

PENGARUH BERBAGAI KONSENTRASI BENZYL ADENIN DAN NITROGEN PADA KULTUR IN VITRO SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz.)

Ardian¹⁾

1) Staf pengajar pada Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung 35145, Telp. 0721 781820

ABSTRACT

Propagation of cassava through in vitro culture is needed by farmers and agro industries to fulfill the need of the best and the newest clone as soon as after it is released by government. The objective of this research was to know the effects of the application of some concentrations of nitrogen and sucrose on in vitro growth and multiplication of micro-shoot of cassava. Explants used were one-node green cuttings of cassava, which were derived from cutting seedling. This research was arranged in completely randomized design with the treatments consisting of some concentrations of nitrogen 0.5, 1, 1.5 and 2 times of MS formulation and concentrations of benzyl adenine: 0.5 and 1 mg/l. Each treatment was replicated 10 times with 2 explants in each experiment unit. The best growth and multiplication shoot of cassava in vitro was achieved by treatment of 1 mg/l benzyl adenine with 2 times nitrogen concentration of MS formulation.

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 penambahan 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 perbanyakan secara *in vitro*. Ardian dan Yuliadi (2009) telah mendapatkan teknik perbanyakan stek mikro tanaman singkong secara *in vitro* yang true-

TROGEN
(tz.)

to-type. Akan tetapi setelah stek mikro diperoleh perlu diketahui pertumbuhan stek tersebut secara *in vitro* pada kondisi nitrogen dan benzi adenin yang berbeda.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dalam perbanyak tunas *in vitro* adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (George dan Sherrington, 1984). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perbanyak tunas dalam kultur *in vitro* adalah sitokinin. Salah satu jenis sitokinin yang paling umum digunakan adalah benziladenin (BA), karena paling efektif dan aktif untuk merangsang perbanyak tunas secara *in vitro* (Pierik, 1987). Rahman dan Blake (1988), memperoleh perbanyak dan pertumbuhan tunas angka secara *in vitro* yang optimal dengan menggunakan 1,125 mg/l benziladenin. Pemberian sitokinin tanpa auksin menunjukkan kecenderungan pada pembentukan tunas secara langsung, seperti yang ditunjukkan pada penelitian Stamp, dkk., (1990) yang menggunakan 2 mg/l BA. Akan tetapi kebutuhan sitokinin antara satu tanaman dengan lainnya akan berbeda dalam hal 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 atau setara dengan 840, 86 mg/l N (Pierik, 1987).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi nitrogen dan benzil adenin 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 ditanamkan $\frac{1}{3}$ 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.

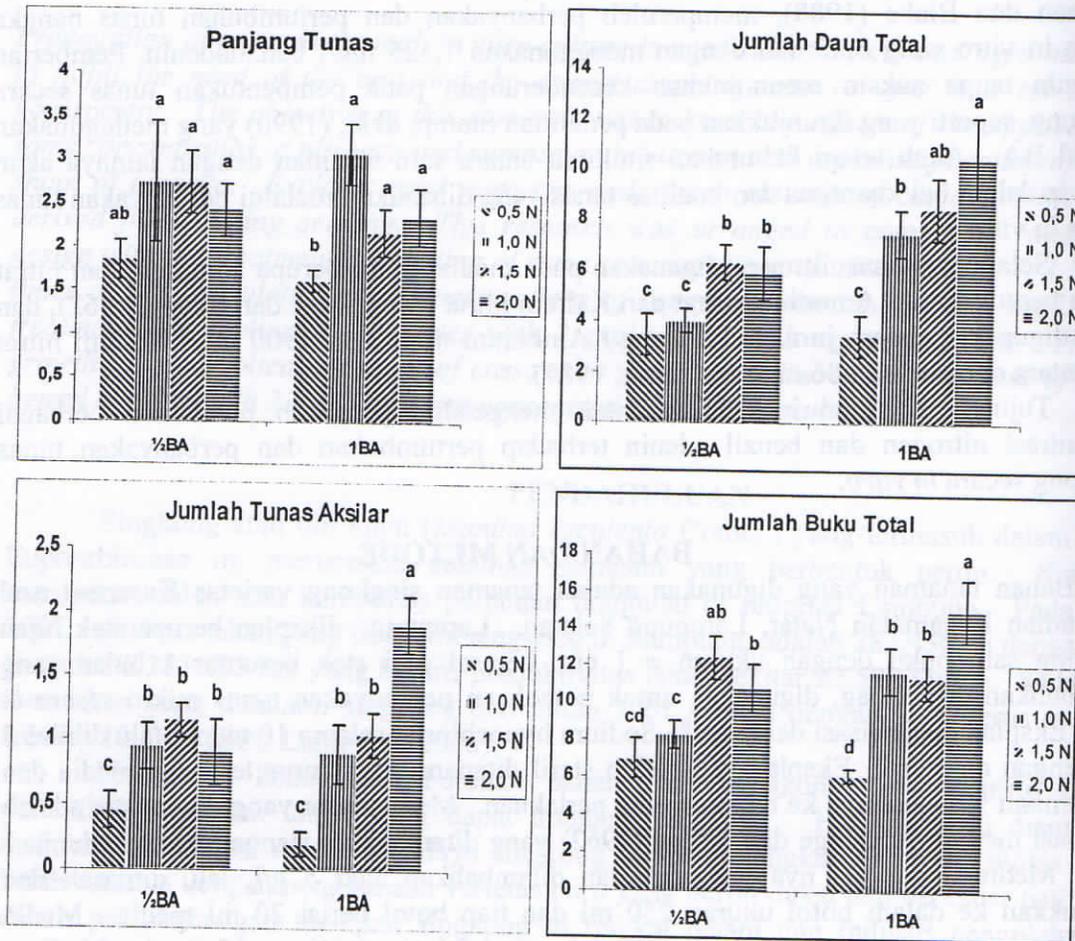
Penelitian ini menggunakan rancangan teracak sempurna dan perlakuannya disusun secara faktorial (4x2) dengan faktor pertamanya adalah berbagai konsentrasi Nitrogen pada media dasar yaitu, 0,5 kali (420,43 mg/l N); 1 kali (840,86 mg/l N); 1,5 kali (1261,29 mg/l N) dan 2 kali (1681,72 mg/l N) formulasi Murashige dan Skoog. Faktor keduanya adalah konsentrasi benzil adenin yaitu: 0,5 dan 1 mg/l. 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 mulai dari pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan, jumlah buku total dari tunas utama dan tunas aksilar, dan jumlah daun segar total dari tunas utama dan tunas aksilar. Perbedaan nilai variabel antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan.

$$SE = \pm \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / n}{n(n-1)}}$$

x_i = nilai pengamatan ke- i
 n = banyaknya pengamatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan menghasilkan panjang tunas utama yang tidak ber beda kecuali perlakuan 0,5 kali nitrogen formulasi MS dengan 1 mg/l benzil adenin (Gambar 1).



Gambar 1. Nilai rata-rata ± standard of the mean (SE) untuk peubah panjang tunas utama, jumlah daun segar total dari tunas utama dan tunas aksilar, jumlah tunas aksilar dan jumlah buku total pada berbagai konsentrasi benzil adenin dan nitrogen (□ 0,5 N; ▨ 1,0 N; ▩ 1,5 N; ≡ 2,0 N)

Peubah jumlah daun segar total dari tunas utama dan tunas aksilar terbanyak dicapai oleh kombinasi perlakuan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen formulasi MS yang tidak berbeda dengan 1,5 kali nitrogen dengan benzil adenin yang sama. Hal yang agak berbeda terjadi pada jumlah tunas aksilar terbanyak dicapai oleh kombinasi perlakuan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen yang berbeda dengan perlakuan lainnya. Jumlah buku total dari tunas utama dan tunas aksilar terbanyak dicapai pada kombinasi perlakuan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,5 mg/l benzil adenin dengan 1,5 kali nitrogen.

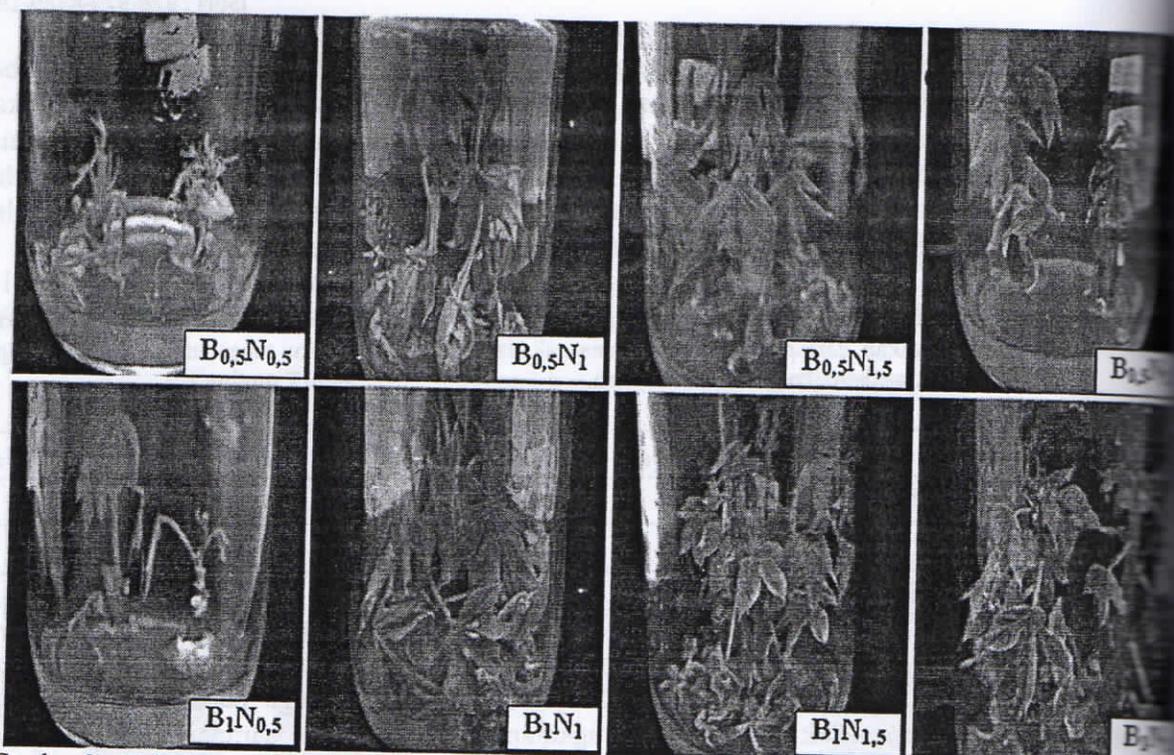
Nilai terbaik untuk pertumbuhan berdasarkan jumlah nilai 'a' untuk semua peubah yang diamati dicapai oleh kombinasi perlakuan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen formulasi MS. Hal yang sama terjadi pada nilai terbaik untuk perbanyak tunas dengan stek 1 buku atau tunas aksilar berdasarkan jumlah nilai 'a' untuk peubah jumlah tunas aksilar dan jumlah total buku dari tunas utama dan tunas aksilar dicapai oleh kombinasi perlakuan 2 kali nitrogen formulasi MS dengan 1 mg/l benzil adenin.

Tabel 1. Jumlah nilai 'a' untuk karakter pertumbuhan dari semua peubah diamati dan karakter perbanyak dari peubah jumlah tunas aksilar dan jumlah buku tunas utama pada berbagai konsentrasi benzil adenin dan nitrogen.

Perlakuan	B _{0,5} N _{0,5}	B _{0,5} N ₁	B _{0,5} N _{1,5}	B _{0,5} N ₂	B ₁ N _{0,5}	B ₁ N ₁	B ₁ N _{1,5}	B ₁ N ₂
Pertumbuhan	1	1	2	1	0	1	2	4
Perbanyak	0	0	1	0	0	0	0	2

Hasil yang agak berbeda dengan hasil penelitian ini dicapai dengan kultur *in vitro* *Spilanthus acmella* yang menggunakan konsentrasi benzyl adenine 0,5 mg/l untuk memproduksi multiplikasi tunas (Haw dan Keng, 2003) dan juga pada kultur *Ocimum gratissimum* (Gopi, dkk., 2006). Peningkatan benzil adenin sampai 1 mg/l dapat meningkatkan pertumbuhan kultur *in vitro* tanaman singkong, hal ini dimungkinkan karena benzil adenin yang merupakan sitokinin sintesis berperan dalam memacu pembelahan sel, pembesaran sel dan pembentukan organ tanaman. Selain itu sitokinin berfungsi menunda penuaan jaringan daun, memacu perkembangan daun, meningkatkan aktivitas wadah penampung hara, memacu perkembangan tunas aksilar tanaman, perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil (Salisbury and Ross, 1995).

Kebanyakan tanaman dapat tumbuh dengan baik pada media formulasi Murashige dan Skoog (George, 1996). Peningkatan konsentrasi nitrogen sampai 2 kali pada penelitian ini dapat meningkatkan pertumbuhan dan perbanyak 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 kualitas dan kuantitas bahan kering daun sayuran dan protein biji tanaman (Uchida, 2000). Walaupun nitrogen dalam keadaan berlebihan tetap akan disimpan dalam bagian tanaman dalam bentuk glutamin (Salisbury dan Ross, 1995). Fungsi benzil adenin dan nitrogen yang hampir sama dalam pertumbuhan tanaman yang menyebabkan interaksi kedua bahan ini dapat saling menunjang untuk memacu pertumbuhan tanaman pada kultur *in vitro*. Oleh karena itu untuk kultur *in vitro* tunas mikro singkong media terbaik untuk pertumbuhan dan perbanyak adalah media yang menggunakan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen formulasi MS (Gambar 2).



Gambar 2. Kultur in vitro singkong pada berbagai konsentrasi nitrogen (N) dan benzyl adenin (B) umur 4 minggu

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan perbanyak tunas terbaik dicapai oleh kombinasi perlakuan 1 mg/l benzil adenin dengan 2 kali nitrogen formulasi MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Purba Sanjaya yang telah membantu selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- 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* Crantz.). Lembar Informasi Pertanian, BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- George, E.F. 1996. Plant propagation by tissue culture In Practice. 2nd edition. Exegetics. England.
- George, F.E. and P.D. Sherington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd. England.

Gopi, C., Y.N. S
gratissima

Haw, A.B. and
insecticid
68.

Murashige, T. and
tobacco

Pierik, R.L.M.

Rahman, M.A.
shoot of
Culture

Stamp, J.A., S.
leaves of

Salisbury, F.E.
Lukman

Uchida, R. 2
symtom
(eds).
Unvers



min (B) umur 4

kuan 1 mg/l

membantu

o singkong
rasi benzil

mpung dan

esculenta
w.pustaka-

Exegetics.

Exegetics

Gopi, C., Y.N. Sekhar and P. Ponmurugan. 2006. In vitro multiplication of *Oncimum gratissimum* L. Through direct regeneration. Af. J. Biotech. 5(9): 723-726.

Haw, A.B. and C.L. Keng. 2003. Micropropagation of *Spilanthes acmella*, a bio-insecticide plant, through proliferation of multiple shoots. J. Appl. Hort. 5(2): 65-68.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martin Nijhoff Publ. Netherland.

Rahman, M.A. and J. Blake. 1988a. Factors affecting in vitro proliferation and rooting of shoot of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Plant Cell Tissue and Organ Culture 13: 179-187.

Stamp, J.A., S.M. Colby and C.P. Meredith. 1990. Improved shoot organogenesis from leaves of Grape. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(6):1038-1042.

Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan II. Diterjemahkan oleh Lukman dan Sumaryono. Penerbit ITB. Bandung. 173 hlm.

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.