

Pengaruh Berbagai Konsentrasi Nitrogen dan Sukrosa Pada Kultur *In vitro* Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

The Effect of Some Concentrations of Nitrogen and Sucrose In Vitro Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.)

Ardian dan E. Yuliadi

Staf pengajar pada Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung 35145, Telp. 0721 781820
Email: ardian.unila@gmail.com.

ABSTRAK

Perbanyakan tanaman singkong melalui kultur *in vitro* dibutuhkan petani dan agroindustri untuk memenuhi kebutuhan bibit unggul terbaru secara cepat setelah varietas tersebut dilepas pemerintah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi nitrogen dan sukrosa terhadap pertumbuhan dan perbanyakan *in vitro* tunas mikro singkong. Eksplan yang digunakan berupa stek hijau satu buku singkong, yang berasal dari stek batang umur 1 bulan yang ditumbuhkan di polibag. Penelitian ini menggunakan rancangan teracak lengkap dan perlakuannya adalah konsentrasi nitrogen 0,5 kali, 1 kali, 1,5 kali dan 2 kali formulasi MS dengan sukrosa 3% dan 4%. Setiap perlakuan diulang 10 kali dengan satuan percobaan terdiri dari 2 eksplan. Pertumbuhan dan perbanyakan tunas terbaik dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1,5 kali nitrogen formulasi MS.

PENDAHULUAN

Singkong atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae ini merupakan tanaman semusim yang berbentuk perdu. Singkong merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan di propinsi Lampung. Pada tahun 2007, total luas lahan yang ditanami singkong di Lampung adalah 283.430 ha dengan total produksi 6.383.485 ton yang berarti produktivitas lahan sekitar 22,522 ton/ha. Sedangkan luas lahan yang ditanami singkong dari tahun 2001 sampai dengan 2007 terus menurun sebesar 10,58% (BPS Lampung, 2008).

Percepatan kenaikan kebutuhan bahan baku singkong tidak seiring dengan pertambahan jumlah lahan yang dapat ditanami singkong. Hal ini perlu diantisipasi melalui intensifikasi dalam budidaya singkong untuk meningkatkan produktivitas lahan. Salah satunya dengan penggunaan varietas baru yang berproduksi dan berkadar pati tinggi dalam pengembangan tanaman singkong di tingkat petani dan industri pengolahan ubi singkong.

Masalah selanjutnya adalah setelah varietas unggul yang baru dirakit melalui pemuliaan atau dari introduksi dapat dirilis pemerintah, tidak serta merta dapat diperoleh petani singkong dengan mudah dan dalam jumlah banyak. Hal ini disebabkan terbatasnya jumlah bibit yang dapat disebar atau didistribusikan dalam waktu relatif singkat, karena dari satu tanaman singkong hanya diperoleh sekitar 10 stek saja setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (BIP, 1995). Sedangkan stek yang diperlukan untuk penanaman singkong secara monokultur satu hektarnya saja sekitar 10.000 - 14.000 stek. Dengan demikian diperlukan suatu teknik perbanyakan vegetatif yang secara cepat dapat memenuhi kebutuhan petani untuk skala yang luas dan dalam jumlah yang banyak yang pada akhirnya keunggulan varietas baru tersebut dapat cepat dirasakan oleh masyarakat petani singkong. Salah satu cara untuk mengatasi kendala

dalam produksi bibit singkong adalah dengan cara perbanyak secara *in vitro*. Ardian dan Yuliadi (2009) telah mendapatkan teknik perbanyak stek mikro tanaman singkong secara *in vitro* yang *true-to-type*. Akan tetapi setelah stek mikro diperoleh perlu diketahui pertumbuhan stek tersebut secara *in vitro* pada kondisi nitrogen dan sukrosa yang berbeda.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perbanyak *in vitro* adalah sukrosa yang berperan untuk memenuhi kebutuhan energi dan nitrogen yang digunakan untuk nutrisi hara pada media kultur. Sukrosa biasanya dihidrolisis sebagian atau seluruhnya menjadi komponen monosakarida glukosa dan fruktosa yang diserap oleh jaringan tanaman sebagian melalui transpor aktif dan sebagian lagi melalui penyerapan pasif (George, 1996). Konsentrasi sukrosa yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 1 - 5% (Pierik, 1987). Akan tetapi kebutuhan sukrosa antara satu tanaman dengan lainnya akan berbeda dalam kuantitas dan kualitas tunas yang dihasilkan melalui perbanyak tunas secara *in vitro*.

Selain itu unsur nitrogen digunakan pada media kultur berupa amonium dan nitrat dalam bentuk garam Amonium nitrat dan Kalium nitrat (Murashige dan Skoog, 1962), dan biasa digunakan dalam jumlah 1650 mg/l Amonium nitrat dan 1900 mg/l Kalium nitrat (Pierik, 1987).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi nitrogen dan sukrosa terhadap pertumbuhan dan perbanyak tunas singkong secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

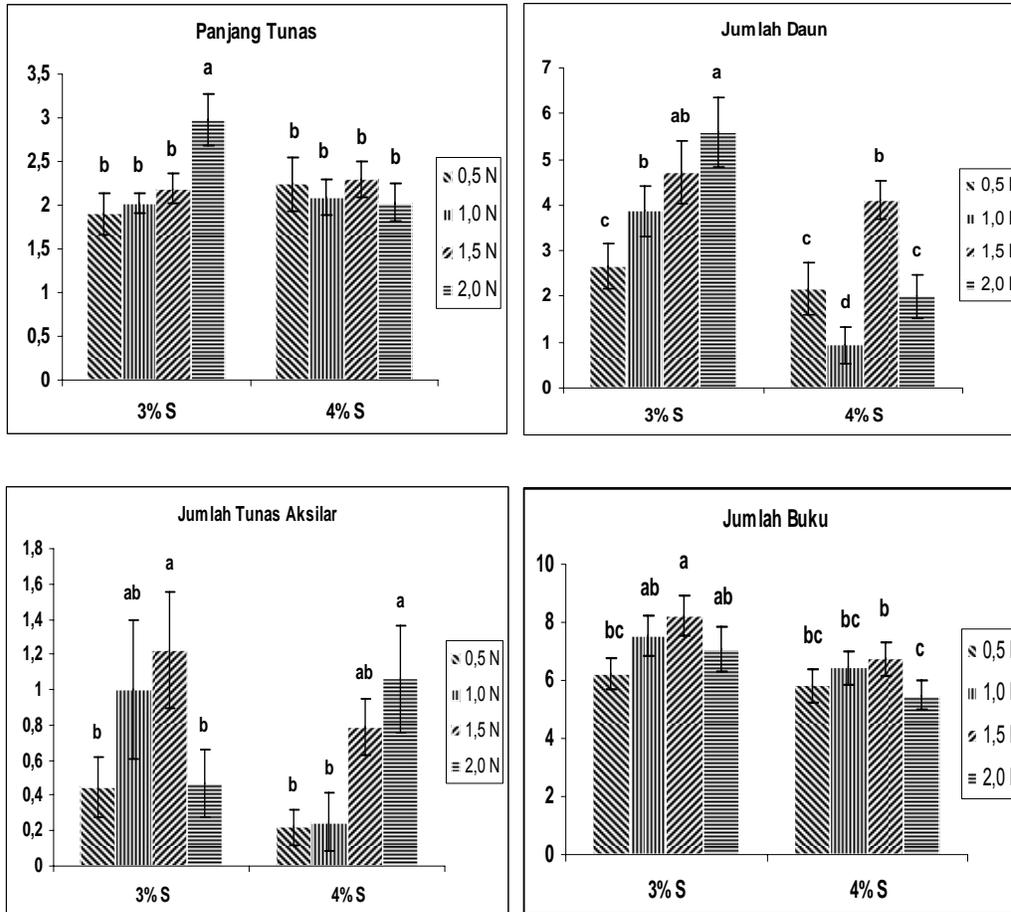
Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman singkong varietas Kasersart asal penanaman Kecamatan Natar, Lampung Selatan, Lampung. Eksplan berupa stek hijau singkong satu buku dengan ukuran ± 1 cm, berasal dari stek berumur 1 bulan yang ditumbuhkan di polibag, digunakan untuk percobaan perbanyak tunas mikro secara *in vitro*. Eksplan disterilisasi dengan 1% Sodium hypochlorite selama 10 menit, lalu dibilas 3 kali dengan air steril. Eksplan yang telah steril ditanam tegak lurus terhadap media dan dibenamkan $\frac{1}{2}$ bagiannya ke dalam media perlakuan. Media dasar yang digunakan adalah formulasi media Murashige dan Skoog (1962) yang ditambahkan dengan benzyl adenin 1 mg/l. Media diatur pH nya pada 5,8 dan ditambahkan agar 5 g/l, lalu dimasak dan dimasukkan ke dalam botol ukuran 250 ml dan tiap botol berisi 20 ml media. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 1,2 kg/cm² selama 15 menit. Medium yang sudah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang kultur dengan suhu $26 \pm 2^\circ\text{C}$ dan intensitas cahaya ± 1000 lux dari lampu TL Philips 40 watt dengan periode penyinaran diatur 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Penelitian ini menggunakan rancangan teracak sempurna dan perlakuannya disusun secara factorial (4x2) dengan factor pertamanya adalah berbagai konsentrasi Nitrogen pada media dasar yaitu, 0,5 kali; 1 kali; 1,5 kali dan 2 kali formulasi Murashige dan Skoog. Faktor keduanya adalah konsentrasi sukrosa yaitu: 30 g/l (3%); 40 g/l (4%). Setiap perlakuan diulang 4 kali dengan satuan percobaan terdiri dari 5 eksplan. Setelah 4 minggu pada media perbanyak, kultur diamati dengan peubah: jumlah tunas aksilar, panjang tunas yang diukur mulai dari pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan, jumlah buku tunas utama, dan jumlah daun segar tunas utama. Perbedaan nilai variabel antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan.

$$SE = \pm \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / n}{n(n-1)}} \quad \begin{array}{l} x_i = \text{nilai pengamatan ke-}i \\ n = \text{banyaknya pengamatan} \end{array}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 3% sukrosa dengan 2 kali nitrogen formulasi MS menghasilkan panjang tunas utama terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Gambar 1).



Gambar 1. Nilai rata-rata ± standard of the mean (SE) untuk peubah panjang tunas utama, jumlah daun segar, jumlah tunas aksilar dan jumlah buku (▨ 0,5 N ▨ 1,0 N ▨ 1,5 N ▨ 2,0 N)

Peubah jumlah daun segar terbanyak dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 2 kali nitrogen formulasi MS yang tidak berbeda dengan 1,5 kali nitrogen. Hal yang agak berbeda terjadi pada jumlah tunas aksilar terbanyak dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1,5 kali nitrogen yang tidak berbeda dengan 1 kali nitrogen serta pada kombinasi perlakuan 4% sukrosa dengan 1,5 kali dan 2 kali nitrogen formulasi MS. Jumlah buku terbanyak dicapai pada kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1,5 kali nitrogen yang tidak berbeda dengan 1 kali dan 2 kali nitrogen pada konsentrasi sukrosa yang sama.

Nilai terbaik untuk pertumbuhan berdasarkan jumlah nilai `a` untuk semua peubah yang diamati dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1,5 kali dan 2 kali nitrogen formulasi MS. Sedikit berbeda pada nilai terbaik untuk perbanyak tunas dengan stek 1 buku atau tunas aksilar berdasarkan jumlah nilai `a` untuk peubah jumlah tunas aksilar dan jumlah buku tunas

utama dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1 kali dan 1,5 kali nitrogen formulasi MS.

Tabel 1. Jumlah nilai `a` untuk karakter pertumbuhan dari semua peubah diamati dan karakter perbanyakan dari peubah jumlah tunas aksilar dan jumlah buku tunas utama

Perlakuan	S ₃ N _{0,5}	S ₃ N ₁	S ₃ N _{1,5}	S ₃ N ₂	S ₄ N _{0,5}	S ₄ N ₁	S ₄ N _{1,5}	S ₄ N ₂
Pertumbuhan	0	2	3	3	0	0	0	1
Perbanyakan	0	2	2	1	0	0	1	1

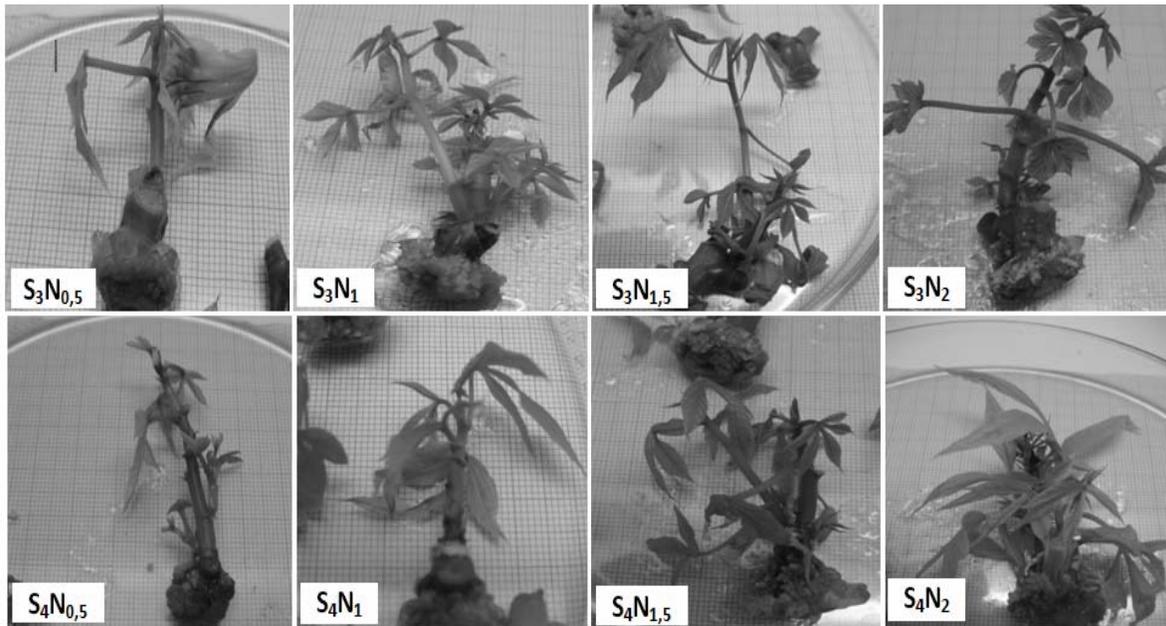
Kecenderungan seperti ini terjadi juga pada kultur tunas *Lilium longiflorum* yang menghasilkan pembentukan tunas terbaik di media kultur dengan sukrosa 3% (Nhut, *et al.*, 2001). Pertumbuhan tajuk terbaik pada tunas mikro nilam juga diperoleh dari media dengan sukrosa 3% (Ardian dan Desery, 2008)).

Pertumbuhan tajuk terbaik pada konsentrasi sukrosa 3% kemungkinan berkaitan dengan proses autotropik pada kultur *in vitro* yang memerlukan sukrosa sebagai sumber energi utama dan akan dipergunakan pada proses metabolisme jaringan tanaman tersebut (Thorpe, 1982). Kehadiran sukrosa dapat meningkatkan aktivitas Fosfoenol piruvat karboksilase (PEPC) yang penting dalam mekanisme carboxylase dan fiksasi CO₂ yang penting. Peningkatan aktivitas PEPC berperan pada suplai anplerotik pada rangka karbon untuk lintasan asam trikarboksilat dalam sintesis asam amino dan protein (Hdider dan Desjardius, 1994).

Peningkatan konsentrasi sukrosa 4% menurunkan pertumbuhan dibanding sukrosa 3%, kemungkinan bahwa konsentrasi sukrosa 3% sudah optimum untuk pertumbuhan dan perbanyakan tunas singkong secara *in vitro*. Umumnya pertumbuhan dan perkembangan planlet meningkat dengan bertambahnya konsentrasi sukrosa sampai optimum dicapai dan menurun pada konsentrasi tinggi (Pierik, 1987). Penghambatan pertumbuhan tunas mikro pada media dengan konsentrasi sukrosa tinggi dapat dijelaskan dari penelitian Capellades *et al.* (1991) yang menemukan kandungan pati dalam jumlah besar di daun mawar yang dikulturkan pada media dengan sukrosa tinggi dengan tingkat kecepatan fotosintesis yang rendah. Rendahnya kecepatan fotosintesis disebabkan karena akumulasi karbohidrat total di daun yang berpengaruh pada rendahnya kecepatan pembentukan substrat RuBP karboksilase, terjadi depresi asimilasi CO₂ dan efisiensi mekanisme fiksasi CO₂ menurun (Capellades *et al.* 1991). Selain itu konsentrasi sukrosa tinggi (4%) akan mempengaruhi perubahan potensial osmotik media karena potensial osmotik pada media Murashige dan Skoog dengan konsentrasi sukrosa 3% memberikan sumbangan 2,20 bar. Jika potensial osmotik lebih besar dari 3 bar, pertumbuhan dan pembentukan organ berhenti sebagai akibat dari penghentian pengambilan air dan nutrisi oleh jaringan tanaman (Pierik, 1987).

Kebanyakan tanaman dapat tumbuh dengan baik pada media formulasi Murashige dan Skoog (George, 1996). Peningkatan konsentrasi nitrogen sampai 1,5 kali dan 2 kali pada penelitian ini dapat meningkatkan pertumbuhan dan perbanyakan tunas singkong. Hal ini disebabkan karena unsur nitrogen berperan pada pembentukan asam amino, protein, asam nukleat dan senyawa lainnya yang sangat penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Salisbury and Ross, 1995). Nitrogen berperan dalam pembentukan protoplasma dan bagian dari pembelahan sel, semua reaksi enzimatik pada tanaman, pembentukan klorofil dan fotosintesis, komponen penting beberapa vitamin dan memperbaiki kulit dan kuantitas bahan kering daun sayuran dan protein biji tanaman (Uchida, 2000). Peningkatan konsentrasi nitrogen sampai 2 kali tidak

berbeda dengan 1,5 kalinya, diduga konsentrasi 1,5 kali nitrogen yang dibutuhkan tunas sudah mencukupi untuk pertumbuhan dan perbanyak kultur *in vitro* tunas singkong. Hal ini dimungkinkan karena nitrogen dalam keadaan berlebihan disimpan dalam bagian tanaman dalam bentuk glutamin (Salisbury dan Ross, 1995). Oleh karena itu untuk kultur *in vitro* tunas mikro singkong media terbaik untuk pertumbuhan dan perbanyak adalah media yang menggunakan 3% sukrosa dan 1,5 kali nitrogen formulasi MS (Gambar 2).



Gambar 2. Kultur *in vitro* ubi kayu pada berbagai konsentrasi nitrogen dan sukrosa umur 4 minggu

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan perbanyak tunas terbaik dicapai oleh kombinasi perlakuan 3% sukrosa dengan 1,5 kali nitrogen formulasi MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Diki Susanto yang telah membantu selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardian dan D.D. Desery, 2006. Pertumbuhan dan Perbanyak tunas mikro tanaman nilam Aceh secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi sukrosa. *J. Agrotropika* XI (2): 110-114.
- Ardian dan Yuliadi, E. 2009. Pertumbuhan dan perbanyak tunas mikro singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi benzil adenin. *J. Agrotropika* 14(1): 19-22.
- Badan pusat Statistik Lampung. 2008. Lampung Dalam Angka 2006. BPS Lampung dan Bappeda Propinsi Lampung. 622 hlm.

- Balai Informasi Pertanian Irian Jaya. 1995. Budidaya Singkong (*Manihot esculenta* Cranz.). Lembar Informasi Pertanian, BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- Capellades, M., R. Lemeur and P. Debergh. 1991. Effect of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 25: 21-26.
- George, E.F. 1996. Plant propagation by tissue culture In Practice. 2nd edition. Exegetics. England.
- Hdider, C. and Y. Desjardius. 1994. Effect of sucrose on photosynthesis and phosphoenolpyruvat carboxylase activity of in vitro cultured strawberry planlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 36: 27-33.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Nhut, D.T., B.V. Le, S. Fukai, M. tanaka and T.T. Van. 2001. Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young stem culture. *Plant Growth Reg.* 33: 59-65.
- Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martin Nijhoff Publ. Netherland.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan II. Diterjemahkan oleh. Lukman dan Sumaryono. Penerbit ITB. Bandung. 173 hlm.
- Thorpe, T.A. 1982. Carbohydrate utilization and metabolism. In J.M. Bonga and D.J. Durzan (eds). *Tissue culture in forestry*. Martinus Nijhoff. London.
- Uchida, R. 2000. Essential nutrients for plant growth: Nutrient function and deficiency symptoms p 31-55. In. *Plant Nutrint Management* In J.A. Silva and R. Uchida (eds). *Hawaii Soils, Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture*. Unversity of Hawaii at Manoa.