# 377-1403-1-SM.docx

**Submission date:** 22-Feb-2022 07:08AM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1767881285

**File name:** 377-1403-1-SM.docx (2.77M)

Word count: 2628

**Character count:** 16365



ISSN: 2088-5113 (Printed) ISSN: 2598-0327 (electric)

### PASPALUM: Jurnal Ilmiah Pertanian

#### Vol. 10 No. 1, Bulan Maret Tahun 2022

DOI: http://dx.doi.org/10.35138/paspalum.v.i.

## Efektifitas Madu Sebagai Substituen Media Induksi Kalus Sorgum (Sorghum bicolor) Secara In Vitro

Laras Sekar Arum, Levinia Wuri Safitri, Hidayah Murtiyaningsih, Muhammad Hazmi\* Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Jember

\*Korespondensi: mhazmi@unmuhjember.ac.id

(Received: 18 Februari 2022; Reviewed: tgl-bln-thn; Published: tgl-bln-thn)

#### ABSTR 15CT

Sorghum is one of the five most important cereal crops in the world, due to its multi-beneficial usages and wide adaptability, so it has the high potential to be developed. One of the current efforts to develop sorghum is through a modern technique, molecular-based. Thus, in vitro culture is an indispensable basic technique, especially in the callus formation occass. In addition to commercial synthetic chemicals, various organic materials found in nature have the potential to be used as PGR in initiating callus formation, one of which is honey. This study aims to obtain the optimum concentration of honey as a substituent of sorghum callus induction medium. The research design used a completely randomized design with one factor (honey concentration), which consisted of 5 dffrent levels (0, 5, 15, 25 and 35 gL-1). Observation variables consisted of calls formed (hsi), percentage of callus formation 12 and callus morphology. Data were analyzed using the F variance test and DMRT test at the 5% level. The test results of this study indicate that the two variables are significantly different. The fastest callus formation was in the M0 medium (0 gL-1.), while in the percentage of callus formation. The best results were in the M4 honey treatment (35 gL-1) of 77.78%. Thus it can be seen that the administration of honey as a substituent of in vitro culture media can help increase the success of sorghum callus formation.

Keywords: Sorghum, in vitro, callus, honey

#### ABSTRAK

Sorgum merupakan salah satu dari lima komoditas serealia pokok di dunia, karena karakternya yang multi manfaat dan memiliki daya adaptasi luas, sehingga sangat potensial untuk dikembangkan. Salah satu upaya pengembangan sorgum saat ini yaitu melalui pendekatan modern berbasis molekuler. Dengan demikian, kultur *in vitro* merupakan teknik dasar yang sangat diperlukan, terutama dalam proses pembentukan kalus. Selain bahan kimia sintetik komersial, beragam bahan organik dijumpai di alam sangat potensial untuk digunakan sebagai ZPT dalam menginisiasi pembentukan kalus, salah satunya yaitu madu. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi madu yang optimum sebagai substituen media induksi kalus sorgum. Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan satu faktor (konsentrasi madu), yang dengan satu faktor (konsentrasi madu), yang dengan satu faktor (konsentrasi madu), yang terbentusan (hsi), persentase pembentukan kalus (%) dan morfologi kalus. Data dianalisis menggunakan uji varians Folan uji DMRT pada taraf 5%. Hasil pengujian penelitian ini menunjukkan bahwa kedua variabel berbeda nyata. Pembentukan kalus tercepat pada medium M0 (0 gL-1), sedangkan pada persentase pembentukan kalus, hasil terbaik pada perlakuan madu M4 (35 gL-1) sebesar 77,78%. Dengan demikian dapat diketahui bahwa pemberian madu sebagai substituent media kultur *in vitro* dapat membantu meningkatkan keberhasilan pebentukan kalus sorgum.

Kata kunci: Sorgum, in vitro, kalus, madu

#### PENDAHULUAN

Sorgum merupakan salah satu komoditas tanaman pangan yang saat ini banyak dikembangkan secara global. Sorgum menjadi salah satu dari lima kelompok serealia paling penting dalam ekonomi pertanian dunia, selain padi, jagung, gandum, dan barley (Proiet et al., 2015). Sorgum memiliki manfaat yang dapat digunakan sebagai pangan, pakan dan energi, serta memliki ketahanan terhadap serangan organisme pengganggu (Anas dan Suhanto 2018). Selain itu, sorgum juga memiliki daya adaptasi yang tinggi pada beberapa kondisi lingungan yang tidak menguntungkan seperti kekeringan (Diansyah, 2017).

Berbagai teknik pengembangan sorgum banyak dilakukan di Indonesia sebagai upaya peningkatan produktivitas dan kualitasnya serta menjamin ketersediaan bahan tanam yang bermutu. Salah satu teknik yang dapat mendukung upaya pengembangan tersebut yaitu melalui kultur jaringan. Teknik kultur jaringan atau kultur in vitro merupakan salah satu bentuk pengembangan tanaman secara modern yang banyak dimanfaatkan dalam upaya perakitan dan perbaikan sifat tanam dalam waktu yang relatif lebih cepat dibandingkan secara konvensional. Teknik ini dapat membantu menghasilkan tanaman unggul baru denan karakter yang telah diperbaiki. Melalui kultur jaringan, sangat memungkinkan untuk menghasilkan tanaman bebas virus. Selain itu, dalam satu kali produksi dengan rentang waktu yang relatif singkat dapat menghasilkan bibit dalam jumlah besar (Alfian, 2015). Salah satu variasi kultur jaringan yang banyak digunakan dalam pengembangan tanaman yaitu melalui pembentukan kalus yang embriogenik melalui embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik adalah bentuk perkembangan sel-sel somatik (sel yang dapat membelah dan menjadi organisme baru, selain sel gamet).

Namun demikian, terdapat beberapa tantangan dalam menghasilkan kalus yang embriogenik agar dapat tumbuh berkembang menjadi tanaman baru dengan baik. Keberhsilan embriogenesis sangat dipengaruhi oleh komponen zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diberikan pada media induksi dalam kultur in vitro (Mahadi et al., 2016). Secara umum ZPT yang banyak digunakan adalah produk sintetis dari bahanbahan kimia dengan harga relatif mahal sehingga dapat meningkatkan tingginya biaya produksi dalam melaksanakan teknik kultur in vitro. Beberapa jenis bahan organik lokal sangat potensial untuk digunakan sebagai sumber ZPT, salah satunya madu. Kandungan protein, niasin, karbohidrat, asam pantotenat, asam askorbat, K, Fe, Mg, P, K, Zn, Na dan mineral lainnya yang terkandung dalam madu dapat membantu proses pembentukan kalus dan embriogenesis somatik pada eksplan dalam kultu in vitro (Dreger et al., 2019).

Oleh karenanya, dalam penelitian ini dilakukan optimasi penambahan konsentrasi madu yang tepat ke dalam media MS untuk membantu pembentukan kalus sorgum secara in vitro dengan menggunakan plumula sebagai eksplan somatik.

#### METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium bioteknologi pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Jember, Jember, Jawa Timur. Adapun kombinasi perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari 1 faktor (madu) dengan 5 variasi (konsentrasi madu), masing-masing disertai dengan 4 kali pengulangan. Dengan demikian kombinasi perlakuannya yaitu M0, M1, M2, M3, dan M4 yaitu konsentrasi madu sebesar 0, 5, 15, 25, dan 35gL-1.

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, antara lain:

#### Persiapan Media Tanam

11

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2 jenis, yaitu media dasar dan media induksi. Media dasar merupakan media tanam yang digunakan untuk mempersiapkan eksplan, yaitu media Murashige & Skoog (MS) tanpa penambahan bahan lainnya (MS 0). Sedangkan media induksi digunakan untuk inisiasi pembentukan kalus embriogenik yang terdiri atas komponen media MS dengan penambahan prolin, kinetin, dan 2,4 D. Kedua jenis media tersebut diikuti dengan penambahan agar sebanyak 8gL<sup>-1</sup> untuk proses solidifikasi media.

#### Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bagian plumula, dengan menumbuhkan berih sorgum di media dasar secara in vitro, kemudian diinkubasi selama 2 hari. Sterilisasi benih dilakukan dengan merendam benih di dalam deterjen selama 1 menit, berikutnya diibilas 3-4 kali. Selanjutnya benih disterilisasi menggunakan Alkohol 70% selama 1 menit, Clorox 1% selama 5 menit kemudian dibilas dengan aquades steril 3-4 kali. Plumula berukuran 0,1 – 0,2 cm siap digunakan sebagai eksplan.

#### Penanaman Eksplan dan Induksi Kalus Embriogenik

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF. Eksplan dipotong dengan ukuran 2 mm kemudian ditanam ke dalam media induksi sesuai dengan kombinasi perlakuan. Selanjutnya, eksplan yang sudah ditanam diinkubasi pada ruang gelap dengan guhu 23-25°C selama 42 hari untuk mengoptimalkan proses pembentukan kalus embriogenik.

#### Pengamatan

Variabel yang diamati meliputi: Waktu terbentuknya kalus hari setelah inisiasi (his), persentase terbentuknya kalus (%) dan morfologi kalus. Waktu terbentuknya kalus yakni dimulai dari sejak eksplan ditanam dalam media induksi kalus hingga muncul kalus. Persentase terbentuknya kalus, dihitung dengan rumus dari jumlah kalus yang terbentuk pada eksplan yang dibandingkan dengan jumlah eksplan yang ditanam kemudian dikalikan 100 dan morfologi kalus diamati secara mikroskopik.

#### 13 Analisis Data

Penelitian ini didesain dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Data yang diperolel dianalisis secara deskriptif dan kuantitaif menggunakan analisis ragam dengan uji F. Variabel pengamatan hasil uji F yang berbeda nyata diuji lanjut dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%.

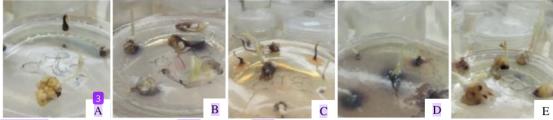
#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambahan madu dengan konsentrasi yang berbeda sebagai substituent media induksi, menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap waktu dan persentase terbentuknya kalus sorgum dengan eksplamula (Tabel 1). Hasil analisis uji DMRT (Tabel 2) menunjukkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi memberikan pengaruh terhadap saat terbentuknya kalus dan persentase kalus pada eksplan plumula sorgum. Selain penambahan madu induksi kalus juga memerlukan komposisi zat pengatur tumbuh yang tepat. Pada perlakuan tanpa madu pengkalusan terjadi lebih cepat.

Tabel 1. Rata-rata Waktu dan Persentase Terbentuknya Kalus Terhadap Penambahan Madu Dengan Berbagai Konsentrasi.

M0	0,83 b	11,111 b	_
M1	2,50 ab	41,67 b	
M2	1,83 b	22,22 b	
<b>M</b> 0	1,83 b	16 <b>何</b> b	
M4	6,00 a	77, <mark>78 a</mark>	

Keterangan: Rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf 5%.



Gambar 1. Visualisasi kalus sorgum yang terbentuk pada 15hsi pada masing-masing perlakuan. A) media M0 (0 gL<sup>-1</sup>), B) M1 (5 gL<sup>-1</sup>), C) M2 (15 gL<sup>-1</sup>), D) M3 (25 gL<sup>-1</sup>), dan E) M4 (35gL<sup>-1</sup>)

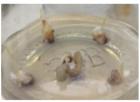
Hal ini dimungkinkan karena, induksi kalus berkaitan dengan ZPT endogen dan eksogen, ZPT yang sangat berpengaruh pada induksi kalus ialah auksin dan sitokinin. Penggunaan auksin (2,4-D) dan sitokinin (Kinetin) dapat meningkatkan proses induksi kalus. Kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dapat meningkatkan pembentukan kalus sorgum (Kanani dan Mohammad, Penambahan bahan kimia prolin juga dapat mempercepat induksi kalus. Menurut Tripathy dan Ithape (2020), Selain zat pengatur auksin dan sitokinin induksi kalus embriogenik somatik juga dipengaruhi nitrogen, prolin, triptofan, asam glutamate dan kasein hidrosilat. Syarat lain yang perlu diperhatikan dalam pembentukan lalus sorgum, selain komposisi media adalah eksplan. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini plumula Sorgum yang dikecambahkan selama dua hari, sesuai dengan penelitian Dreger et al. (2019), eksplan inisiasi kalus sorgum dipersiapkan dengan mengecambahkan benih sorgum pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh selama dua hari.

Terbentuknya kalus pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur in vitro. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan M0 atau tanpa madu memberikan hasil

pembentukan kalus tercepat yakni 0,83 hsi. Sedangkan pembentukan kalus lebih lambat diperoleh pada perlakuan M4 yakni 6 hsi. Hal ini diduga karena kandungan nutrisi yang terdapat pada media MS tercukupi dalam pembentukan kalus sorgum. Berdasarkan hasil penelitian Maulana (2019), penara pahan 2 ppm 2,4-D sudah cukup untuk menginduksi pembentukan kalus sorgum.

Keberhasilan pertumbuhan kalus dinyatakan dengan banyaknya persentase eksplan yang terbentuk kalus. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan M4 memberikan hasil persentase terbentuknya kalus terbaik yakni 77,78%. Sedangkan perlakuan M0 memberikan hasil terendah saat terbentuknya kalus yakni 11,11% pada 15 hsi. Hal ini diduga karena madu memiliki kandungan karbohidrat cukup tinggi yang berperan dalam pembentukan sel. Menurut Khan et al. (2018), sumber karbohidrat berpengaruh dalam pembentukan dan pertumbuhan kalus dengan cepat dan untuk waktu yang lama. Berdasarkan penelitian Dreger et al. (2019), penambahan madu sangat berpengaruh pada persentase terbentuknya kalus sorgum, karena madu juga mengandung kasein hidrosilat yang dapat meningkatkan frekuensi regenerasi kalus sorgum.

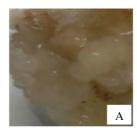


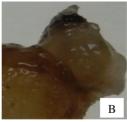


A B

C

Gambar 2. Perkembangan eksplan plumula membentuk kalus pada perlakuan M4. A) 0 hsi, B) 9 hsi, C) 12 hsi dan D) 15 hsi





Gambar 2. Morfologi kalus sorgum, embriogenik (A) dan non embriogenik (B)

Gambar 1, menunjukkan hasil perkembangan eksplan plumula sorgum pada 15 hsi. Pembentukan kalus terjadi pada permukaan eksplan (bagian luka akibat pemotongan) dan bagian yang bersentuhan langsung dengan media, ditandai dengan munculnya sel berwarna putih bening yang membengkak pada permukaan eksplan yang tidak beraturan. Pada perlakuan M0 didapati hanya 1 eksplan (dari 5 eksplan yang ditumbuhkan) yang dapat bekembang menjadi kalus per 1 botol kultur. Hal ini menunjukkan rendahnya persentase terbentuknya kalus pada perlakuan tersebut. Keberhasilan eksplan membentuk kalus paling banyak didapati pada perlakuan M4 (5 eksplan yang ditumbuhkan berhasil berkembang menjadi kalus). Berdasarkan penelitian Juliana et al. (2019) menunjukkan penambahan 3 mg gL<sup>-1</sup> BAP dan madu 9 mL<sup>-1</sup> memberikan hasil terbaik 100% dalam pemberntukan fase embriogenesis matic tanaman manggis (Garcinia mangostana L.) Keberhasilan pertumbuhan kalus dinyatakan dengan persentase banyaknya eksplan yang terbentuk kalus, dengan adanya auksin pada media maka dapat meningkatan pembelahan dan pertumbuhan sel dalam pemebentukan kalus (Suhesti et al., 2015).

Hal yang berbeda ditunjukkan pada eksplan yang ditumbuhkan pada media penambahan madu M1, M2 dan M3 (Gambar 1), pada 15 hsi eksplan tidak menunjukkan perkembangan kalus yang optimal karena bagian eksplan basal *in vitro* 

mengalami pencoklatan (browning) yang dapat menghambat pertumbuhan dan akhirnya menyebabkan kematian. Adıroo dan Indrianto (2016), mengatakan bahwa browning umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi ketika eksplan dilukai dan kekurangsesuaian komposisi media induksinya. Morfologi kalus yang didapatkan pada tahap induksi diamati ciri-ciri embriogenik atau tidaknya secara ikroskopik dengan menggunakan mikroskop stereo. Kalus embriogenik memiliki ciri berwarna putih kekuningan, berstruktur remah dan kering sedangkan kalus non embriogenik berstruktur kompak, basah dan berwarna bening kecoklatan (Soeparjono dkk., 2016).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik dapat diamati bahwa kalus yang terbentuk pada 15 hso terbagi menjadidua jenis, yaitu kalus embriogenik dan non embriogenik (Gambar 2). Kalus non embriogenik pada (Gambar 2A) dengan kenampakan luar yang berwarna coklat dan basah. Adanya peristiwa browning atau jaringan kalus yang berubah warna menjadi kecoklatan yang akan menghambat penyerapan nutrisi oleh eksplan, hal tersebut menyebabkan penurunan proses pengkalusan. Morfologi kalus putih kecoklatan mengindikasikan pertumbuhan kalus semakin menurun (Juliana dkk., 2019). Sedangkan pada (Gambar 2B) merupakan embriogenik yang berwarna

rining kekuningan, kering, remah dan mengkilap. Kalus yang termasuk embriogenik akan lebih mudah untuk meregenerasikannya melalui embriogenesis somatik.

#### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan madu sebagai substituent media induksi dengan konsentrasi 35gL<sup>-1</sup> (M4) efektif untuk meningkatknan persentase keberhasilan pembentukan kalus sorgum. Namun waktu terbentuknya tidak lebih lambat dibandingkan dengan tanpa penambahan madu (M0). Kalus yang berhasil terbentuk terbagi menjadi 2 jenis, yaitu embriogenik dan non embriogenik.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada LPPM Universitas Muhammadiyah Jember yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini melalui program hibah internal.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Admojo, L., & Indrianto, A. (2016). Pencegahan browning fase inisasi kalus pada kultur midrib daun klon karet (Hevea brasiliensis Muell Arg) Pb 330. Indonesian Journal of Natural Rubber Research, 34(1), 25-34.
- Alfian F. N. (2015). Mikropropagasi Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.) Varietas NXI 1-3 Melalui Embriogenesis Somatik. [Tesis]. Jember: Program Studi Magister Bioteknologi Pascasarjana: Universitas Jember.
- Anas, A., & Suhanto, A. (2018). Keragaan Penampilan Lima Genotip Sorgum Manis (Sorghum Bicolor (L.) Moench) Introduksi Jepang Di Jatinangor Indonesia. Zuriat, 29(2), 80-87.
- Diansyah. (2017). Respon Pertumbuhan dan Bobot Malai Kering Panen Tanaman Sorgum (Sorghum bicolor (L) Moench) Akibat Pemberian Bahan Pembenah Tanah dan Penerapan Sistem Irigasi di Lahan Kering Lombok Utara. [Tesis]. Program Magister Pengolahan Sumber Daya Lahan Kering. Universitas Mataram.
- Dreger, M., Mól, R., Deja, A., Raj, E., Mańkowska, G., & Wielgus, K. (2019). Improved plant regeneration in callus cultures of Sorghum bicolor (L.) Moench. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 55(2), 190-198.

- FAOSTAT. (2017). Available online: http://www.fao.org (accessed on 22 March 2019).
- Juliana, T., Isda, M. N., & Iriani, D. 2019. Embriogenesis Somatik Dari Kalus Manggis (Garcinia Mangostana L.) Asal Bengkalis Dengan Pemberian Bap Dan Madu Secara In Vitro. Al-Kauniyah: Jurnal Biologi, 12(1), 8-17.
- Kanani, Z., & Mohammed, S. E. T. 2020. Initiation Of Callus From Different Genotypes Of Sorghum Bicolor L. Moench. African Journal of Agricultural Research, 15(4), 546-552.
- Khan, T., Abbasi, B. H., Zeb, A., & Ali, G. S. 2018. Carbohydrate-induced biomass accumulation and elicitation of secondary metabolites in callus cultures of Fagonia indica. *Industrial Crops and Products*, 126, 168-176.
- Mahadi I., Syafi'I, Y., dan Sari, Y. 2016. Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode *in vitro*. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia, 21(2), 84-89.
- Maulana R., Restanto, D. P., & Slameto, S. 2019.

  Pengaruh Konsentrasi 2, 4—
  Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)

  Terhadap Induksi Kalus Tanaman
  Sorgum. *Jurnal Bioindustri*, *I*(2), 138-148.
- Proietti, I., Frazzoli, C., & Mantovani, A. (2015). Exploiting Nutritional Value of Staple Foods in the World's Semi-Arid Areas: Risks, Benefits, Challenges and Opportunities of Sorghum. Healthcare (Basel, Switzerland), 3(2), 172–193.
- Soeparjono, S. 2016. Induksi Somatik Embriogenesis Tanaman Tebu Transgenik Bebas Virus (*Saccharun offinarum*) SUT Event 02 Menggunakan 2.4 D dan BAP.s
- Suhesti, S., N. Khumaida, G. Wattimena, M. Syukur, A. Husni, E. Hadipoentyanti, dan R. S. Hartati. 2015. Induksi Kalus dan Regenerasi Dua Varietas Tebu (Saccharum Officinarum L.) secara In Vitro. Journal of Industrial Crops Research. 21(2): 77-88.
- Tripathy, S. K., & Ithape, D. M. 2020. High-throughput in vitro culture system targeting genetic transformation in sugarcane.

ORIGIN	ALITY REPORT	
SIMIL	5% 16% 4% 5% ARITY INDEX INTERNET SOURCES PUBLICATIONS STUDEN	NT PAPERS
PRIMAF	Y SOURCES	
1	repository.unmuhjember.ac.id Internet Source	3%
2	protan.studentjournal.ub.ac.id Internet Source	2%
3	repo.unand.ac.id Internet Source	2%
4	peripi.org Internet Source	1%
5	repository.unwim.ac.id Internet Source	1 %
6	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	1 %
7	id.123dok.com Internet Source	1%
8	Mega Silvia, Muhammad Hazmi, Hidayah Murtiyaningsih, Laras S Arum. "Regenerasi Sorgum (Sorghum bicolor) melalui Kultur In Vitro", JURNAL BUDIDAYA PERTANIAN, 2021 Publication	1 %

9	Submitted to Universitas Jember Student Paper	1 %
10	ejournal.puslitkaret.co.id Internet Source	1 %
11	Submitted to UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Student Paper	1 %
12	journal.ipb.ac.id Internet Source	1 %
13	jurnal.utb.ac.id Internet Source	1 %
14	docplayer.info Internet Source	1%
15	www.cheric.org Internet Source	1 %

Exclude quotes On Exclude bibliography On

Exclude matches

< 1%