merupakan salah satu indikator yang paling sering digunakan untuk menentukan adanya pertumbuhan massa pada setiap pengamatan. Berat kering merupakan berat tanaman yang hanya berisi hasil metabolisme setelah kandungan airnya dihilangkan melalui pengeringan. Produksi tanaman lebih akurat dinyatakan dengan berat kering, karena berat kering tidak dipengaruhi oleh kandungan air (Handayani, *et. al.*, 2012)

Terlihat bahwa pada berat kering tiap klon kalus pada konsentrasi filtrat kultur *F.moniliforme* berbeda nyata. Kriteria ketahanan tanaman ada harusnya

saling berkolerasi dengan hasil berat kering tanaman(Rinanto, 2011). Hasil penelitian terhadap pengujian beberapa kultivar tebu ini juga menghasilkan adanya perbedaan yang nyata terhadap berat kering kalus yang diinokulasikan dengan filtrat kultur *F.moniliforme*. Hal ini mengindikasikan bahwa berat kering berpengaruh terhadap sifat ketahanan kalus tebu.

#### 4.2.4 Panjang Kalus

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kalus kontrol dengan kalus perlakuan. Hasil dari pengukuran panjang kalus disajikan pada tabel6dibawah. Kalus yang dapat berdiferensiasi akan memiliki ukuran yang lebih panjang apabila dibandingkan dengan kalus kontrol. Pertambahan panjang kalus menunjukkan adanya ketahanan terhadap kalus perlakuan.



Gambar 7. Perbandingan panjang kalus yang tidak dapat berdiferensiasi (A) dan kalus yang berdiferensiasi membentuk tunas (B)

Perlakuan yang terlihat sangat nyata terdapat pada klon PS.04.129 dengan konsentrasi filtrat kultur 60%. Pada klon PS.04.129 menunjukkan adanya rerata kalus terpanjang. Hal ini diimbangi dengan adanya tunas yang tumbuh dengan sehat dari kalus perlakuan. Hasil perhitungan dari panjang kalus klon PS.04.129

dapat dinyatakan sebagai kalus yang tahan terhadap serangan pathogen karena tunas masih tetap dapat tumbuh pada perlakuan inokulasi filtrat *F.moniliforme*. Panjang kalus terendah terdapat pada klon PS.05.311 dengan tidak adanya konsentrasi filtrat *F.moniliforme* (kontrol).

Tabel4. Hasil analisis yang menunjukkan taraf signifikansi panjang kalus tebu

	Pasangan Pengujian	Sig	Alpha
Pasangan 1	Kontrol PS.06.195 - FK 50%. PS.06.195	0,010	0,05
Pasangan 2	Kontrol PS.06.195 - FK 60%. PS.06.195	0,006	0,05
Pasangan 3	Kontrol PS.04.129 - FK 50%. PS.04.129	0,236	0,05
Pasangan 4	Kontrol PS.04.129 - FK 60%. PS.04.129	0,080	0,05
Pasangan 5	Kontrol PS.05.311 - FK 50%. PS.05.311	0,18	0,05
Pasangan 6	Kontrol PS.05.311 - FK 60%. PS.05.311	0,024	0,05
Pasangan 7	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,003	0,05
Pasangan 8	Kontrol PS.06.121 - FK 50%. PS.06.121	0,010	0,05
Pasangan 9	Kontrol PS.04.395 - FK 50%. PS.04.395	0,157	0,05
Pasangan 10	Kontrol PS.04.395 - FK 60%. PS.04.395	0,191	0,05

Hasil analisis ragam uji T berpasangan menunjukkan adanya sebaran data yang bervariasi antara panjang kalus klon dibandingkan dengan kontrol pada masing-masing perlakuan. Analisa data menunjukkan adanya beda nyata dan tidak berbeda nyata terhadap masing-masing perlakuan. Hal tersebut membuktikan bahwa panjang kalus memberikan pengaruh terhadap ketahanan tanaman. Sehingga dari data panjang kalus ini dapat dijadikan sebagai kriteria tingkat ketahanan kalus. Panjang kalus menunjukkan adanya sifat ketahanan apabila dilakukan pengamatan secara visual. Kesesuaian ini terjadi karena adanya perubahan rerata panjang kalus yang semakin panjang dari hasil pengamatan setiap minggunya.

Dalam Presti (2006), mekanisme yang biasanya terjadi pada pertahanan tanaman secara kimiawi adalah rusaknya dinding sel yang mengakibatkan adanya lisis, berubahnya permeabilitas dinding sel sehingga menyebabkan kebocoran nutrisi dalam sel, denaturasi protein sel, dan rusaknya system metabolisme dalam sel, dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler, sehingga pada hasil pengamatan panjang kalus pada klon tebu rentan seharusnya memiliki panjang terendah.



## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian memberikan informasi bahwa adanya kalus kultivar tebu yang tahan oleh inokulasi *F.moniliforme* berdasarkan seluruh parameter

ketahanan. Kalus pada kultivar PS.06.195 dan PS.05.311 merupakan kalus kultivar tahan dari seluruh parameter pengamatan.

## 5.2 Kritik dan Saran

Pengembangan kultivar tahan diharapkan dapat dilakukan supaya dapat menambah koleksi tanaman yang tahan terhadap serangan *F. moniliforme*. Diharapkan adanya penelitian untuk menunjukkan tingkat ketahanan pada tingkat lapang setelah aklimatisasi.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013. Morfologi tebu. <http://www.peipfi-komdasulsel.org/wp-content/uploads/2012/03/9-Nurasiah-Dj-Bioekologi-penyakit-layu-fusarium.pdf>. Diunduh pada 16 Januari 2013.
- Anonim. 2012. Penyakit Pokahbung. Sugarcane For The Future. Bses.Com.Au. Dinduh Pada 16 Januari 2013.
- Bachtiar, Hery. 2005. Pengaruh Konsentrasi Asam Fusarat Terhadap Pertumbuhan Dua Klon Abaka (Musa Textilis Nee) Secara In Vitro. UIN. Malang
- Charles, John. 1957. Plant Pathology Second Edition. Walkermcgrw-Hill Book Company. Inc
- Djaenuddin,Nurasiah. 2011. Bioekologi Penyakit Layu Fusarium *Fusarium oxysporum*. Seminar Dan Pertemuan Tahunan XXI PEI. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Makassar.
- Govender,P., Mcfarlane,S.A and Rutherford, R.S. 2010. Fusarium Species Causing Pokkah Boeng And Their Effect On Eldana Saccharina Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Proc S Afr Sug Technol Ass (2010) 83: 267 – 270
- Handajani, Fery. 1996. Pengaruh Berbagai Macam Auksin Terhadap Pembentukan Kalus Pada Kultur Jaringan Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya
- Handayani, W., Nurchayati, Y., Setiari, S. 2012. Respon Pertumbuhan Dan Produksi Alkaloid Pada Kalus Berakar *Datura metel* L. Terhadap Peningkatan Mikronutrien Dari Medium MS. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi Volume XX, Nomor 1, Maret 2012*. Pp:29-36
- Karjadi, A.K. Dan Buchory A. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, Dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort.* 18(1):1-9, 2008.
- Kumalawati, Z. 2006. Ketahanan Bibit Vanili (*Vanilla Planifolia* Andrews) Terhadap Penyakit Busuk Batang (*Fusarium oxysporum* F.Sp *Vanillae*) Yang Diaplikasi Mikoriza (*Glomus fasciculatus*). *Jurnal Agrisistem, Desember 2006, Vol 2 No. 2 ISSN 1858-4330*
- Kusumawati, E.D. 2012. Ketahanan 5 Varietas Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum Futescens* L.) Terhadap Infeksi TMV Pada Umur Tanman Yang Berbeda. FPUB. Malang.
- Lyrene,P. M., Dean. J. L and James, N. I.1976. Inheritance of Resistance to Pokkah Boeng in Sugarcane Crosses. University of Florida Journal Series Paper No. 9086.
- Mohammadi, Abbas., Nejad,R.F and Mofrad, Nasrin. 2012. Fusarium Verticillioides From Sugarcane, Vegetative Compatibility Groups And Pathogenicity. Vol. 48, 2012, No. 2: 80–84 Plant Protect.

- Muhammad, Rezha. 2010. Studi Teknik Kultur Jaringan Tebu ( *Saccharum officinarum* L.). Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Nordahliawate, Siti. 2007. Pathogenicity And Aethiology Of *Fusarium* Species Associated With Pokkah Boeng Disease On Sugarcane. Universiti Sains Malaysia. Malaysia.
- Purwati, D.R. 2007. Variasi Somaklonal Dan Seleksi In Vitro Abaka (*Musa Textilis* Nee) Untuk Ketahanan Terhadap Layu *Fusarium*. Pascasarjana. IPB. Bogor
- Raid, R. N. 2012. Pokkah Boeng Disease of Sugarcane. SS-AGR-204. Florida.
- Semangun, H. 2008. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan Di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Jogjakarta.
- Siswanto, Et. Al. 2003. Transformasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan GenKitinase Melalui *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404. *Menara Perkebunan*, 2003, 71(2), 56-69
- Syakir, M., Indrawanto, Chandra; Purwono, Siswanto; Rumini, Widi. 2010. Budidaya dan Pasca Panen Tebu. ESKA Media. Jakarta
- Tonga, B.I.; Siregar, E.B.M; Dan Anna, N. 2012. Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Terhadap Pemberian 2,4-D Secara *In Vitro*. Anonymous 2012.
- Trimulyono, G; Solichatun; Dan Marlina, Soerya.D. 2004. Pertumbuhan Kalus Dan Kandungan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin*(Blanco) Bth.) Dengan Perlakuan Asam A- Naftalen Asetat (NAA) Dan Kinetin. *Biofarmasi* 2 (1): 9-14
- Wati, R. 2006. Uji Ketahanan Aksesori Kenaf (*Hibiscus Cannabicus* L.) Koleksi Introduksi Dari Departemen Pertanian Amerika Serikat Terhadap Penyakit Layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* Schlecth.). FPUB. Malang
- Westcott, Cynthia. 1971. *Plant Disease Handbook*. Van Nostrand Reinhold Company . New York
- Windiastrika, Gati. 2013. Peranan Kultur Jaringan Dalam Memperoleh Benih Unggul. Balai Besar Perbenihan Dan Proteksi Tanaman Perkebunan. Surabaya.
- Yunus, Ahmad. 2000. Pengaruh Ekstrak *Fusarium* Moniliforme Terhadap Pertumbuhan Dan Resistensi Tanaman Tebu Terhadap Penyakit Pokkahbung. Effect Of *Fusarium* Moniliforme Extract On Sugar Cane Growth And The Resistance To Pokkahbung Disease. *Agrosains* Volume 2 No 1
- Zulhilmi; Suwirman Dan Surya, Netty W. 2012. Pertumbuhan Dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthes acmella* Murr.) Dengan Penambahan Peg Untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 1(1) – September 2012 : 1-8