



Optimization of Honey Concentration on *In Vitro* Sorghum (*Sorghum bicolor*) Shoot Induction

Luluk Muzayyana, Muhammad Hazmi^{*}, Hidayah Murtiyaningsih, Laras Sekar Arum

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Jember, Jl. Karimata No. 49 Jember, Jawa Timur, 68121, Indonesia

*Corresponding author: mhazmi.hazmi@unmuhjember.ac.id

ABSTRACT

Sorghum can be developed a functional food, feeding and bioethanol. The genetically modified development is threated regeneration in vitro. The purpose study to get an optimum concentration of honey on MS media for the growth of sorghum shoots. The study was carried out using a randomized complete design with a single treatment of honey concentration, 4 replications. The concentration of honey used covers 0, 5, 10, 15 and 20 g/l. Observation parameters consist of time shoot appears, percentages emerge shoots, high shoots and number of leaves. Data obtained were analyzed by F test further more with DMRT 5%. Study results showed that there is no significantly influenced on time shoot appears, high shoot 9, 12, and 15 hsi, while the real difference in the number of shoots, percentage emerge shoot and high shoot 6 hsi. The treatment 5 g/l of honey able to accelerate time shoot appearance, and honey treatment 10 g/l result in the percentage of the highest shoot of 72%, the number of shoots 0,72 and the highest growth length of 5,02 mm at 6 hsi, was the best treatment.

Keywords: *Shorgum, in vitro, honey*

ABSTRAK

Sorghum dapat dikembangkan sebagai pangan fungsional, pakan ternak, dan biotetanol. Pengembangan secara transgenik terkendala pada regenerasi *in vitro* nya. Penelitian ini bertujuan mendapatkan konsentrasi madu yang optimum pada media MS untuk pertumbuhan tunas sorgum. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu perlakuan yaitu konsentrasi madu, 4 kali ulangan. Konsentrasi madu (M) yang digunakan meliputi 0, 5, 10, 15, dan 20 g/l. Parameter pengamatan meliputi saat muncul tunas (hsi), persentase munculnya tunas (%), jumlah tunas, tinggi tunas (mm), dan jumlah daun. Data dianalisis dengan uji F kemudian diuji lanjut dengan DMRT 5 %. Hasil penelitian menunjukkan tidak berbeda nyata pada saat muncul tunas, tinggi tunas 9, 12, 15 hsi dan jumlah daun sedangkan berbeda nyata pada jumlah tunas, persentase muncul tunas dan tinggi tunas umur 6 HSI. Perlakuan madu 5 g/l dapat mempercepat saat muncul tunas dan perlakuan madu 10 g/l (M₂) menghasilkan presentase muncul tunas tertinggi 72%, jumlah tunas terbanyak 0,72, dan panjang tunas tertinggi 5,02 mm pada umur 6 hsi dan merupakan perlakuan terbaik.

Kata Kunci: Sorghum, in vitro, madu

PENDAHULUAN

Sorgum (*Sorghum bicolor L.*) merupakan tanaman dari Famili Poaceae yang berasal dari benua Afrika Timur [1]. Sorgum termasuk golongan tanaman C4, sehingga relatif toleran terhadap suhu tinggi, kekeringan dan dapat tumbuh di daerah semi kering Afrika dan Asia [2] serta efisien dalam penggunaan air dibandingkan dengan jagung [3]. Sorgum dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku tepung, gula cair dan bioetanol. Di Indonesia sorgum belum optimal dikembangkan baik secara agronomis maupun molekuler. Pengembangan sorgum secara molekuler terkendala pada proses regenerasi *in vitro* nya, karena akumulasi senyawa fenol [4].

Faktor keberhasilan pembentukan tunas sorgum secara *in vitro* yaitu penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin, terutama 6-Benzyl amino purine (BAP). Konsentrasi BAP yang tepat akan menginisiasi tunas dengan cepat. Aplikasi konsentrasi BAP > 5 mg/L dalam media MS dapat menyebabkan kematian eksplan [5].

Selain ZPT, salah satu upaya untuk meningkatkan inisiasi tunas secara *in vitro* yaitu melakukan modifikasi media MS dengan penambahan senyawa organik misalnya madu. Madu dapat menjadi tambahan sumber karbon yang berfungsi untuk pertumbuhan dan perkembangan sel secara *in vitro*. Madu memiliki kandungan berbagai mineral seperti kalium, natrium, kalsium, magnesium, besi, fosfor dan berbagai vitamin seperti thiamin, riboflavin, asam askorbat, asam pantotenat dan niasin [6].

Penambahan madu sebanyak 60 g/L dapat meningkatkan pembentukan tunas *in vitro* tanaman anggrek (*Encyelia cordigera*) [7]. Kultur *in vitro* kalus sorgum pada perlakuan madu 15 g/L dan BAP 2 mg/L menunjukkan respon terbaik dan tingkat regenerasi tunas mencapai 32 sampai 39% [2]. Kombinasi perlakuan penambahan madu 3 ml/L dan BAP 3 mg/L menghasilkan persentase terbentuknya tunas 100%, waktu muncul tunas 4 hsi dan panjang tunas 1,86 cm pada kultur *in vitro* biji manggis [8]. Artikel ini memuat tentang optimasi

konsentrasi madu terhadap induksi tunas sorgum secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Agustus 2020 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Jember.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: LAF, autoklaf, hot plate, pH meter, microwave, beaker glass, gelas ukur, timbangan analitik, pinset, scalpel, dan petridish. Bahan yang digunakan antara lain: bahan tanam (eksplan) tunas aksilar, media MS, BAP (2 mg/L), alkohol 70 %, Bayclin, sunlight, kertas saring dan konsentrasi madu (M) 0, 5, 10, 15 dan 20 g/L. Madu yang digunakan yaitu madu hutan.

Sterilisasi Bahan Tanam (Eksplan)

Sterilisasi dilakukan dengan mencuci eksplan tunas aksilar pada air mengalir dan direndam dengan air sunlight. Setelah itu, eksplan disterilisasi menggunakan Baycline 20 % selama 10 menit kemudian dicuci kembali dan dilanjutkan sterilisasi dengan menggunakan alkohol 70%.

Pembuatan Media Induksi Tunas

Media untuk induksi tunas yaitu media MS yang ditambah dengan ZPT berupa BAP (2 mg/L), sukrosa (30 g/L) dan penambahan konsentrasi madu dilakukan sesuai dengan perlakuan. pH media 5,8 kemudian ditambah agar 8 g/L. Media dituang ke dalam botol kultur, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C.

Rancangan Percobaan

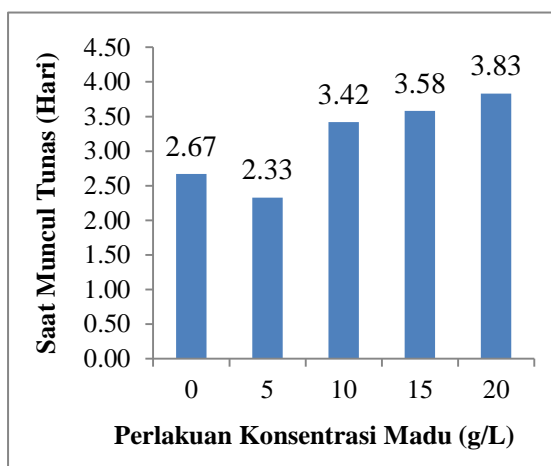
Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap yang terdiri 1 faktor yaitu konsentrasi madu (M) meliputi 0, 5, 10, 15 dan 20 g/L. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji F kemudian di uji lanjut DMRT taraf 5 % jika berbeda nyata. Variabel pengamatan

meliputi saat muncul tunas (hsi), persentase muncul tunas (%), jumlah tunas, tinggi tunas (mm) dan jumlah daun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Saat Muncul Tunas

Hasil analisis ragam menunjukkan pemberian konsentrasi madu tidak berbeda nyata pada parameter saat muncul tunas yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata saat muncul tunas pada beberapa konsentrasi madu

Gambar 1 menunjukkan bahwa munculnya tunas tercepat pada perlakuan madu 5 g/L yakni 2,33 hsi, sedangkan pada perlakuan madu 20 g/L menunjukkan saat muncul tunas lebih lambat yakni 3,83 hsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan madu tidak berpengaruh nyata. Hal ini diduga tidak adanya interaksi yang tepat antara fitohormon endogen dan eksogen. Keseimbangan fitohormon endogen dan eksogen mengakibatkan inisiasi tunas pada eksplan lebih awal. Induksi tunas tebu dipengaruhi oleh keseimbangan interaksi fitohormon eksogen dan endogen yang tepat pada eksplan [9]. Perlakuan tunggal penambahan madu 12 ml/L menunjukkan waktu muncul tunas 27 hsi pada eksplan biji tembesu [10]. Hasil kultur eksplan batang dan tunas pucuk *Grammatophyllum speciosum* BL menunjukkan waktu muncul tunas tercepat 21 hsi dengan penambahan madu 6 ml/L [11].

Persentase Terbentuknya Tunas

Hasil analisa konsentrasi madu pada persentase muncul tunas menunjukkan berbeda nyata. Adapun rerata persentase muncul tunas disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata persentase terbentuknya tunas yang dipengaruhi oleh konsentrasi madu

Konsentrasi Madu (g/L)	Persentase Terbentuknya Tunas (%)
M0 (0)	22,22 b
M1 (5)	36,11 b
M2 (10)	72,22 a
M3 (15)	47,22 ab
M4 (20)	44,44 ab

Keterangan: Rerata dengan huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT 5%.

Perlakuan konsentrasi madu 10 g/L (M2) menghasilkan persentase terbentuknya tunas tertinggi yaitu 72,22%. Hal ini diduga karena madu mengandung asam amino, berbagai senyawa organik dan mineral yang dapat mempercepat proses organogenesis sel serta merangsang pembelahan sel. Sedangkan, penambahan madu dengan konsentrasi tinggi mengakibatkan tekanan osmotik media tinggi yang dapat mengganggu proses penyerapan nutrisi sehingga pertumbuhan eksplan rendah. Madu merupakan sumber alami gula yang memiliki kandungan seperti enzim, asam amino, vitamin dan mineral yang sangat dibutuhkan dalam proses perkembangan sel [12].

Jumlah Tunas

Hasil analisis perlakuan konsentrasi madu pada variabel jumlah tunas menunjukkan berbeda nyata (Tabel 2).

Perlakuan konsentrasi madu 10 g/L (M2) menghasilkan jumlah tunas tertinggi yakni 0,72. Hal ini diduga kandungan sukrosa di dalam madu dapat meningkatkan fruktosa dan glukosa pada media MS sehingga menambah sumber karbon yang diperlukan pada proses diferensiasi sel. Selain itu, sumber karbon di dalam madu dapat meningkatkan peran BAP. Penambahan madu dengan konsentrasi rendah dapat mengoptimalkan kerja BAP dalam

meningkatkan jumlah tunas karena karbon pada madu dapat berfungsi untuk meningkatkan proses metabolisme sel [13].

Tabel 2. Rerata Jumlah Tunas Terhadap Perlakuan beberapa konsentrasi Madu

Konsentrasi Madu (gr/L)	Rerata Jumlah Tunas
M0 (0)	0,22 b
M1(5)	0,36 b
M2 (10)	0,72 a
M3 (15)	0,47 ab
M4 (20)	0,44 ab

Keterangan: Rerata dengan huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT 5%

Tinggi Tunas

Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi madu berbeda nyata pada tinggi tunas 6 hsi, akan tetapi tidak berbeda nyata pada umur 9, 12 dan 15 hsi. Adapun rerata tinggi tunas disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Tinggi Tunas Terhadap Perlakuan beberapa konsentrasi Madu

Konsentrasi madu (g/l)	Tinggi Tunas (mm)			
	6 hsi	9 hsi	12 hsi	15 hsi
M0 (0)	0,94 b	1,97	2,30	2,55
M1 (5)	1,27 b	3,41	5,38	4,69
M2 (10)	5,16 a	5,82	7,75	9,03
M3 (15)	2,70 b	3,96	7,52	6,33
M4 (20)	1,70 b	5,54	8,40	8,54

Keterangan: Rerata dengan huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT 5%

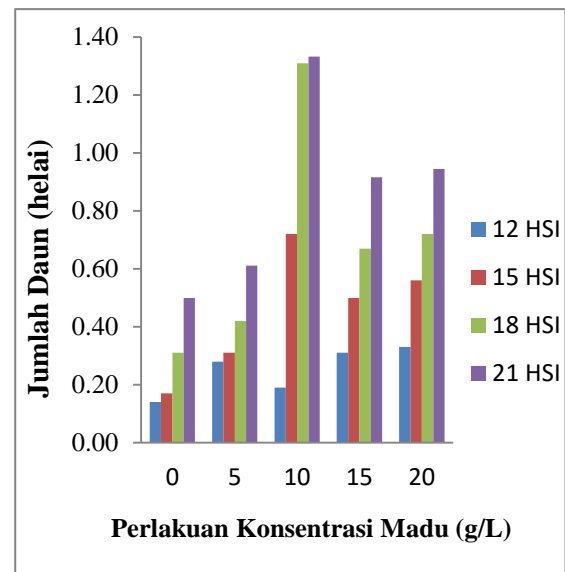
Perlakuan madu 10 g/L (M2) menghasilkan tinggi tunas tertinggi yakni 5,16 mm pada umur 6 hsi. Hal ini diduga karena unsur hara makro seperti kalium dan juga vitamin yang terdapat pada madu mampu merangsang pertumbuhan tanaman. Selain itu, di dalam media MS mengandung unsur N yang dapat mempercepat pertumbuhan vegetatif tanaman. Madu memiliki beberapa elemen penting seperti K, Ca, Fe, P, S dan Mg yang dapat meningkatkan pemanjangan sel [14]. Unsur nitrogen (N) yang terkandung di dalam

media MS berperan dalam mensintesis asam amino dan protein secara optimal yang berfungsi dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman [15].

Sedangkan pada umur 9, 12 dan 15 hsi menunjukkan berbeda tidak nyata. Hal ini diduga menyebabkan penambahan tinggi tunas menurun, karena daya serap nutrisi terhambat. Tinggi tunas diduga dipengaruhi oleh jumlah tunas yang muncul, semakin sedikit tunas yang muncul maka tinggi tunas akan meningkat. Energi yang dibutuhkan untuk pemanjangan tunas digunakan untuk pembentukan calon tunas lainnya sehingga tinggi tunas dapat mengalami penghambatan [16].

Jumlah Daun

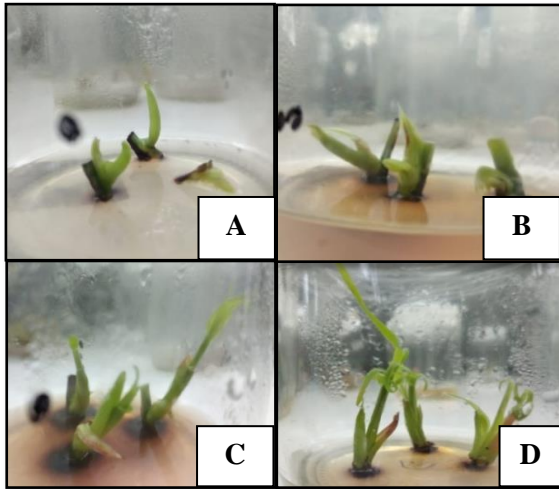
Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi madu tidak berpengaruh nyata pada variabel jumlah daun. Adapun rerata jumlah daun disajikan pada Gambar 2



Gambar 2. Rata rata variabel jumlah daun pada beberapa konsentrasi madu pada media MS.

Penambahan konsentrasi madu berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah daun. Hal ini diduga akibat penyerapan nutrisi yang tidak optimum karena tunas belum berakar. Sedikitnya jumlah daun yang terbentuk disebabkan adanya persaingan dalam penyerapan unsur hara pada media [8].

Pada umur 21 hsi tunas mengalami kerusakan sel (nekrosis) sehingga secara visual daun nampak berwarna putih atau albino. Hal ini disebabkan oleh aktivitas senyawa fenol pada eksplan yang menyebabkan penyerapan nutrisi tidak maksimal sehingga terjadi defisiensi unsur N dan Mg pada media. Penyebab tanaman mengalami nekrosis yaitu eksudasi fenolik (pencoklatan), pH media menurun, dan defisiensi kalsium (Ca) [17].



Gambar 3. Pertumbuhan eksplan tunas aksilar sorgum. 3A: tunas muncul pada umur 6 hsi 3B: tunas berumur 9 hsi, 3C: tunas umur 12 hsi, 3D: tunas umur 15 hsi.

Pertumbuhan eksplan membentuk tunas melalui proses organogenesis langsung. Eksplan mulai muncul tunas pada umur 3 hsi. Munculnya tunas sorgum ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada ketiak buku atau nodul. Hal ini disebabkan oleh aktivitas pembelahan sel meristematik dan pemanjangan sel yang berdiferensiasi menjadi tunas dengan penambahan zat pengatur tumbuh.

Pertumbuhan tunas mengalami pencoklatan pada bagian terluar, karena terbentuknya senyawa fenolik akibat pelukaan pada eksplan. Aktivitas enzim *Polyphenol oxidase* (PPO) menimbulkan pencoklatan pada bagian yang luka [18]. Tunas yang mengalami pencoklatan masih mampu bertahan dan tumbuh membentuk organ seperti daun, hal ini dikarenakan pencoklatan tidak terjadi pada semua jaringan.

KESIMPULAN

Pemberian konsentrasi madu pada media MS memberikan pengaruh nyata pada, persentase terbentuknya tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas 6 HSI. Perlakuan konsentrasi madu 10 g/l (M₂) menghasilkan presentase muncul tunas tertinggi 72%, jumlah tunas terbanyak yaitu 0,72 tunas, dan panjang tunas 5,02 mm pada umur 6 HSI.

SARAN

Pada media Ms perlu ditambahkan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) untuk mengatasi fenolik pada eksplan karena pada penelitian ini tidak ditambahkan senyawa kimia tersebut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tim Pelaksana *Main Research* Lab Bioteknologi Pertanian yang telah memberikan fasilitas dan *Main Research* LPPM Universitas Muhammadiyah Jember atas bantuan dana dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Martin, J.H., Leonard, W.H., Stamp, D.L. 1976. *Principle of Field Crop* (Third Ed). Macmillan Publishing, NY. 415-429.
- [2] Rao P. S., Prakasham R.S., Rao P.P., Chopra S., dan Jose S., 2015. Sorghum as a Sustainable Feedstock for Biofuels. In: Jose S, Bhaskar T (eds) *Biomass and Biofuels*. CRC. *Press Taylor and Francis Groups, Boca Raton* 58 (2): 27-47.
- [3] Farre I., Faci J. M., 2012. Comparative Response of Maize (*Zea Mays* L) and Shorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) to Dificit Irrigation in a Mediterranean Environtmen. *Agriculture Water Management* 83, 135-143.
- [4] Dreger M., Mol R., Deja A., Raj E., Mankowska G., Wielgus K., 2019. Improved Plant Regeneration in Callus Cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55 (22): 190-198.

- [5] Prameswari M. A., Karno K., dan Anwar S., 2019. The Effect of BAP and Kinetin Concentrations for shoot induction on Teak (*Tectona grandis* L.) with *In Vitro* method. *Journal of Tropical Crop Science and Technology* 1 (2): 93-107.
- [6] Hariono E., Mayta Novaliza I., dan Siti Fatonah., 2018. The Formation Of Nodules In Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Seeds Of Bengkalis In Origin On WPM Media Supplemented With BAP And Honey. *Al-Kauniyah: Journal of Biology* 11 (1): 16-24.
- [7] Mantovani C., and Femandes Lopes Pivetta K.F., 2016. *In Vitro* Development of *Encyplea cordigera* in Different Concentration of Honey. *Cienc Rural* 46 (4): 590-592
- [8] Isda M. N., dan Amin N. A., 2016. Pertumbuhan Eksplan Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Secara *In Vitro* Dengan Penambahan BAP dan Madu. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komda Riau* 11 (1): 267-277.
- [9] Praseptiana C., Darmanti S., and Prihastanti E., 2017. Multiplikasi Tunas Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. Bululawang) dengan Perlakuan Konsentrasi BAP dan Kinetin Secara *In Vitro*. *Buletin Anatomi dan Fisiologi (Bulletin of Anatomy and Physiology* 2 (2): 153-160.
- [10] Fatonah S., dan Isda M. N., 2018. *In Vitro* Shhot Regeneration Of Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) From Seed Explant Of Different Concentration Of Sucrose And Honey. *Bioscience Research* 15 (2): 655-662
- [11] Sari Y. P., Manurung H., dan Novitas V., 2011. Mikropopagasi Tanaman Aggrek Tebu (*Grammatopyllum speciosum* bl) Secara *In Vitro* Dari Sumber Eksplan Tunas Pucuk Pada Media MS dengan Penambahan Madu. *Mulawarman Science* 10 (2): 51-62
- [12] da Silva M. P., Gauche C., Gonzaga L. G., Costa A., and Fett R., 2016. Honey: Chemical Composition, Stability and Aunthenticity. *Food Chem* 196 (3): 309-323.
- [13] Isda M. N., Amin N. A., dan Fatonah S., 2019. Effect of 6-Benzylaminopurine (BAP) and Honey for *In Vitro* Shoot Initiation of Mangosteen Seed Explant From Riau, Indonesia. In *Journal of Physics: Conference Series* 13 (1): 1-9.
- [14] Burba F., Gidado A., dan Shugaba A., 2013. Analisis Komposisi Biokimia Sampel Madu Dari Timur Laut Nigeria. *Biokem. Anal Biokem* 2 (3): 1-7.
- [15] Tuhuteru S., Hehanussa M. L., dan Raharjo S. H., 2018. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek Pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia*, 1(1).
- [16] Ramesh Y., and Ramassamy V., 2014. Effect of Gelling Agents *In Vitro* Multiplication of Banana Var. Poovan. *Int. J. Advanced Bio.research* 4 (3): 308-311.
- [17] Nawaz M.N., Khan N., Jan G. and Gul F., 2018. Alleviation Of Shoot Tip Necrosis In *In Vitro* Propagation Of *Salvia Santolinifolia*, Boiss.
- [18] Admojo L., dan Indrianto A., 2016. Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus Pada Kultur Midrid Daun Klon Karet (*Hevea bransiliensis* Muell Arg) Pb 330. *Indonesian Journal of Natural Rubber Research* 34 (1): 25-34.