

KULTUR *In vitro* UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.) DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI BENZIL ADENIN DAN ASAM INDOL ASETAT

Ardian

*Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian
Universitas Lampung
Bandar Lampung 35145
Email: ardian.unila@gmail.com.*

ABSTRAK

Perbanyak tanaman ubi kayu 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 benzil adenin dan asam indol asetat terhadap pertumbuhan dan perbanyak *in vitro* tunas mikro ubi kayu. Eksplan yang digunakan berupa stek hijau satu buku ubi kayu, yang berasal dari stek batang umur 1 bulan yang ditumbuhkan dalam polibag. Penelitian ini menggunakan rancangan teracak lengkap dengan perlakuan konsentrasi benzil adenin: 0,2, 0,4, dan 0,8 mg/l dan asam indol asetat: 0 dan 1 mg/l. Setiap perlakuan diulang 10 kali masing-masing terdiri dari 2 eksplan. Pertumbuhan dan perbanyak tunas terbaik diperoleh dari kombinasi perlakuan 0,4 mg/l benzil adenin dengan 1 mg/l asam indol asetat.

Kata kunci: kultur *in vitro*, ubi kayu, benzil adenin, asam indol asetat

1. PENDAHULUAN

Singkong atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae merupakan tanaman semusim dan berbentuk perdu. Singkong merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan di propinsi Lampung. Pada tahun 2009, total luas lahan yang ditanami ubi kayu di Lampung adalah 309.047 ha dengan total produksi 7.569.178 ton yang berarti produktivitas lahan sekitar 24,49 ton/ha. Luas lahan yang ditanami ubi kayu dari tahun 2005 sampai dengan 2009 terus meningkat sebesar 22,16% (BPS Lampung, 2012).

Kenaikan kebutuhan bahan baku ubi kayu tidak seiring dengan penambahan jumlah lahan yang dapat ditanami ubi kayu. Kondisi ini perlu diantisipasi melalui intensifikasi budidaya ubi kayu untuk meningkatkan produktivitas lahan. Salah satunya dengan penggunaan varietas baru yang berproduksi dan berkadar pati tinggi.

Masalah selanjutnya adalah varietas unggul yang baru dirakit melalui pemuliaan atau dari introduksi yang dirilis pemerintah, tidak serta merta dapat diperoleh petani ubi kayu dengan mudah dan dalam jumlah banyak. Penyebabnya adalah terbatasnya jumlah bibit yang dapat disebar atau didistribusikan

dalam waktu relatif singkat, karena dari satu tanaman ubi kayu hanya diperoleh sekitar 10-16 stek saja setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (Sundari, 2010). Sedangkan stek yang diperlukan untuk penanaman ubi kayu secara monokultur per hektarnya adalah sekitar 10.000 - 14.000 stek. Dengan demikian diperlukan suatu teknik perbanyak 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 ubi kayu. Salah satu cara untuk mengatasi kendala dalam produksi bibit ubi kayu 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*.

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* dengan merangsang pembelahan sel dan mengurangi dominansi apikal (Khaleghi, dkk., 2008). Khalafalla, *et al.*, (2007), memperoleh perbanyak dan pertumbuhan tunas *Vernonia amygdalina* secara *in vitro* yang optimal dengan menggunakan 0,5 mg/l benziladenin. Pemberian sitokinin tanpa auksin menunjukkan kecenderungan pada pembentukan tunas secara langsung, seperti yang ditunjukkan pada penelitian Pant and Manandhar, (2007) yang menggunakan 0,5 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*.

Penambahan benzil adenin dengan konsentrasi rendah menghasilkan respon yang rendah terhadap regenerasi tunas dan menghasilkan tunas tunggal. Penggunaan sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan dikombinasikan dengan asam indol asetat akan merangsang regenerasi tunas dengan frekuensi yang lebih tinggi, terutama dalam pembentukan multiplikasi tunas (Hoque., 2010)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi benzil adenin dan asam indol asetat terhadap pertumbuhan dan perbanyak tunas ubi kayu secara *in vitro*.

2. METODE PENELITIAN

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman ubi kayu varietas Kasersart asal penanaman Kecamatan Tanjung Bintang, Lampung Selatan, Lampung. Eksplan berupa stek hijau ubi kayu satu buku dengan ukuran ± 1 cm, berasal dari stek berumur 1 bulan yang ditumbuhkan dalam 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 sedalam $\frac{1}{3}$ bagiannya dalam media perlakuan. Media dasar yang digunakan adalah formulasi media Murashige dan Skoog (1962) yang ditambahn sukrosa 30 g/l. Ke dalam media ditambahkan 5 g/l agar dan pHnya diatur sehingga tetap 5,8. Setelah dimasak media

dimasukkan ke dalam botol ukuran 250 ml, masing-masing botl diisi 20 ml media. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 1,2 kg/cm² selama 15 menit. Medium yang sudah ditanami eksplan diinkubasi di dalam ruang kultur dengan suhu $26 \pm 2^\circ\text{C}$ dan intensitas cahaya ± 1000 lux berasal dari lampu TL Philips 40 watt dengan periode penyinaran 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Penelitian ini menggunakan rancangan teracak sempurna yang disusun secara faktorial (4x2). Faktor pertama adalah berbagai konsentrasi benzil adenin dalam media dasar yaitu, 0,2; 0,4; dan 0,8 mg/l . Faktor kedua adalah konsentrasi asam indol asetat yaitu: 0; dan 1 mg/l. Setiap perlakuan diulang 10 kali, masing masing ulangan terdiri dari 2 eksplan. Setelah 4 minggu dalam media perbanyak, dilakukan pengamatan pada peubah: panjang tunas yang diukur mulai dari pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan, jumlah buku tunas utama, dan jumlah daun segar tunas utama dan panjang ruas rata-rata per tanaman. Perbedaan nilai variabel antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan.

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

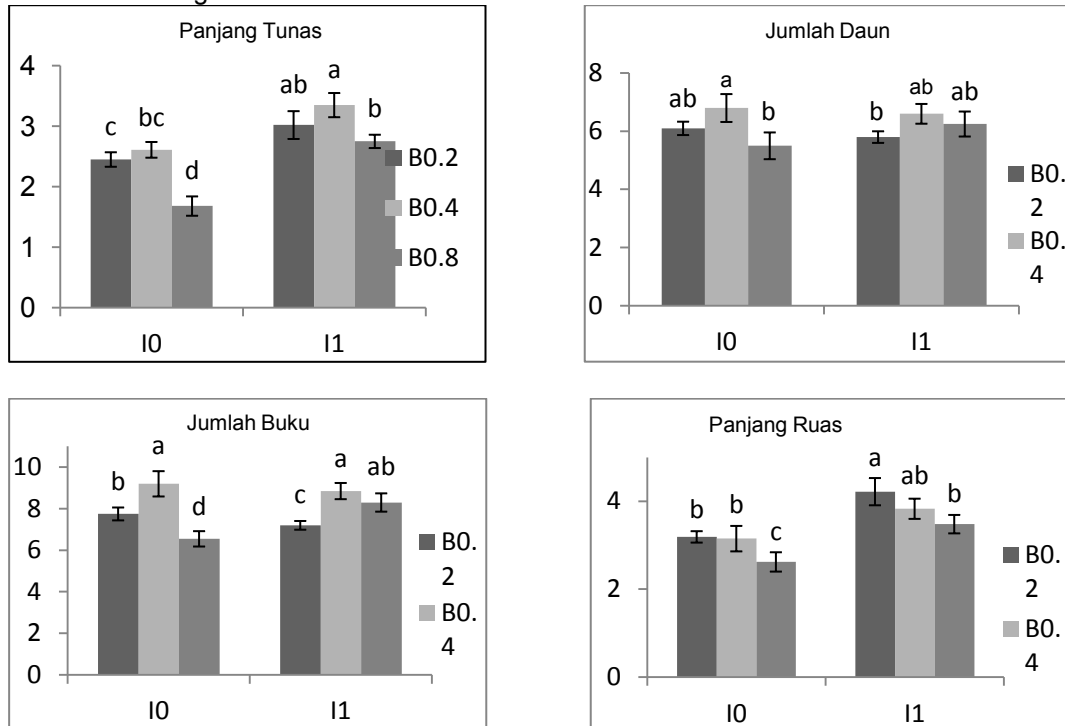
x_i = nilai pengamatan ke-i
n = banyaknya pengamatan

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan benzyl adenine (BA) dan asam indol asetat (AIA) mempengaruhi pertumbuhan berdasarkan peubah yang diamati. Perlakuan BA yang ditambahkan perlakuan AIA menghasilkan pertumbuhan panjang tunas yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan BA saja (Gambar 1). Peningkatan BA sampai konsentrasi 0,4 mg/l meningkatkan panjang tunas yang terbentuk dengan dan tanpa 1 mg/l AIA dan peningkatan konsentrasi BA 0,8 mg/l menurunkan kembali panjang tunas yang terbentuk. Penambahan AIA 1 mg/l pada semua perlakuan BA meningkatkan panjang tunas yang terbentuk dibandingkan dengan perlakuan BA yang sama tanpa penambahan AIA. Panjang tunas terbaik dengan nilai 3,35 cm dicapai oleh pemberian 0,4 mg/l BA dengan perlakuan 1

mg/l AIA yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,2 mg/l BA ditambah 1 mg/l AIA. Kecenderungan penurunan panjang tunas pada kenaikan konsentrasi benzil adenin dari 0,2 mg/l sampai 0,8 mg/l, menandakan kebutuhan sitokinin eksogen untuk pertumbuhan panjang tunas mikro ubi kayu sangat sedikit dan penambahan konsentrasi 1 mg/l asam indol asetat

membantu menghilangkan hambatan pemanjangan tunas oleh kelebihan sitokinin eksogen. Kenaikan konsentrasi benzil adenin sampai pada konsentrasi tertentu akan menaikkan pertumbuhan panjang tunas dan akan menghambat pada konsentrasi yang lebih tinggi lagi (Rani and Rana, 2010).



Gambar 1. Nilai rata-rata \pm standard of the mean (SE) untuk peubah panjang tunas utama (cm), jumlah daun segar, jumlah buku dan panjang ruas rata-rata (mm)

Penambahan asam indol asetat (AIA) pada perlakuan benzil adenin (BA) secara umum mempengaruhi pola grafik jumlah buku dibandingkan dengan perlakuan BA saja (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi BA dari 0,2 sampai 0,4 mg/l tanpa perlakuan AIA meningkatkan jumlah buku yang terbentuk dan menurun kembali pada BA 8 mg/l. Penambahan 1 mg/l AIA pada peningkatan konsentrasi 0,2 ke 0,4 mg/l BA meningkatkan jumlah buku yang terbentuk, akan tetapi pada konsentrasi 0,4 dan 0,8 mg/l BA jumlah buku yang terbentuk tidak berbeda. Jumlah buku terbanyak dengan nilai 9,2 buah dicapai oleh perlakuan 0,4 mg/l BA tanpa AIA yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,4 mg/l BA dengan 1 mg/l AIA.

Secara umum penambahan asam indol asetat (AIA) pada perlakuan benzil adenin (BA) tidak mempengaruhi peningkatan jumlah daun segar yang terbentuk dibandingkan dengan perlakuan BA saja

(Gambar 1). Peningkatan BA dari konsentrasi 0,2 mg/l sampai 0,4 mg/l tanpa perlakuan AIA jumlah daun segar yang terbentuk tidak berbeda, akan tetapi pada konsentrasi BA 0,8 mg/l menyebabkan penurunan jumlah daun segar yang terbentuk. Peningkatan konsentrasi BA dari 0,2 sampai 0,8 mg/l pada penambahan 1 mg/l AIA jumlah daun yang terbentuk tidak berbeda. Jumlah daun segar terbanyak dengan nilai 6,8 lembar dicapai oleh perlakuan 0,4 mg/l BA tanpa AIA, yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,2 mg/l BA tanpa AIA dan 0,4 dan 0,8 mg/l BA dengan 1 mg/l AIA.

Hasil penelitian ini mirip dengan kultur in vitro tanaman *Kaempferia galanga* dengan perlakuan 1 mg/l benzyl adenine ditambah 0,5mg/l asam indol asetat yang menghasilkan multiplikasi tunas dan produksi biomassa daun terbanyak dibandingkan konsentrasi benzil adenin yang lebih tinggi (Parida, *et al.*, 2010).

Demikian juga pada tanaman *Stevia rebaudiana* yang menghasilkan regenerasi tunas terbaik dari eksplan ujung tunas dan buku pada perlakuan 1 mg/l benzyl adenine ditambah 0,5mg/l asam indol asetat (Anbazhagan, *et al.*, 2010)

Penambahan asam indol asetat (AIA) pada perlakuan benzil adenin(BA) secara umum mempengaruhi peningkatan panjang ruas dibandingkan dengan perlakuan BA saja, kecuali pada perlakuan 0,4 mg/l BA yang

tidak berbeda (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi BA dari 0,2 sampai 0,8 mg/l pada perlakuan tanpa AIA menurunkan panjang ruas yang terbentuk. Hal berbeda terjadi pada semua perlakuan BA dengan 1 mg/l AIA terjadi pembentukan panjang ruas yang nilainya tidak berbeda. Panjang ruas terbaik dengan nilai 4,22 mm dicapai oleh perlakuan 0,2 mg/l BA dengan 1 mg/l AIA, yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,4 mg/l BA dengan 1 mg/l AIA.

Tabel 1. Jumlah nilai 'a' pada berbagai konsentrasi benzil adenin dan konsentrasi asam naftalen asetat

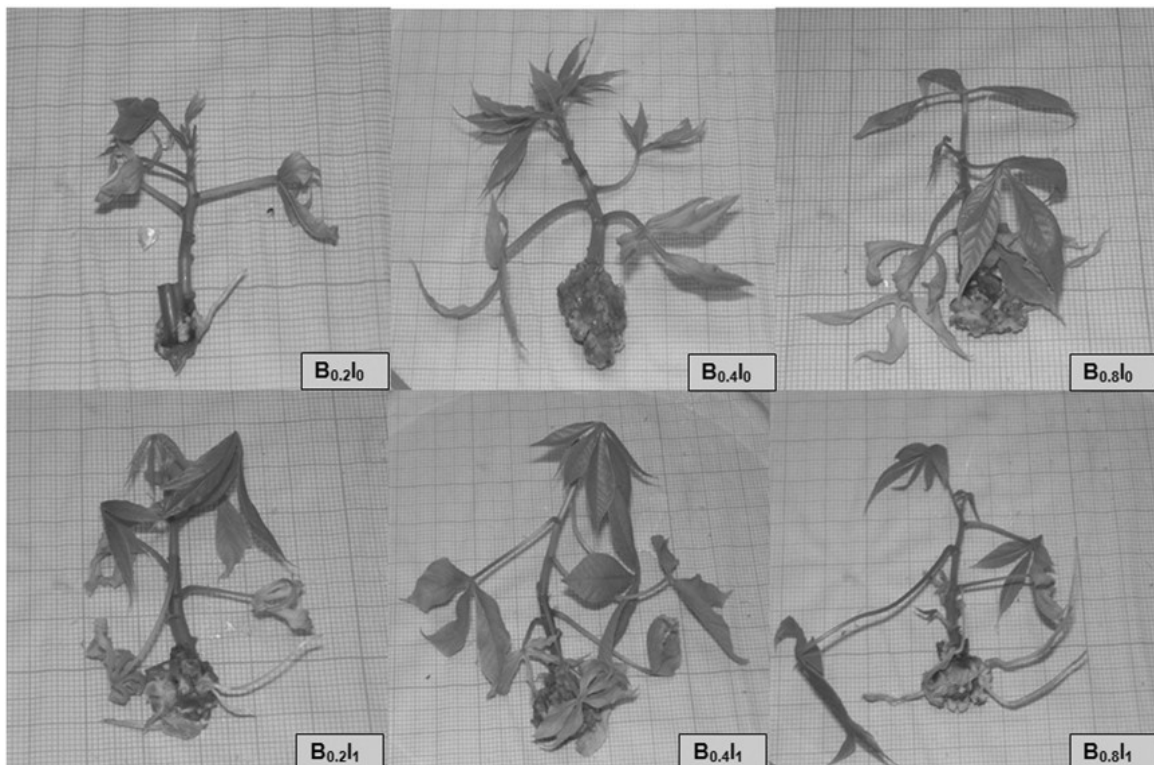
Perlakuan	B _{0,2l0}	B _{0,4l0}	B _{0,8l0}	B _{0,2l1}	B _{0,4l1}	B _{0,8l1}
Pertumbuhan	1	2	0	2	4	2
Perbanyakan	0	1	0	0	1	1

Pertumbuhan tunas mikro ubikayu secara *in vitro* yang terbaik dicapai pada perlakuan 0,4 mg/l benzyl adenine dengan 1 mg/l asam indol asetat. Hal ini didasarkan pada jumlah nilai tertinggi semua peubah yang diamati diperingkat dengan tanda huruf a dibelakang nilai rata-rata perlakuan \pm *standard error of the mean* yang berbeda a dengan huruf lainnya (Table 1.). Sedangkan untuk perbanyakan terbaik berdasarkan jumlah buku terbaik dan penampakan secara visual (Gambar 2) dapat digunakan perlakuan 0,4 mg/l benzyl adenine dengan 0 dan 1 mg/l asam indol asetat.

Hal ini berbeda dengan penelitian Sangavai and Chellapandi (2008) yang mendapatkan induksi tunas tertinggi dicapai dengan perlakuan 10,5 mg/l bezil adenine dan 0,5 mg/l asam indol asetat dan juga Nanda, *et al.*, (2004) mendapatkan multiplikasi tunas terbanyak tanaman *Acacia mangium* dengan perlakuan 1,5 mg/l benzyl adenine dan 0,05 mg/l asam indol asetat.. Sedikit berbeda dengan

penelitian Kaladhar, *et al.*, (2011) yang mendapatkan produksi jumlah tunas terbanyak tanaman *Evolvulus Nummularius* dengan 3 mg/l benzil adenin (BA) dan 0,5 mg/l asam indol asetat (AIA) atau rasio keseimbangan konsentrasi BA:AIA adalah 6/1.

Hal ini disebabkan karena benzil adenin mempunyai pengaruh dalam merangsang pemecahan dormansi mata tunas dan pembentukan multiplikasi tunas (Rani dan Rana, 2010), serta paling efektif untuk mendorong pecah tunas dan pertumbuhan meristem aksilar (Nanda, 2004). Sitokinin mempunyai pengaruh fisiologis yang penting dalam merangsang pembelahan sel dan pemanjangan sel, sintesis RNA aktif, merangsang sintesis protein dan aktifitas enzim (Al Malki dan Elmeer, 2010). Kehadiran asam indol asetat (auksin) pada konsentrasi rendah dibutuhkan untuk regenerasi primordia tunas dan auksin terutama berperan pada pemanjangan sel (Waseem, *et al.*, 2009).



Gambar 2. Kultur in vitro ubi kayu pada berbagai konsentrasi benzil adenin dan asam indol asetat umur 4 minggu

4. SIMPULAN

Pertumbuhan dan perbanyakan tunas terbaik diperoleh dari kombinasi perlakuan 0,4 mg/l benzil adenin dengan 1 mg/l asam indol asetat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional dan Universitas Lampung yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Reseach Grant IM-HERE 2011 dan terima kasih juga kami sampaikan kepada Maryo Gunawan atas bantuannya selama penelitian in berlangsung.

PUSTAKA

Al Malki, A.A.H.S. and K.M.S. Elmeer. 2010. Influence of auxin and cytokinine on in vitro multiplication of *Ficus Anastasia*. Af. J. Biotech. 9(5):635-639.

Anbzhagan, M., M. Kalpana, R. Rajendran, V. Natarajan and D. Dhanavel. 2010. In vitro production of

Stevia rebaudiana Bertoni. Emir. J. Food Agric. 22 (3): 216-222.

Ardian dan Yuliadi, E. 2009. Pertumbuhan dan perbanyakan tunas mikro singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi benzil adenin. J. Agrotropika 14(1): 19-22.

Badan pusat Statistik Lampung. 2012. Lampung Dalam Angka 2011. BPS Lampung dan Bappeda Propinsi Lampung. 525 hlm.

George, E.F. 1996. Plant propagation by tissue culture In Practice. 2nd edition. Exegetics. England.

Hoque. 2010. In Vitro Regeneration Potentiality of Potato under Different Hormonal Combination. World Journal of Agricultural Sciences 6 (6): 660-663.

Kaladhar, DSVGK, S Harasreeramulu, Govinda Rao Duddukuri and CH Surekha. 2011. In Vitro Regeneration of the Medicinal Herb, *Evolvulus Nummularius* L. From Shoot Tip and Flower Explants. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences 1 (2): 81-89.

Khalafalla, M.M., E.I. Elgaali and M.M. Ahmed. 2007. In vitro multiple shoot regeneration from nodal explants of

- Vernonia amygdalina- an important medicinal plant. Af.Crop Sci. Conf. Proc. Vol 8: 747-752.
- Khaleghi, A., A. Khalighi, A. Sahraroo, M. Karimi, A. Rasoulnia, I.N. Ghafooni and R. Ataei. 2008. In vitro propagation of Alstroemeria cv. `Fuego`. Am-Euras J.Agric & Environ. Sci. 3(3): 492-497.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Nanda, R.M., P. Das, and G. R. Rout. 2004. In vitro clonal propagation of *Acacia mangium* Willd. and its evaluation of genetic stability through RAPD marker. Ann. For. Sci. 61 : 381-386.
- Parida, R., S. Mohanty, A. Kuanar, and S. Nayak. 2010. Rapid multiplication and in vitro production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. Electronic Journal of Biotechnology 13 No.4: 1-8.
- Pant, B. and S. Manandhar. 2007. In vitro propagation of carrot (*Daucus carota*) L. Sci. World 5(5): 51-53.
- Rani, S. and J.S. Rana. 2010. In vitro propagation of *Tylophora indica*-influence of explanting season, growth regulator synergy, culture passage and planting, substrate. J Amm. Sci. 6(2): 385-392.
- Sangavai C. and Chellapandi P. 2008. *In vitro* Propagation of a Tuberose Plant (*Polianthes tuberosa* L.). Electronic Journal of Biology 4(3):98-101.
- Sundari, T. 2010. Pengenalan Varietas Unggul dan Teknik Budidaya Ubi kayu. Report No. 55 STE. Final. 12 hlm.
- Waseem, K., M.Q. Khan, J. Jaskani, M.S. Jilani and M.S. Khan, 2009. Effect of different auxins on the regeneration capability of chrysanthemum leaf discs. Int. J. Agric. Biol., 11: 468-472.