

INDUKSI MULTIPLIKASI TUNAS UBI KAYU
(Mannihot esculenta Crantz.) var. ADIRA 2 SECARA IN VITRO

Oleh :

AHMAD RIFQI FAUZI
A24052752



DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2010

RINGKASAN

AHMAD RIFQI FAUZI. Induksi Multiplikasi Tunas Ubi Kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) Var. Adira 2 Secara *In Vitro*. (Dibimbing oleh Nurul Khumaida).

Ubi kayu merupakan salah satu sumber pangan penting di Indonesia bahkan dunia. Peningkatan produksi ubi kayu mempunyai peranan yang sangat penting dalam memenuhi kebutuhan pangan dunia yang semakin lama semakin meningkat. Permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan produksi sumber non beras, terutama ubi kayu, adalah ketersediaan bahan baku pangan ubi kayu yang tidak kontinyu. Salah satu strategi mengatasi masalah tersebut yaitu peningkatan produksi umbi ubi kayu dengan menggunakan teknologi modern yang dapat menunjang ketersediaan dan kontinyuitas produksinya. Teknologi *in vitro* merupakan salah satu teknologi modern yang saat ini terus berkembang pada bidang pertanian untuk perbanyak cepat.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh komposisi media dasar dan zat pengatur tumbuh benzil amino purin (BAP) terhadap perbanyak tunas ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas adira 2 secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Agronomi dan Hortikulura, pada bulan Juni – November 2009.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dua faktor. Faktor pertama adalah komposisi media dasar yang terdiri dari media dasar MS dan $\frac{1}{2}$ MS. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri atas 5 taraf yaitu 0, 0.5, 1, 1.5, dan 3 ppm. Seluruh perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA dan menggunakan media MS0 sebagai kontrol. Varietas ubi kayu yang digunakan adalah varietas unggulan Adira 2. Bahan stek ubi kayu berumur \pm 3 bulan diperoleh dari BB Biogen, Cimanggu, Bogor. Sumber eksplan yang digunakan yaitu tunas baru ubi kayu yang telah mempunyai 3-4 buku bermata tunas.

Pelaksanaan penelitian diawali dengan sterilisasi permukaan tunas dengan menggunakan *Tween*, alkohol 70% selama 1 menit dan betadine selama 5 menit. Eksplan yang telah disterilisasi, selanjutnya ditanam di media pre kondisi (MS0) selama 20 hari. Eksplan steril berupa tunas dengan satu buku selanjutnya

dikulturkan pada media perlakuan dengan 1 eksplan per botol. Perlakuan di ruang kultur dilakukan selama 8 minggu dengan beberapa peubah pertumbuhan yang diamati setiap satu minggu sekali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi media dasar berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku, jumlah akar, dan tinggi tunas ubi kayu. Media dasar MS merupakan media yang lebih efektif dibandingkan media $\frac{1}{2}$ MS namun tidak berbeda nyata dengan media kontrol (MS0). Jumlah tunas di akhir pengamatan (8MST) pada media kontrol, MS, dan $\frac{1}{2}$ MS berturut-turut adalah 1.15, 1.27, dan 0.81 tunas per eksplan.

Penambahan konsentrasi BAP belum optimal karena tidak berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah tunas per eksplan, jumlah daun total, jumlah buku per tunas, dan tinggi tunas tertinggi kecuali terhadap peubah jumlah akar per eksplan. Keragaan eksplan akibat pengaruh konsentrasi BAP berbeda setiap perlakuan. Peningkatan konsentrasi BAP memberikan ketegaran eksplan yang semakin baik dan waktu muncul tunas lebih cepat. Akar banyak terbentuk pada konsentrasi 0 ppm BAP. Banyaknya akar yang terbentuk ini diduga karena adanya aktivitas auksin endogen pada eksplan ubi kayu. Aklimatisasi planlet pada umur 8 MST masih belum optimal. Planlet yang diaklimatisasi memiliki daya hidup hanya sampai 10 hari setelah aklimatisasi (HSA)

Dari hasil penelitian ini dapat dihasilkan bahwa media dasar terbaik yang dapat digunakan untuk multiplikasi ubi kayu adalah media dasar MS. Penggunaan BAP tidak berpengaruh nyata untuk multiplikasi tunas. Belum optimalnya jumlah tunas yang dihasilkan disebabkan belum optimalnya konsentrasi BAP yang digunakan. Namun demikian ketegaran planlet semakin baik dengan meningkatnya konsentrasi BAP.

Judul : **INDUKSI MULTIPLIKASI TUNAS UBI KAYU (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. ADIRA 2 SECARA IN VITRO**
Nama : Ahmad Rifqi Fauzi
NRP : A24052752

Menyetujui
Dosen pembimbing

Dr. Ir. Nurul Khumaida, MSi.
NIP.19650719 199512 2 001

Mengetahui
Ketua Departemen Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian IPB

Dr. Ir. Agus Purwito, MSc.Agr.
NIP. 19611101 198703 1 003

Tanggal lulus :

INDUKSI MULTIPLIKASI TUNAS UBI KAYU
(*Mannihot esculenta* Crantz.) var. **ADIRA 2 SECARA *IN VITRO***

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Pertanian Pada Fakultas Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Ahmad Rifqi Fauzi
A24052752



DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

2010

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Pandeglang, Propinsi Banten, pada tanggal 27 Juli 1987. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Sabrawi (Alm.) dan Ibu Yoyoh Juhaeriah.

Riwayat pendidikan penulis dimulai tahun 1991 di TK Pertiwi Pandeglang. Penulis lulus dari TK Pertiwi Pandeglang tahun 1993, selanjutnya pada tahun yang sama penulis masuk SD Negeri Karaton III Pandeglang. Setelah lulus tahun 1999 penulis melanjutkan studi di MTs Negeri 1 Pandeglang sampai tahun 2002. Pada tahun 2005 penulis menyelesaikan studi di SMA Negeri 1 Pandeglang.

Tahun 2005 penulis diterima di IPB melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI). Tahun 2006 penulis diterima di Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian.

Selama di IPB penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Pembiakan Tanaman serta Tanaman Penyegar, Obat, dan Aromatik pada tahun 2009. Tahun 2005-2007 penulis aktif di Organisasi Mahasiswa Daerah Keluarga Mahasiswa Banten (KMB) dan pada tahun 2008 penulis menjadi staf Departemen Eksternal (Januari-Juni) dan Ketua Departemen Eksternal Ad-interim (Juli-Desember) pada Himpunan Mahasiswa Agronomi (Himagron) Faperta IPB.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi yang berjudul "**Induksi Multiplikasi Tunas Ubi Kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) Var. Adira 2 Secara *In Vitro***" disusun sebagai salah satu syarat kelulusan untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Nurul Khumaida, MSi. selaku dosen pembimbing yang telah banyak membimbing, mengarahkan, dan memberi masukan bagi penulis. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini, yaitu :

1. Dr. Ir. Suwarto, MSi dan Dr. Dewi Sukma, SP.MSi selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan untuk penulis
2. Bapak (Alm.), Mamah, serta kedua adik, De Iza dan Neng Hilda, yang telah memberikan doa, bimbingan, motivasi, semangat dan kasih sayang yang tak ternilai harganya kepada penulis.
3. Bu Juju dan Teh Iif yang telah memberi banyak bantuan serta pelajaran selama penelitian ini.
4. Keluarga Laboratorium Kultur Jaringan: Teh Arrin, Mba Yani, Bunda Arta, Mba Nofi, Eka, Rendi, Bu Ika atas bantuannya selama penelitian.
5. Kiki, Arie, Dito, Indra, Uli, Chandra, Bhaskoro, Irvan, Hafiz dan Ubay atas masukan dan bantuannya serta kebersamaannya selama ini.
6. Teman-teman seperjuangan AGH'42 atas kerjasama, bantuan, masukan, dan semangat yang telah diberikan selama ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua.

Bogor, Februari 2010

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| PENDAHULUAN | 1 |
| Latar Belakang | 1 |
| Tujuan..... | 5 |
| Hipotesis..... | 5 |
| TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| Botani Ubi Kayu (<i>Mannihot esculenta</i> Crantz)..... | 6 |
| Kultur Jaringan Tanaman | 8 |
| Organogenesis..... | 9 |
| <i>Kultur Mata Tunas (Single Node Culture) dan Multiplikasi.....</i> | 10 |
| Kultur Jaringan Ubi Kayu | 10 |
| Media Kultur Jaringan..... | 11 |
| Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) | 12 |
| Sitokinin | 13 |
| <i>6-Benzil Amino Purine (BAP).....</i> | 14 |
| BAHAN DAN METODE | 15 |
| Waktu dan Tempat | 15 |
| Bahan dan Alat | 15 |
| Metode..... | 15 |
| Pelaksanaan Percobaan..... | 16 |
| Perbanyakan stek | 16 |
| Sterilisasi peralatan..... | 16 |
| Pembuatan media..... | 17 |
| Sterilisasi permukaan eksplan dan kultur asenik | 17 |
| Penanaman eksplan | 18 |
| Pengamatan dan analisis data | 19 |
| HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 21 |
| Kondisi Umum | 21 |
| Tingkat Kontaminasi | 23 |
| Persentase Eksplan Bertunas , Eksplan berakar, dan Eksplan Berkalus . | 24 |

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| Jumlah Total Tunas per eksplan..... | 27 |
| Jumlah Daun Total Per Botol | 33 |
| Jumlah Buku Total Per Botol..... | 35 |
| Tinggi Tunas Tertinggi..... | 37 |
| Jumlah Akar per Eksplan | 39 |
| Auksin Endogen Kultur Ubi Kayu | 43 |
| Aklimatisasi..... | 44 |
| | |
| KESIMPULAN DAN SARAN..... | 48 |
| Kesimpulan..... | 48 |
| Saran..... | 48 |
| | |
| DAFTAR PUSTAKA | 49 |
| | |
| LAMPIRAN..... | 54 |

DAFTAR TABEL

| Nomor | Halaman |
|--|---------|
| 1. Komposisi Kandungan Kimia Ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 7 |
| 2. Rekapitulasi sidik ragam setelah transformasi..... | 22 |
| 3. Persentase Eksplan bertunas, eksplan berakar, dan eksplan berkalus kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada akhir pengamatan (8 MST)..... | 25 |
| 4. Jumlah Tunas Total Per Eksplan pada Kultur <i>In Vitro</i> Ubi Kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 27 |
| 5. Rataan waktu muncul tunas pertama kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2..... | 31 |
| 6. Pengaruh konsenrasি BAP terhadap pertumbuhan daun pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 34 |
| 7. Pengaruh media dasar terhadap pertumbuhan tinggi tunas tertinggi pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 37 |
| 8. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tinggi tunas pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 38 |
| 9. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap Jumlah akar per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 40 |
| 10. Rataan waktu munculnya akar pertama kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 42 |
| 11. Kondisi awal planlet <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) sebelum aklimatisasi | 45 |
| 12. Daya hidup planlet ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada saat aklimatisasi. | 45 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Halaman |
|--|---------|
| 1. Struktur kimia 6- <i>Benzil amino purine</i> (BAP) | 14 |
| 2. Persiapan bahan tanaman | 18 |
| 3. Bahan tanam ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2 | 19 |
| 4. Diagram Alur Penelitian | 20 |
| 5. Eksplan ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada kultur asenik | 21 |
| 6. Eksplan ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2 yang terkontaminasi..... | 24 |
| 7. Kalus ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) yang terbentuk pada 8 MST | 26 |
| 8. Morfologi akar ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada 8 MST | 26 |
| 9. Multiplikasi tunas ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2 | 28 |
| 10. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) per eksplan | 29 |
| 11. Pengaruh interaksi antara media dasar dan konsentrasi BAP terhadap Jumlah tunas total per eksplan kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i> Crantz) pada 8 MST | 30 |
| 12. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap morfologi tunas ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2 | 32 |
| 13. Pengaruh media dasar terhadap jumlah daun total pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 33 |
| 14. Pengguguran (senesen) dan penguningan daun kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada 8 MST | 35 |
| 15. Pengaruh media dasar terhadap jumlah buku total per tunas pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 36 |

| | |
|--|----|
| 16. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan jumlah buku total per tunas pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 36 |
| 17. Pengaruh media dasar terhadap Jumlah akar total per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 39 |
| 18. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah akar kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) per eksplan | 41 |
| 19. Pengaruh interaksi antara media dasar dan konsentrasi BAP terhadap Jumlah akar per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) pada 8 MST | 41 |
| 20. Kondisi awal planlet ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) saat aklimatisasi .. | 45 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | Halaman |
|--|---------|
| 1. Deskripsi ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) varietas Adira 2 | 55 |
| 2. Komposisi Media Murashige-Skoog (1962)..... | 56 |
| 3. Jumlah dan persentase kontaminasi kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 57 |
| 4. Jumlah dan persentase eksplan bertunas kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 58 |
| 5. Jumlah dan persentase eksplan berakar kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 59 |
| 6. Jumlah dan persentase eksplan berkalus kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 60 |
| 7. Perubahan warna kalus eksplan kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>) | 61 |
| 8. Sidik ragam korelasi antar peubah kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (<i>Mannihot esculenta</i>)..... | 62 |
| 9. Sidik ragam tunas kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (setelah transformasi)..... | 63 |
| 10. Sidik ragam jumlah daun total kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (setelah transformasi) | 64 |
| 11. Sidik ragam jumlah buku per tunas kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (setelah transformasi)..... | 65 |
| 12. Sidik ragam jumlah akar per eksplan kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (setelah transformasi)..... | 66 |
| 13. Sidik ragam tinggi tunas tertinggi kultur <i>in vitro</i> ubi kayu (setelah transformasi)..... | 66 |

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pangan merupakan sesuatu hal yang sangat vital bagi kehidupan manusia. Peningkatan ketahanan pangan merupakan tanggung jawab bersama antara masyarakat dan pemerintah. Salah satu upayanya adalah melalui penganekaragaman pangan, yakni suatu proses mengembangkan produk pangan yang tidak tergantung hanya pada satu bahan pangan saja, tetapi juga memanfaatkan berbagai macam bahan pangan (Suryana, 2009).

Melimpahnya ketersediaan bahan baku sumber pangan di Indonesia merupakan kekuatan dalam mempertahankan ketahanan pangan dalam negeri. Akan tetapi menurut Suryana (2009) pola konsumsi pangan penduduk Indonesia telah bergeser menjadi pola beras – terigu dengan kontribusi terigu yang semakin meningkat sejak tahun 2002. Hal ini disebabkan karena kebijakan pengembangan konsumsi pangan lebih terfokus pada beras. Akibatnya proses penggalian dan pemanfaatan potensi pangan lokal khususnya sumber pangan karbohidrat lain menjadi berkurang.

Berdasarkan Survei Sosial Ekonomi Nasional (2008), Badan Pusat Statistik, konsumsi padi-padian masyarakat Indonesia rata-rata 66.9 persen. Padahal angka ideal yang direkomendasikan para ahli gizi adalah 50 persen dan sisanya diisi oleh pangan lain seperti umbi-umbian dan jagung, karena kandungan nutrisi tertentunya lebih tinggi dibandingkan beras (Suryana, 2009). Konsumsi umbi-umbian secara nasional pada akhir tahun 2008 mencapai 51.7 g/kap/hari dari anjuran sebesar 100 g/kap/hari. Konsumsi umbi-umbian ini didominasi oleh ubi kayu. Sisanya terdiri dari ubi jalar, kentang, sagu, dan umbi lainnya (bps.go.id, 2008).

Ubi kayu menjadi salah satu sumber pangan penting bukan hanya di Indonesia tetapi juga di dunia. Lebih dari 500 juta penduduk dunia di negara-negara berkembang banyak menanam ubi kayu di lahan sempit sebagai sumber pangan (Roca *et al*,1992). Menurut Nweke *et al.* (2002), ubi kayu merupakan bahan pangan pokok terpenting kedua di Afrika, dimana banyak petani

berpenghasilan rendah menanam ubi kayu ini di lahan marjinal dengan biaya murah dan dapat menghidupi lebih dari 300 juta orang di daerah tersebut. Singkong (ubikayu) merupakan tanaman pangan non beras yang memiliki kandungan gizi yang baik. Kandungan karbohidrat ubi kayu sebesar 34.7 gram/100g dan mengandung protein 1.2 gram/100g (Soetanto, 2008).

Menurut Suwarto (2009), di Indonesia telah banyak klon-klon unggul ubi kayu yang telah dilepas. Diantaranya adalah Adira 1, Adira 2, Adira 4, Malang-1, Malang-2, dan Darul Hidayah. Dari tanaman ubi kayu ini dapat dihasilkan berbagai produk baik sebagai bahan pangan, industri, maupun pakan. Salah satu produk olahan tersebut adalah tepung *cassava* yang dihasilkan dari pengolahan umbi ubi kayu.

Dewasa ini, ubi kayu tidak hanya digunakan sebagai bahan baku industri pangan, tetapi juga sudah banyak digunakan sebagai sumber energi alternatif berbahan nabati (bioenergi). Industri ini berpotensi untuk berkembang sangat baik terutama setelah negara-negara maju mulai mengaplikasikan bioenergi sebagai sumber energi alternatif selain sebagai bahan baku industri dalam bentuk alkohol (Night Elf, 2008). Di Indonesia, salah satu alasan pemilihan ubi kayu sebagai komoditas utama penghasil bahan bakar nabati salah satunya adalah untuk menjaga kestabilan harga ubi kayu (Prihardana *et al.*, 2007). Ubi kayu juga dijadikan sumber pakan nabati oleh para peternak seperti parutan ubi kayu mentah yang digunakan untuk pakan ayam buras di DKI Jakarta (Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian, 1996).

Menurut Suryana (2009), permasalahan utama yang dihadapi dalam pengembangan agroindustri pangan non-beras seperti ubikayu salah satu diantaranya adalah ketersediaan bahan baku pangan lokal yang tidak kontinyu sehingga tidak dapat menjamin keberlanjutan industri pengolahannya seperti pengolahan menjadi tepung *cassava*. Dengan semakin berkembangnya industri pengolahan ubi kayu sekarang ini, menuntut penyediaan bahan baku ubi kayu dalam jumlah yang besar dan memenuhi kualitas yang ditetapkan. Sehingga para petani sebagai produsen bahan baku industri membutuhkan banyak bibit yang berkualitas untuk dapat memenuhi permintaan industri.

Strategi untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan menggunakan teknologi modern yang dapat menunjang ketersediaan dan kontinuitas produksinya. Pembudidayaan ubi kayu melalui teknik *in vitro* memberikan peluang untuk melakukan perbanyak secara massal. Keberhasilan perbanyak secara *in vitro* ini akan bermanfaat untuk menunjang kegiatan penelitian perbaikan tanaman. Selain itu juga bermanfaat bagi penyediaan bibit tanaman untuk para petani ubi kayu dan pengusaha perbanyak tanaman.

Beberapa sifat umbi ubi kayu yang tidak menguntungkan adalah kandungan nutrisi yang rendah dibandingkan dengan umbi akar atau batang lainnya, kandungan sianida yang beracun, dan umur penyimpanan umbi yang sebentar menyebabkan ubi kayu sulit berkembang. Selain secara alami penyerbukan silang ubi kayu sangat sulit, maka perbaikan sifat menggunakan metode konvensional akan sangat membutuhkan waktu lama (Sudarmonowati *et al*, 2002).

Adanya hama dan penyakit, seperti virus ubi kayu yang sering disebut *Cassava Mosaic virus* (CMV), yang sering menyerang ubi kayu ini merupakan ancaman yang dapat menurunkan tingkat produksi ubi kayu. Meskipun masalah ini belum menjadi masalah serius di Indonesia, hal ini tentu saja perlu diwaspadai petani ubi kayu. Meskipun dengan teknologi konvensional telah mampu menciptakan varietas unggul berproduksi tinggi, namun teknologi ini belum mampu untuk menghasilkan varietas yang tahan terhadap hama dan penyakit. Dengan teknologi *in vitro*, tidak hanya permasalahan tersebut yang dapat teratasi, juga melengkapi teknologi konvensional yang sudah ada.

Kultur jaringan merupakan metode mengisolasi tanaman pada media aseptik untuk kemudian ditumbuhkan menjadi tanaman lengkap yang sama dengan induknya dan selanjutnya dapat ditanam di lingkungan yang autotrof. Hampir semua tanaman dapat diperbanyak dengan kultur jaringan yang dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu singkat. Bahan tanaman yang digunakan untuk kultur jaringan berukuran lebih kecil dan tidak banyak bila dibandingkan dengan perbanyak secara konvensional (Gunawan, 1988).

Penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh dalam teknologi *in vitro* sangatlah penting. Media dasar sebagai tempat tumbuhnya tanaman, harus sesuai dengan karakteristik eksplan yang akan ditanam. Terdapat beberapa macam jenis media dasar yang digunakan dalam teknologi *in vitro*, salah satunya adalah media dasar Murashige dan Skoog (1962). Menurut Gamborg dan Phillips (1995) media Murashige dan Skoog (MS) merupakan media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan dan untuk regenerasi hampir seluruh jenis tanaman. Kelebihan dari media MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan ammonium yang lebih tinggi.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah ($< 1 \mu\text{M}$) dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan (Wattimena, 1989). ZPT yang sering ditambahkan pada media adalah auksin dan sitokin. ZPT golongan auksin dapat meginisiasi akar dan memacu perkembangan akar cabang pada kultur jaringan (Davies, 2004) sedangkan ZPT golongan sitokin dapat memecah dormansi sel dan mempunyai peranan dalam morfogenesis dan pembelahan sel (Hartmann dan Kester , 1983) serta menstimulasi pembentukan tunas (Gaba, 2005).

Menurut Wattimena (1988) sitokin yang sering dipakai dalam perbanyak *in vitro* tanaman adalah BAP. Hal ini dikarenakan BAP lebih stabil, tidak mahal, mudah tersedia, bisa disterilisasi, dan efektif. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa keseimbangan konsentrasi yang tepat antara sitokin dan auksin akan memperbaiki penggandaan tunas.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan komposisi media kultur yang optimum untuk pertumbuhan dan perbanyakkan planlet ubi kayu varietas Adira 2.
2. Mempelajari pengaruh perlakuan BAP pada beberapa taraf konsentrasi terhadap pertumbuhan dan perbanyakkan planlet ubi kayu varietas Adira 2.
3. Mempelajari daya hidup planlet ubi kayu varietas Adira 2 pada tahap aklimatisasi.

Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Terdapat salah satu komposisi media kultur yang optimum untuk pertumbuhan dan perbanyakkan planlet ubi kayu varietas Adira 2.
2. Terdapat taraf konsentrasi BAP yang terbaik untuk pertumbuhan dan perbanyakkan planlet ubi kayu varietas Adira 2.
3. Terdapat planlet ubi kayu yang memiliki daya hidup terlama pada tahap aklimatisasi.

TINJAUAN PUSTAKA

Botani Ubi Kayu (*Mannihot esculenta* Crantz)

Ubi kayu merupakan tanaman perdu yang berasal dari Benua Amerika, tepatnya Brasil (Lingga dkk., 1986 serta Purwono dan Purnamawati, 2007) Ubi kayu, yang juga dikenal sebagai ketela pohon atau singkong, dalam bahasa Inggris bernama *cassava*, adalah pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Euphorbiaceae*. Umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran.

Daun ubi kayu tumbuh di sepanjang batang dengan tangkai yang panjang. Daunnya mudah gugur dan yang berdaun biasanya adalah batang bagian atas dekat pucuk. Ubi kayu berbuah tetapi terbatas pada tanaman yang ditanam di dataran tinggi. Bunganya berumah satu dan kematangan bunga jantan dan bunga betina berbeda waktunya sehingga penyerbukan berlangsung dengan persilangan (Lingga dkk., 1986).

Umbi ubi kayu merupakan umbi atau akar pohon yang panjang dengan fisik rata-rata bergaris tengah 2-3 cm dan panjang 50-80 cm, tergantung dari jenis ubi kayu yang ditanam. Umbi ubi kayu berasal dari pembesaran sekunder akar adventif (Purwono dan Purnamawati, 2007). Umbi ubi kayu tidak tahan simpan meskipun ditempatkan di lemari pendingin. Gejala kerusakan ditandai dengan keluarnya warna biru gelap akibat terbentuknya asam sianida yang bersifat racun bagi manusia. Namun, umbi ubi kayu merupakan sumber energi yang kaya karbohidrat namun sangat miskin protein.

Lingga dkk., (1986) menyatakan bahwa ubi kayu, mulai dari umbi, batang, dan daun umumnya mengandung racun asam sianida (HCN). Bagian yang banyak mengandung HCN adalah kulit umbi. Racun umbi ubi kayu dapat dibedakan menjadi 4 golongan, yaitu:

1. Kadar racun ≤ 50 mg/kg umbi. Ubi kayu ini layak dikonsumsi.
2. Kadar racun 50-80 mg/kg umbi
3. Kadar racun 80-100 mg/kg umbi
4. Kadar racun ≥ 100 mg/kg umbi.

Ubi kayu pada umumnya ditanam di daerah-daerah berlahan kering dengan sistem pengairan tahan hujan. Para petani umumnya menanam ubi kayu di lahan tegalan atau pekarangan rumah pada awal musim atau di akhir musim hujan (Soetanto, 2008).

Berdasarkan pada hasil survei dan analisa pasar, kebutuhan berbagai jenis industri yang memanfaatkan ubi kayu sebagai bahan baku sangat besar karena ubi kayu dapat menghasilkan hingga 14 macam produk turunan yang digunakan oleh industri makanan, industri farmasi, industri kimia, industri bahan bangunan, industri kertas dan Industri biofuel, sedangkan dari segi teknologi pemanfaatan ubi kayu sebagai bahan pangan ataupun sebagai bahan bakar bukanlah sebuah teknologi baru apalagi teknologi yang tidak terjangkau bagi bangsa kita (Night Elf, 2009). Berikut adalah komposisi kandungan kimia ubi kayu per 100 gram (Soetanto, 2008) :

Tabel 1. Komposisi Kandungan Kimia Ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| No | Komposisi | Jumlah |
|----|--------------|-------------|
| 1 | Kalori | 146.000 kal |
| 2 | Protein | 1.200 g |
| 3 | Lemak | 0.300 g |
| 4 | Karbohidrat | 34.700 g |
| 5 | Kalsium (Ca) | 33.000 mg |
| 6 | Fosfor (P) | 40.000 mg |
| 7 | Besi (Fe) | 0.700 mg |
| 8 | Vitamin B1 | 0.006 mg |
| 9 | Vitamin C | 30.000 mg |
| 10 | Air | 62.500 g |

Teknik pengolahan ubi kayu yang sangat sederhana bahkan sudah dikenal sejak zaman nenek moyang kita, bahkan untuk pengolahan ethanol telah terbukti dengan adanya berbagai makanan dan minuman khas seperti brem, tuak, arak dan berbagai macam olahan yang mengandung alkohol pada minuman tersebut

sebagai hasil dari proses fermentasi dan atau destilasi. Di Indonesia, saat ini umbi ubi kayu mulai digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula dan ethanol dengan produktivitas 2 000 - 7 000 liter ethanol per ha (Purwono dan Purnamawati, 2007).

Varietas ubi kayu sudah tersebar luas di masyarakat pada masa sekarang ini. Varietas tersebut merupakan varietas lokal maupun varietas unggulan nasional. Berdasarkan laporan tahunan Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi), Malang tahun 2000 menyebutkan bahwa telah diperoleh 28 kombinasi persilangan dan 3 kombinasi silang bebas klon-klon ubi kayu dalam rangka pembentukan varietas unggul ubi kayu yang rendah HCN dan toleran terhadap serangan hama tungau merah. Varietas unggul ubi kayu yang saat ini banyak ditanam dikalangan masyarakat diantaranya adalah: Adira 1, Adira 2, Adira 4, Darul Hidayah, Malang 1, Malang 2, Malang 4, Malang 6, UJ-3, dan UJ-5 (Purwono dan Purnamawati, 2007).

Kultur Jaringan Tanaman

Tanaman merupakan suatu organisme multiseluler yang kompleks dengan organ-organ yang mempunyai fungsi masing-masing. Adanya perkembangan dalam bidang fisiologi yang menyebutkan bahwa setiap bagian tanaman dapat beregenerasi menjadi tanaman baru. Hal inilah yang disebut dengan teori totipotensi yaitu setiap sel dari seluruh bagian tanaman dapat tumbuh menjadi tanaman sempurna apabila ditumbuhkan pada lingkungan yang sesuai (George and Sherrington, 1984).

Menurut Gunawan (1992), teknik bagaimana mengisolasi bagian-bagian tanaman (sel, protoplasma, tepung sari, ovarii, dan sebagainya), ditumbuhkan secara tersendiri, dipacu untuk memperbanyak diri, akhirnya diregenerasikan kembali menjadi tanaman lengkap dalam suatu lingkungan yang aseptik dan terkendali, dikenal dengan teknik kultur jaringan (*Tissue culture*).

Perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan memiliki banyak kelebihan diantaranya adalah perbanyakan dapat dilakukan setiap saat tanpa tergantung musim serta dapat menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu singkat. Menurut Gunawan (1988) hampir semua tanaman dapat diperbanyak

dengan kultur jaringan, dan dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu singkat. Bahan tanaman yang digunakan untuk kultur jaringan berukuran lebih kecil dan tidak banyak bila dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional.

Menurut Armini *et al.* (1992) teknik kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan yaitu dapat diperbanyak setiap saat tanpa mengenal musim karena dilakukan di ruang tertutup, daya multiplikasinya tinggi dari bahan tanaman yang kecil, tanaman yang dihasilkan seragam, dan bebas penyakit. Berkembangnya teknik kultur jaringan saat sekarang ini, kendala dalam multiplikasi tanaman dapat teratasi. Sehingga tujuan awal teknik kultur jaringan yang ingin membuktikan kebenaran teori totipotensi, sekarang berkembang untuk penelitian fisiologi tanaman dan biokimia.

Organogenesis

Organogenesis merupakan proses pembentukan organ seperti embrio, daun, tunas dan akar dari eksplan non tunas (Lestari, 2008). Menurut Zulkarnain (2009), organogenesis berkaitan dengan proses bagaimana tunas dan atau akar adventif berkembang dari masa kalus. Pembentukan organ dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Pembentukan organ secara langsung dapat melalui bagian jaringan seperti daun, batang, akar, dan potongan umbi atau biji yang akan membentuk tunas adventif. Hartman *et al.* (1983) menyatakan bahwa induksi tunas adventif, termasuk inisiasi perkembangan tunas adventif dari eksplan maupun dari kalus sebagai akibat adanya pelukaan dan perlakuan zat pengatur tumbuh.

Kartha (1982) menjelaskan bahwa berhasilnya pertumbuhan tunas terutama bergantung pada sumber jaringan, kadar medium hara, dan jenis serta kadar hormon pertumbuhan yang digunakan. Pada tanaman berkayu dengan daun lebar, jaringan terbaik berasal dari daerah ruas yang belum dewasa.

Lestari (2008) menyatakan bahwa pada pembentukan organ secara tidak langsung, eksplan akan tumbuh menjadi kalus meristematik terlebih dahulu sebelum membentuk tunas. Eksplan tunas atau meristem yang mengandung sel-sel yang sedang aktif membelah diri secara mitosis, memperlihatkan laju keberhasilan

yang tinggi untuk inisiasi kalus yang dilanjutkan dengan regenerasi planlet (Flick *et al.*, 1983).

Kultur Mata Tunas (Single Node Culture) dan Multiplikasi

Kultur mata tunas merupakan salah satu cara dalam perbanyakan secara *in vitro* dengan menggunakan mata tunas aksilar sebagai eksplan. Menurut Armini *et al.* (1992) teknik kultur mata tunas ini digunakan apabila ada pengaruh apikal dominan pada kultur pucuk sehingga pucuk aksilar menjadi dorman. Terdapat dua cara yang dapat digunakan dalam kultur mata tunas ini, yaitu:

1. Buku yang mengandung satu mata tunas aksilar ditempatkan horizontal di atas media padat.
2. Pucuk yang mengandung mata tunas lateral semuanya dikulturkan horizontal di atas media tanpa dipotong-potong (*in vitro* layering).

Multiplikasi tunas atau penggandaan tunas adalah perbanyakan eksplan yang berasal dari inisiasi kultur mata tunas ataupun kultur kalus dimana eksplan dapat ditanam pada media yang sama tanpa melalui pemindahan ke media baru. Tahap multiplikasi ini juga merupakan tahap pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar yang tumbuh dari mata tunas adventif secara bersama-sama (Armini *et al.*, 1992).

Sub kultur adalah pemindahan kultur ke media yang baru, baik yang sama maupun berbeda komposisi kimianya. Sub kultur merupakan kebutuhan untuk memperbanyak tanaman dan mempertahankan kultur (George dan Sherrington, 1984). Sub kultur diperlukan bila unsur hara dan hormon dalam media telah berkurang atau habis untuk merubah pola pertumbuhan dan perkembangan kultur dan bila kultur telah memenuhi wadah atau botol (Pierik, 1987).

Kultur Jaringan Ubi Kayu

Penelitian perbaikan tanaman melalui kultur jaringan ubi kayu telah banyak dilakukan di luar negeri seperti penelitian Onuoch dan Onwubiku (2007), pertumbuhan varietas ubi kayu terbaik pada parameter yang diamati (tinggi, jumlah daun, dan jumlah buku) terdapat pada perlakuan tanpa pemberian BAP (BAP 0 ppm) untuk varietas TMS 98/0379 dan TMS 98/0581.

Penelitian Medina *et al* (2006) terhadap 29 klon ubi kayu (*Mannihot esculenta*) menyatakan bahwa penambahan auksin dan sitokinin berpengaruh sangat nyata terhadap regenerasi akar tanaman ubi kayu. Media MS dengan dengan 5% gula ditambah 0.54 μ m NAA dan 0.44 μ m BAP merupakan media yang paling efektif dalam merangsang pertumbuhan tanaman yang berasal dari akar. Regenerasi akar dipengaruhi oleh letak akar primer dan pengaruh dari hormone/ZPT.

Perbanyak tanaman ubi kayu secara kultur jaringan melalui multiplikasi tunas relatif lebih cepat dibandingkan dengan induksi kalus embriogenik yang masih memerlukan penyempurnaan prosedur. Induksi kalus embriogenik pada ubi kayu genotipe Indonesia sudah pernah dilakukan (Sudarmonowati,1994), namun prosedur ini masih dipengaruhi banyak faktor terutama genotip.

Media Kultur Jaringan

Media tumbuh dalam kultur jaringan merupakan salah satu faktor yang penting dalam keberhasilan perbanyak secara *in vitro*. Media kultur jaringan merupakan media yang aseptik dan bersifat heterotrof karena menyediakan berbagai unsur hara dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan eksplan. Unsur hara yang ditambahkan ke dalam media diantaranya adalah unsur hara makro, mikro, vitamin, serta karbohidrat berupa gula sebagai sumber karbon yang penting untuk metabolisme sel. Pengertian nutrisi media meliputi garam-garam anorganik, sumber karbon, vitamin, dan hormone pertumbuhan (Gamborg and Phillips, 1995).

Menurut Wetter dan Constabel (1982) Komposisi media hara untuk kultur jaringan tanaman mengandung 5 kelompok senyawa yaitu garam organik, sumber karbon, vitamin, pengatur tumbuh, dan pelengkap organik. Banyak media dasar yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan. Beberapa media dasar tersebut diantaranya adalah media dasar Murashige and Skoog, White, Vacin and Went, WPM, B5, dan Nitsch and Nitsch (Gunawan, 1988). Media yang paling umum digunakan adalah media Murashige dan Skoog. Menurut Gamborg and Phillips (1995), media Murashige and Skoog (MS) atau Linsmaier and Skoog

(LS) sebagian besar menggunakan komposisi garam, khususnya dalam meregenerasikan tanaman.

Dalam medium kultur jaringan sering digunakan senyawa organik sebagai sumber vitamin, zat pengatur tumbuh, atau asam amino yang berharga murah jika dibandingkan dengan harga bahan sintetiknya. Contohnya : air kelapa, ekstrak buah pisang, tomat dan lain-lain. Ekstrak dari buah-buahan ini mempunyai kelemahan karena konsentrasi vitamin, mineral, dan zat pengatur tumbuh yang dikandungnya sangat bervariasi tergantung pada dimana tanaman itu tumbuh, cara budidayanya, varietas tanaman, dan umur buah.

Menurut Beyl (2005) media kultur jaringan meliputi 95% air, hara makro dan mikro, zat-zat pengatur tumbuh, vitamin, gula (karena tanaman *in vitro* umumnya tidak mampu berfotosintesis), dan terkadang menggunakan bahan-bahan organik baik yang sederhana sampai yang komplek. Dan semuanya terdiri sekitar 20 komponen berbeda yang biasa digunakan dalam media.

Disamping itu media kultur jaringan sering ditambahkan senyawa lain untuk tujuan tertentu seperti arang aktif, PVP (Poly vinyl pyrrolidon) yang digunakan sebagai pengabsorpsi senyawa fenolik yang dapat bersifat toksik bagi sel tanaman. Senyawa ini umumnya dihasilkan oleh tanaman berkayu dan dikeluarkan ke medium bila jaringan tanaman tersebut ditumbuhkan. Senyawa pengabsorpsi ini sering kali juga mengabsorpsi zat pengatur tumbuh yang ada pada media sehingga tidak tersedia bagi jaringan.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah ($< 1 \mu\text{M}$) dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan (Wattimena, 1989). Menurut Widyastuti *dkk.* (2001) konsep zat pengatur tumbuh diawali dengan konsep hormon tanaman. Hormon tanaman adalah senyawa-senyawa organik tanaman yang dalam konsentrasi yang rendah mempengaruhi proses-proses fisiologis, seperti pertumbuhan, diferensiasi dan perkembangan tanaman. Proses-proses lain seperti pengenalan tanaman, pembukaan stomata, translokasi dan serapan hara dipengaruhi oleh hormon tanaman. Hormon tanaman kadang-kadang

juga disebut fitohormon. Dengan ditemukannya zat pengatur tumbuh yang dapat merangsang pertumbuhan vegetatif, maka penggunaan ZPT sangat penting pada media tanam kultur jaringan.

Ahli biologi tanaman telah membagi ZPT ke dalam 5 tipe utama yaitu auksin, sitokinin, giberelin, asam absisat, dan etilen. Setiap tipe ZPT mempunyai pengaruh masing-masing terhadap tanaman. Kelima tipe tersebut mempunyai kesamaan yaitu mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Pengaruh dari suatu ZPT bergantung pada spesies tumbuhan, tahap perkembangan tumbuhan dan konsentrasi ZPT. Satu hormon tidak bekerja sendiri dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan, pada umumnya keseimbangan konsentrasi dari beberapa ZPT-lah yang akan mengontrol pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan.

Pengaruh penambahan ZPT pada media kultur sangatlah penting. Akan tetapi ZPT yang sering ditambahkan pada media adalah auksin dan sitokinin. Menurut Hartmann dan Kester (1983) auksin dan sitokinin berpengaruh dalam pembentukan akar, tunas, dan kalus. Auksin berperan dalam mendorong pemanjangan kuncup yang sedang berkembang. Selain itu auksin juga berperan dalam pemanjangan batang, pertumbuhan, diferensiasi, dan percabangan akar. Jenis auksin yang sering digunakan adalah IAA (*Indolasetic acid*) yang dihasilkan secara alami oleh tanaman.

Sitokinin

Sitokinin adalah kelompok senyawa organik yang menyebabkan pembelahan sel yang dikenal dengan proses sitokinesis (Armini *et al.*, 1992). Menurut Arteca (1996), sitokinin di substitusi komponen-komponen adenine yang meningkatkan pembelahan sel dan fungsi pertumbuhan lainnya yang prosesnya sama seperti kinetin (6-furfurylyaminopurine). Kinetin adalah N⁶ furfuril adenine suatu turunan dari basa adenine (Wattimena, 1988).

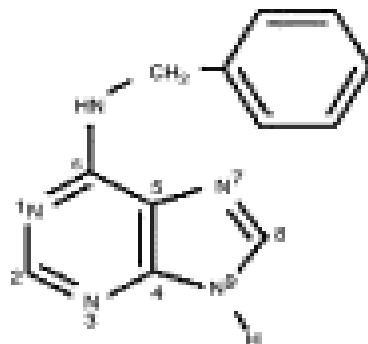
Sitokinin mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi akar serta mendorong perkecambahan. Menurut Hartmann dan Kester (1983) sitokinin digunakan untuk merangsang pembentukan tunas dan memecah dormansi sel dan mempunyai peranan dalam morfogenesis dan pembelahan sel. Akan tetapi proses-proses pembelahan sel pada sel-sel meristem akan dihambat oleh pemberian

sitokinin eksogen tergantung dari adanya fitohormon lainnya, terutama auksin (Wattimena, 1988). Jenis sitokinin yang sering digunakan adalah BAP (*6-Benzil Amino Purine*).

Peranan sitokinin sering dipengaruhi oleh keberadaan auksin. Peran keduanya sangat penting dalam pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu, kombinasi keduanya, terutama IAA dan BAP, sering ditambahkan pada media kultur jaringan untuk merangsang pembelahan sel dan pemanjangan sel. Sebagian besar tanaman memiliki pola tanaman yang kompleks yaitu tunas lateralnya tumbuh bersamaan dengan tunas terminalnya. Pola pertumbuhan ini merupakan hasil interaksi antara auksin dan sitokinin dengan perbandingan tertentu.

6-Benzil Amino Purine (BAP)

BAP merupakan sitokinin sintetik turunan adenine yang disubtitusi pada posisi 6 yang strukturnya serupa dengan kinetin (Wattimena, 1998). Sitokinin ini sangat aktif dalam mendorong pertumbuhan kalus tembakau. Bentuk isomer 1-bensil adenine mempunyai aktivitas kimia yang rendah. Untuk dapat aktif harus dirubah menjadi 6-bensil adenine. Struktur kimia dari *6-benzil amino purine* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia *6-Benzil amino purine* (BAP)

Menurut Pierik (1987) ZPT golongan sitokinin dan auksin dalam keseimbangannya merupakan kunci keberhasilan penggunaan teknik kultur jaringan. Berdasarkan penelitian Maryani dan Zamroni (2005) menunjukkan bahwa kombinasi BAP 1 ppm dan IAA 1 ppm memberikan penggandaan tunas terbanyak pada krisan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB. Penelitian dimulai pada bulan Juni – November 2009.

Bahan dan Alat

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas samping (1 buku) dari kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2 (deskripsi disajikan pada Lampiran 1). Posisi mata tunas yang digunakan adalah mata tunas nomor 2-4 dari pucuk dikarenakan bagian tersebut lebih cepat dalam pembentukan tunas baru. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog) dan media $\frac{1}{2}$ MS (makro dan mikro). Komposisi media dasar MS dan $\frac{1}{2}$ MS disajikan pada Lampiran 2. Zat pengatur tumbuh yang menjadi perlakuan penelitian ini adalah BAP (*6-Benzil Amino Purin*). Bahan lain yang digunakan meliputi gelrite, alkohol 70% dan 96%, spirtus, betadine.

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat standar untuk kultur jaringan. Alat-alat tersebut meliputi alat tanam, botol tanam, gelas erlenmeyer, gelas ukur, pipet, neraca, pH-meter, autoklaf, lup, oven, *laminar air flow cabinet (LAFC)*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, lampu spirtus (bunzen), kamera, *petri dish* serta alat-alat lainnya.

Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan menggunakan dua faktor. Faktor pertama adalah komposisi media dasar yang terdiri dari dua taraf yaitu media MS (M1) dan $\frac{1}{2}$ MS (M2). Faktor kedua adalah konsentrasi BAP dengan 5 taraf, yaitu 0 ppm BAP (B0), 0.5 ppm BAP (B1), 1 ppm BAP (B2), 1.5 ppm BAP (B3), 3 ppm BAP (B4). Sebagai kontrol digunakan MS0.

Kombinasi perlakuan terdiri atas 11 unit dengan 9 ulangan setiap unitnya. Setiap ulangan terdiri dari satu eksplan setiap botol. Sehingga jumlah unit

percobaannya sebanyak 99 unit percobaan. Model linear dari percobaan ini adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} = Nilai pengamatan faktor komposisi Media dasar taraf ke-i dan faktor konsentrasi BAP taraf ke-j
- μ = Rataan umum
- α_i = Pengaruh perlakuan komposisi media dasar taraf ke-i
- β_j = Pengaruh konsentrasi BAP taraf ke-j
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara perlakuan komposisi media dasar taraf ke-i dengan konsentrasi BAP taraf ke-j
- ϵ_{ij} = Galat percobaan

Apabila hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata pada taraf 5%, pengujian dilanjutkan dengan uji lanjut Uji Wilayah Berganda Duncan (DMRT).

Pelaksanaan Percobaan

Perbanyakkan stek

Penelitian ini di awali dengan perbanyakkan stek di lapang yang tujuannya untuk mendapatkan jumlah eksplan (bahan tanam) yang banyak. Perbanyakkan yang dilakukan adalah dengan setek batang. Bahan tanam diperoleh dari Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika (BB Biogen), Cimanggu, Bogor. Bahan tanam ini selanjutnya ditanam di polybag dengan komposisi media tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1.

Sterilisasi peralatan

Kegiatan yang dilakukan di lab yaitu mensterilkan botol tanam, pinset, petridish, gunting, dan gagang scalpel. Alat-alat yang telah dicuci bersih dengan sabun cair, dimasukkan ke dalam autoklaf. Botol diletakkan dalam posisi terbalik dan alat-alat lain seperti petridish, pinset, gunting, dan gagang scalpel dibungkus terlebih dulu oleh kertas. Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan autoklaf selama 1 jam pada suhu 121^0C dengan tekanan 17.5 psi. Alat-alat yang telah disterilisasi disimpan dalam oven pada suhu 50^0C .

Pembuatan media

Media prekondisi yang digunakan adalah media dasar MS0. Untuk membuat 1 L media prekondisi diperlukan agar-agar komersial sebanyak 7 g, gula 30 g dan larutan stok. Seluruh bahan dicampur dan ditera dengan menambahkan aquades sampai diperoleh 1 L media kemudian diukur pH-nya antara 5.8-6.0. Media yang telah jadi dimasak sampai agar-agar larut kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml. selanjutnya media disterilisasi di autoklaf selama 15 menit.

Media dasar perlakuan untuk penelitian ini menggunakan media dasar MS dan $\frac{1}{2}$ MS. Ke dalam media dasar tersebut ditambahkan BAP sesuai konsentrasi perlakuan dan NAA 0.2 ppm. Untuk membuat 1 L media dasar MS diperlukan 20 ml larutan stok A dan B; 5 ml larutan stok C, D, dan E; 10 ml larutan stok F, Vitamin, dan myo; 2 g gelrite; 30 g gula. Untuk perlakuan ditambahkan BAP sesuai konsentrasi perlakuan. Semua larutan stok dicampurkan untuk selanjutnya ditera dengan menambahkan aquades sampai diperoleh 1 L media. pH media diukur dengan kertas pH antara 5.8-6.0 dengan menambahkan HCl atau KOH. Media yang telah jadi dimasak sampai agar-agar larut dan kemudian dituangkan ke dalam botol kultur steril sebanyak 20 ml setiap botol. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17.5 psi selama 15 menit. Media yang telah steril disimpan di ruang kultur pada suhu 20°C .

Pembuatan media $\frac{1}{2}$ MS diperlukan larutan stok makro dan mikro masing-masing sebanyak 25 ml dan 2.5 ml untuk 1 L media. Selanjutnya ditambahkan BAP sesuai konsentrasi serta ditambahkan gula dan agar-agar gelrite sebagai pemanjat. Selanjutnya media tersebut diukur pH-nya menggunakan kertas pH antara 5.8-6.0 dengan menambahkan HCl atau KOH. Media dimasak hingga mendidih dan setelah itu dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml setiap botol. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 17.5 psi kemudian disimpan di ruang penyimpanan media.

Sterilisasi permukaan eksplan dan kultur asenik

Pucuk atau tunas samping yang berasal dari lapang dibersihkan di bawah air mengalir selama 30 menit. Sterilisasi eksplan menggunakan bahan yang

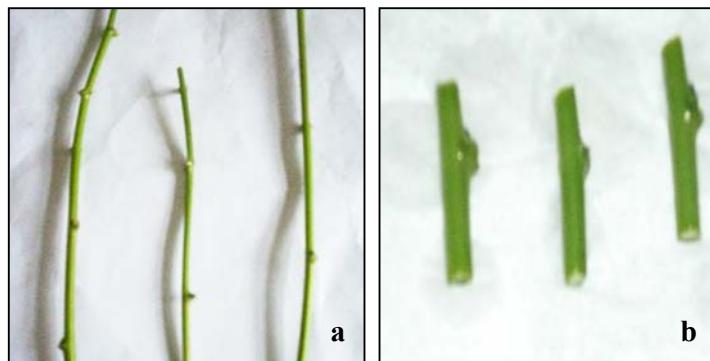
mengandung tween dengan cara disikat kemudian dibersihkan kembali di bawah air mengalir selama 30 menit. Eksplan yg telah bersih dibawa ke laminar. Di dalam laminar, eksplan di rendam dalam alkohol 70% selama 1 menit, bilas dengan air steril. Prosedur ini sesuai dengan keterangan Chwla (2002) yang menyatakan bahwa salah satu teknik sterilisasi untuk eksplan tunas adalah dengan merendam eksplan dalam alkohol 70% selama 30 detik sampai 2 menit. Prosedur tersebut dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF). Eksplan kemudian di tempatkan di petridish untuk selanjutnya di teteskan betadine. Biarkan selama 5 menit lalu tanam ke media pre kondisi. Tunas yang telah disterilisasi ditanam pada media pre kondisi (MS0), 3-4 eksplan per botol. Kegiatan ini dinamakan kultur asenik yang tujuannya adalah untuk mendapatkan eksplan yang steril sebelum dipindahkan ke perlakuan. Selain itu, kultur asenik ditujukan juga untuk menginisiasi pembentukan tunas baru yang akan digunakan untuk perlakuan. Persiapan bahan tanam disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Persiapan bahan tanaman (a) ubi kayu di lapang.
 (b) Sterilisasi permukaan eksplan dari lapang dengan menggunakan *Tween*

Penanaman eksplan

Eksplan berupa tunas satu buku dikultur terlebih dahulu pada media prekondisi yaitu media kultur yang terdiri dari gula dan agar selama 20 hari. Eksplan yang telah steril selanjutnya disubkultur ke media perlakuan. Setiap botol media perlakuan berisi 1 eksplan berukuran 1-2cm dengan satu mata tunas (Gambar 3). Eksplan yang telah ditanam, selanjutnya diinkubasikan di dalam ruang kultur dengan penyinaran cahaya selama 24 jam dan suhu 21⁰ C.



Gambar 3. Bahan tanam ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2 (a) Tunas sebelum disterilisasi. (b) Tunas satu buku yang siap ditanam di perlakuan

Pengamatan dan analisis data

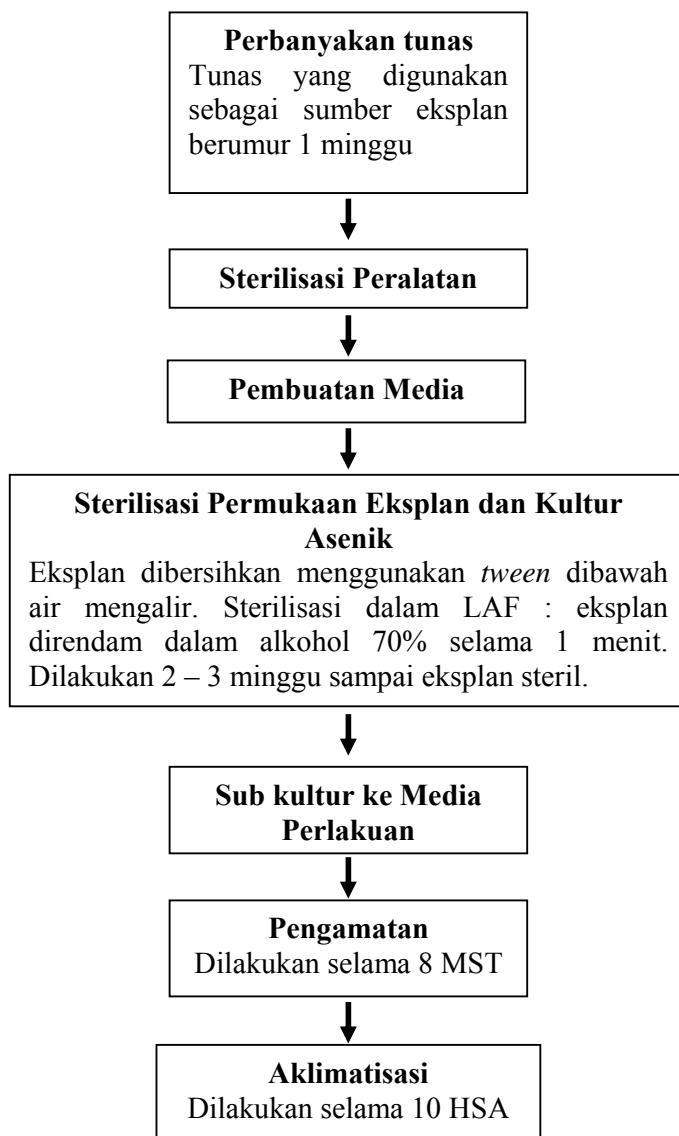
Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali. Data hasil pengamatan selanjutnya diolah dan dianalisis untuk kemudian dituangkan dalam penulisan skripsi.

Terdapat beberapa peubah yang diamati dalam penelitian ini. Peubah-peubah tersebut diantaranya adalah :

1. Waktu terbentuknya tunas, ditentukan pada saat muncul tunas pertama (HST)
2. Jumlah dan persen (%) kultur terkontaminasi
3. Jumlah dan persen (%) eksplan bertunas
4. Jumlah tunas total yang muncul
5. Jumlah dan persen (%) eksplan berkalus
6. Struktur dan warna kalus
7. Jumlah daun total
8. Waktu terbentuknya akar, ditentukan saat munculnya akar (HST)
9. Jumlah dan persen (%) eksplan berakar
10. Jumlah akar per eksplan
11. Jumlah buku total
12. Tinggi tunas tertinggi (cm)
13. Keragaan tunas atau planlet

14. Jumlah dan persentase (%) planlet hidup pada saat aklimatisasi

Peubah-peubah diatas diamati mulai pada minggu pertama setelah tanam (1 MST) dan dilakukan setiap seminggu sekali. Hasil pengamatan tersebut kemudian diolah dan dianalisis dengan uji anova pada taraf 5% dan dilanjutkan uji lanjut dengan uji berganda (DMRT) untuk selanjutnya ditulis ke dalam bentuk skripsi. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan software SAS. Diagram alur pelaksanaan penelitian disajikan pada Gambar 4.



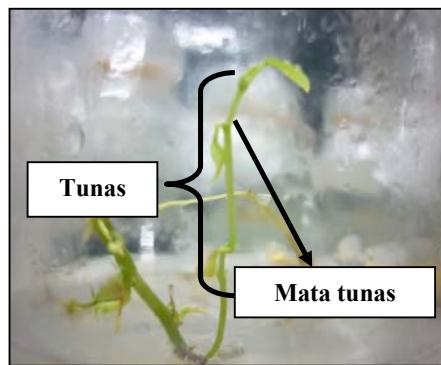
Gambar 4. Diagram alur pelaksanaan penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Penelitian ini diawali dari perbanyakkan stek batang yang kurang lebih berumur 3 bulan. Stek ditanam dalam polybag yang diisi dengan campuran media tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Berdasarkan pengamatan, stek baru memunculkan tunas pada 5 hari setelah tanam. Tunas yang digunakan untuk kultur *in vitro* adalah tunas yang telah memiliki 3-4 mata tunas dan dalam kondisi yang sehat.

Kultur asenik ditempatkan di ruang kultur yang bersuhu 18-20°C dan dengan pencahayaan penuh selama 24 jam. Periode kultur asenik untuk ubi kayu varietas Adira 2 adalah 2-3 minggu sampai eksplan benar-benar steril dan siap untuk dipindahkan ke media perlakuan. Keragaan eksplan di kultur asenik seragam. Tunas yang terbentuk pada kultur asenik berukuran kecil dan berwarna hijau muda. Daun pada eksplan kultur asenik banyak namun berwarna kekuningan. Sebagian besar eksplan menunjukkan pembentukan akar yang cukup banyak namun berukuran kecil. Keragaan tunas pada saat kultur asenik disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Eksplan ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada kultur asenik

Tabel 2. Rekapitulasi sidik ragam setelah transformasi

| Peubah | Umur (MST) | Perlakuan | | Interaksi (MxB) | KK (%) |
|-------------------------------|------------|-----------|-----------------|--------------------|--------|
| | | Media | Konsentrasi BAP | | |
| Jumlah Tunas Total | 1 | tn | tn | tn | 26.87 |
| | 2 | * | tn | tn | 29.09 |
| | 3 | ** | tn | * | 30.2 |
| | 4 | ** | tn | tn | 32.49 |
| | 5 | ** | tn | * | 35.48 |
| | 6 | ** | tn | * | 35.57 |
| | 7 | ** | tn | * | 35.97 |
| | 8 | ** | tn | * | 35.97 |
| Jumlah Daun total | 1 | ** | tn | tn | 20.72 |
| | 2 | ** | tn | tn | 42.65 |
| | 3 | ** | tn | tn | 53.33 |
| | 4 | ** | tn | tn | 60.11 |
| | 5 | ** | tn | tn | 67.1 |
| | 6 | ** | tn | tn | 74.78 |
| | 7 | ** | tn | tn | 75.11 |
| | 8 | ** | tn | tn | 77.71 |
| Jumlah Buku total per eksplan | 1 | ** | tn | tn | 26.07 |
| | 2 | ** | tn | tn | 39.42 |
| | 3 | ** | tn | tn | 53.76 |
| | 4 | ** | tn | tn | 60.63 |
| | 5 | ** | tn | tn | 78.58 |
| | 6 | ** | tn | tn | 83.34 |
| | 7 | ** | tn | tn | 86.14 |
| | 8 | ** | tn | tn | 87.04 |
| Jumlah akar per eksplan | 1 | * | tn | tn | 32.12 |
| | 2 | ** | tn | tn | 47.78 |
| | 3 | ** | tn | tn | 48.57 |
| | 4 | ** | * | * | 55.27 |
| | 5 | ** | * | * | 54.85 |
| | 6 | ** | * | * | 56.31 |
| | 7 | ** | ** | ** | 56.05 |
| | 8 | ** | ** | ** | 56.58 |
| Tinggi tunas tertinggi | 3 | ** | tn | tn | 35.31 |
| | 4 | ** | tn | tn | 41.07 |
| | 5 | ** | tn | tn | 45.38 |
| | 6 | ** | tn | tn | 51.05 |
| | 7 | ** | tn | tn | 57.01 |
| | 8 | ** | tn | tn | 61.62 |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p > 5\%$) * = berpengaruh nyata ($p < 5\%$)** = berpengaruh sangat nyata ($p < 1\%$)

Eksplan yang digunakan untuk perlakuan adalah tunas baru yang telah memiliki 2-4 mata tunas. Selama di kultur asenik, eksplan mengalami pertumbuhan yang cukup baik. Untuk perlakuan digunakan satu mata tunas steril setiap botol. Perlakuan di tempatkan di ruang kultur dengan suhu 18-21°C dan dengan pencahayaan penuh selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap beberapa peubah setiap satu minggu sekali.

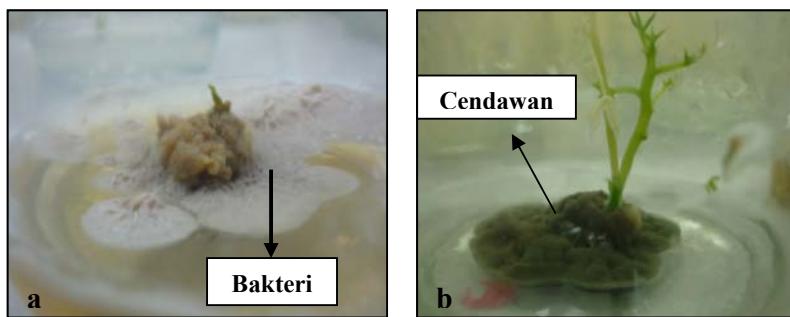
Berdasarkan rekapitulasi sidik ragam yang disajikan pada Tabel 2. Media MS merupakan media yang paling efektif untuk multiplikasi tunas ubi kayu. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa media MS berpengaruh nyata pada taraf 5% dan sangat nyata pada taraf 1%. Penggunaan BAP pada beberapa taraf konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap beberapa peubah eksplan Adira 2 kecuali pada peubah jumlah akar.

Tingkat Kontaminasi

Kontaminasi eksplan terjadi mulai 3 minggu pertama setelah subkultur. Tingkat kontaminasi pada penelitian ini tergolong tinggi yaitu sebesar 22.33% sampai akhir pengamatan (Lampiran 3). Banyak faktor yang diduga dapat menyebabkan kontaminasi. Berdasarkan pengamatan sebagian besar kontaminasi disebabkan oleh kontaminasi cendawan pada media dan beberapa kontaminasi bakteri (gambar 6).

Jumlah kultur yang mati tergolong sedikit. Tiga eksplan mengalami kematian yang disebabkan oleh pencoklatan (*browning*) dan *vitrous*. Eksplan mulai menguning sejak 1 MST dan selanjutnya menjadi coklat pada 2 MST. Sementara eksplan yang *vitrous* terjadi sejak 1 MST. Bagian tepi eksplan yang mengalami luka merupakan bagian yang banyak mengeluarkan senyawa fenolik yang menyebabkan warna cokelat pada eksplan. Menurut Pierik (1987), *browning* disebabkan karena adanya aktivitas enzim seperti polifenol oksidase dari dalam eksplan yang terbentuk pada saat eksplan dilukai, sehingga kematian akibat pencoklatan lebih sulit diatasi daripada kontaminasi. *Vitrous* diduga terjadi karena adanya efek alat yang digunakan bersuhu tinggi yang mengakibatkan eksplan mengering selanjutnya memutih. Eksplan yang mengalami *browning* terjadi pada

perlakuan M1B0 dan M2B0 serta eksplan yang mengalami *vitrous* terjadi pada perlakuan M2B4.



Gambar 6. Eksplan ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2 yang terkontaminasi oleh bakteri (a) dan cendawan (b).

Keterangan : Tanda panah menunjukkan kontaminan.

Persentase Eksplan Bertunas , Eksplan berakar, dan Eksplan Berkalus

Kombinasi antara BAP dan NAA menghasilkan persentase eksplan berkalus lebih besar dibandingkan jumlah eksplan yang bertunas (Tabel 3). Besarnya persentase berkalus ini kemungkinan diakibatkan oleh adanya aktivitas auksin endogen dalam eksplan. Pembentukan kalus juga diikuti oleh pemunculan tunas baru yang berasal dari mata tunas eksplan. Jumlah dan persentase eksplan bertunas, berakar dan berkalus tersaji pada Lampiran 4, 5, dan 6.

Terdapat beberapa tunas yang diduga berasal dari kalus yang terbentuk sebelumnya. Tunas ini muncul pada minggu ke 3. Berdasarkan pengamatan, fisik tunas yang terbentuk dari kalus berdaun lebar dan besar serta berwarna hijau. Pemunculan tunas ini disebabkan media perlakuan yang digunakan mampu untuk meregenerasi kalus menjadi tanaman dalam hal ini tunas baru. Phillips *et al.* (1995) menyatakan bahwa tanaman yang diregenerasikan dari kalus atau kultur suspensi dapat menunjukkan variasi bentuk (*morphological variation*) ataupun variasi somaklonal (*somaclonal variation*). Akan tetapi regenerasi tunas dari eksplan kalus merupakan proses yang kompleks, karena dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya faktor genotipe, tipe eksplan dan keseimbangan zat pengatur tumbuh, dalam hal ini auksin dan sitokinin serta kondisi fisiologi kalus (Gaba, 2005).

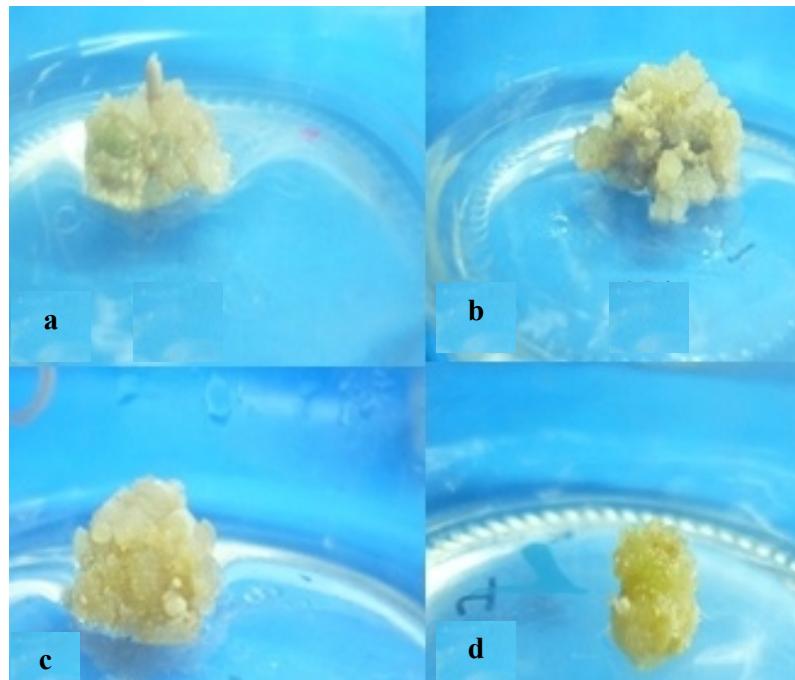
Tabel 3. Persentase Eksplan bertunas, eksplan berakar, dan eksplan berkalus kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada akhir pengamatan (8 MST)

| Perlakuan | Eksplan bertunas | Eksplan berakar | Eksplan Berkalus |
|----------------|------------------|-----------------|------------------|
| |%..... | | |
| M1B0 | 30.55 | 33.33 | 62.50 |
| M1B1 | 38.88 | 5.56 | 94.44 |
| M1B2 | 22.22 | 0 | 59.72 |
| M1B3 | 51.39 | 0 | 95.83 |
| M1B4 | 51.39 | 0 | 97.22 |
| M2B0 | 23.61 | 0 | 16.67 |
| M2B1 | 0 | 0 | 15.28 |
| M2B2 | 22.22 | 0 | 15.28 |
| M2B3 | 11.11 | 0 | 19.44 |
| M2B4 | 11.11 | 0 | 36.11 |
| Kontrol | 59.72 | 50 | 0 |

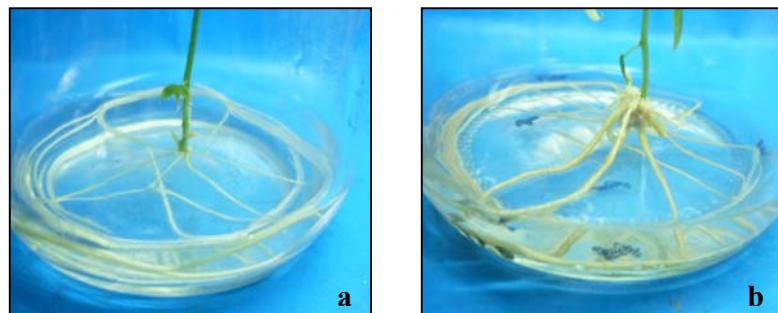
Keterangan : M1 dan M2 = MS dan 1/2 MS
 B0,B1,B2,B3,B4= 0, 0.5, 1, 1.5, 3 ppm BAP

Kualitas kalus yang terbentuk selama penelitian berdasarkan penampakan struktur dan warna kalus adalah seragam (Gambar 7). Seluruh kalus yang terbentuk berstruktur remah dan berwarna coklat pada akhir pengamatan (8 MST). Selama pembentukan kalus remah ini, terjadi perubahan warna kalus setiap minggunya. Warna kalus awal beragam. Perubahan warna kalus terjadi mulai dari warna putih kehijauan menjadi kuning kecoklatan selanjutnya menjadi cokelat (Lampiran 7). Menurut Hutami (2008), perubahan warna menjadi cokelat (pencoklatan) dalam kultur jaringan terjadi karena akumulasi polifenol oksidase yang dilepas atau disintesis jaringan dalam kondisi teroksidasi ketika sel dilukai.

Pertumbuhan akar terbesar hanya terjadi pada perlakuan tanpa BAP dan kontrol. Hanya satu eksplan dari perlakuan M1B1 (0.5 ppm BAP) yang membentuk akar. Pada perlakuan tanpa BAP diakibatkan karena konsentrasi auksin yang lebih besar dibandingkan sitokin. Hal ini dijelaskan oleh Armini *et al.*(1992) yang menyatakan bahwa pembentukan akar pada stek *in vitro* hanya memerlukan auksin tanpa sitokin ataupun sitokin dalam konsentrasi yang sangat rendah. Morfologi akar yang terbentuk tersaji pada Gambar 8.



Gambar 7. Kalus ubi kayu (*Mannihot esculenta*) yang terbentuk pada 8 MST: (a) MS+0.5 ppm BAP (b) MS+3 ppm BAP (c) MS+1.5 ppm BAP (d) $\frac{1}{2}$ MS+1.0 ppm BAP



Gambar 8. Morfologi akar ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada 8 MST pada media MS0 (a) dan M1B0 (b)

Pembentukan akar pada kontrol sendiri diduga karena adanya aktivitas auksin endogen pada eksplan ubi kayu. Auksin ini mendorong terbentuknya akar dan pemanjangan akar yang cepat. Armini *et al.* (1992) juga menjelaskan bahwa salah satu peran fisiologis dari auksin ini adalah berperan dalam pemanjangan sel.

Jumlah Total Tunas per Eksplan

Hasil perolehan data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa penggunaan media dasar sangat berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas total per eksplan. Media dasar MS yang ditambahkan 0.2 ppm NAA memberikan nilai terbaik untuk pemunculan tunas yaitu sebesar 1.27 tunas per eksplan. Media dasar $\frac{1}{2}$ MS hanya mampu memberikan nilai 0.81 tunas per eksplan. Namun media dasar MS yang ditambahkan NAA tidak berbeda nyata dengan media kontrol (MS0). Hal ini kemungkinan terjadi karena konsentrasi unsur hara antara kedua media tersebut sama, sehingga respon yang ditunjukkan eksplan tidak jauh berbeda.

Tabel 4. Jumlah Tunas Total Per Eksplan pada Kultur *In Vitro* Ubi Kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan | Umur (MST) | | | |
|--------------------------|------------|-------|-------|-------|
| | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Media Dasar | | | | |
| Kontrol (MS0) | 1.03a | 1.15a | 1.15a | 1.15a |
| MS | 0.92ab | 1.14a | 1.24a | 1.27a |
| $\frac{1}{2}$ MS | 0.79b | 0.81b | 0.81b | 0.81b |
| Konsentrasi BAP (ppm) | | | | |
| B0' | 1.03 | 1.15 | 1.15 | 1.15 |
| B0 | 0.90 | 0.94 | 0.94 | 0.94 |
| B1 | 0.85 | 1.00 | 1.08 | 1.09 |
| B2 | 0.83 | 0.93 | 0.96 | 0.96 |
| B3 | 0.79 | 1.00 | 1.12 | 1.16 |
| B4 | 0.89 | 0.99 | 1.00 | 1.00 |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji duncan pada taraf 5%

B0' = tanpa ZPT (kontrol) B2 = 1.0 ppm BAP

B0 = 0 ppm BAP B3 = 1.5 ppm BAP

B1 = 0.5 ppm BAP B4 = 3.0 ppm BAP

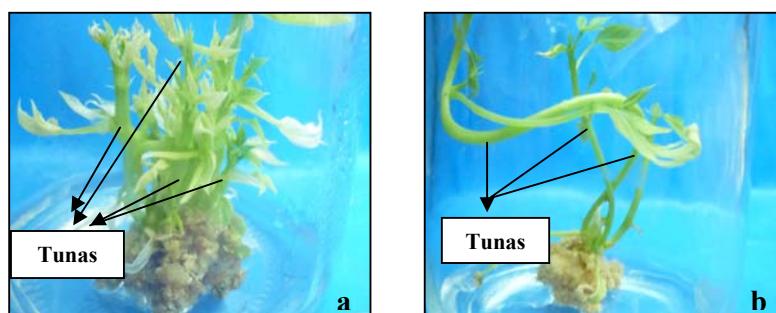
Semua perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA kecuali kontrol

Perlakuan konsentrasi BAP maupun kontrol belum berpengaruh nyata terhadap pemunculan tunas baru eksplan Adira 2. Hal ini disebabkan ketidakseragaman respon dari setiap eksplan sehingga data rataan yang dihasilkan belum menunjukkan yang sebenarnya. Data pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas tersaji pada Tabel 4. Penambahan 1.5 ppm BAP memiliki nilai

terbaik dalam pemunculan tunas meskipun tidak terlalu signifikan dengan kontrol maupun dengan level konsentrasi BAP yang lain. Onuoch dan Onwubiku (2007) menjelaskan penelitiannya terhadap varietas ubi kayu asal Afrika yang menyatakan bahwa varietas ubi kayu TMS 98/0379 memiliki jumlah tunas terbaik pada konsentrasi BAP 0 ppm meskipun tidak terlalu berbeda nyata dengan level konsentrasi yang lain. Untuk daya multiplikasi tunas konsentrasi BAP 0.5-1.5 ppm menunjukkan peningkatan setiap minggunya.

Data diatas merupakan hasil rataan dari seluruh ulangan untuk setiap perlakuan. Setiap ulangan untuk satu perlakuan tidak memberikan respon yang seragam. Terdapat beberapa botol ulangan pada beberapa perlakuan menghasilkan tunas lebih dari tiga tunas. Hal ini seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9.

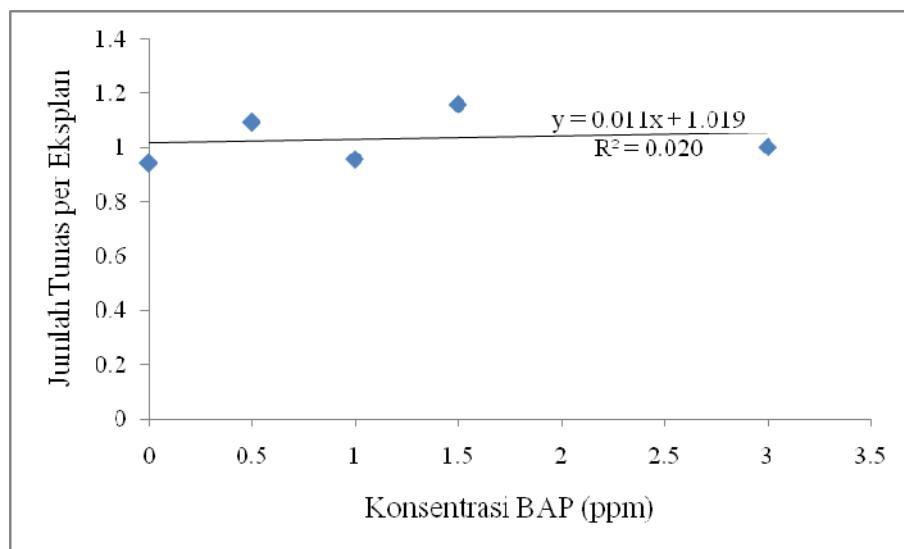
Hingga akhir pengamatan (8 MST), perlakuan MS + 3 ppm BAP mampu menghasilkan 5 tunas untuk satu eksplan dan untuk perlakuan MS + 1.5 ppm BAP menghasilkan 3 tunas per eksplan. Mata tunas yang dihasilkan setiap tunas 3-5 mata tunas. Dengan demikian, dalam waktu 8 minggu satu tunas samping mampu memproduksi 9-15 bahan tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa metode perbanyakan ubi kayu secara *in vitro* memiliki potensi yang cukup besar untuk memenuhi kebutuhan bibit ubi kayu dalam waktu yang cepat. Akan tetapi, di masa mendatang dimungkinkan memperoleh jumlah tanaman yang lebih banyak dengan memperbaiki komposisi zat pengatur tumbuh dan kondisi tumbuh lainnya.



Gambar 9. Multiplikasi tunas ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2 pada perlakuan MS+3ppm BAP (a) dan MS+1.5 ppm BAP (b)

Secara keseluruhan, kemampuan eksplan yang hanya menumbuhkan tunas antara 0.81-1.27 tunas per eksplan, kemungkinan diakibatkan belum optimalnya

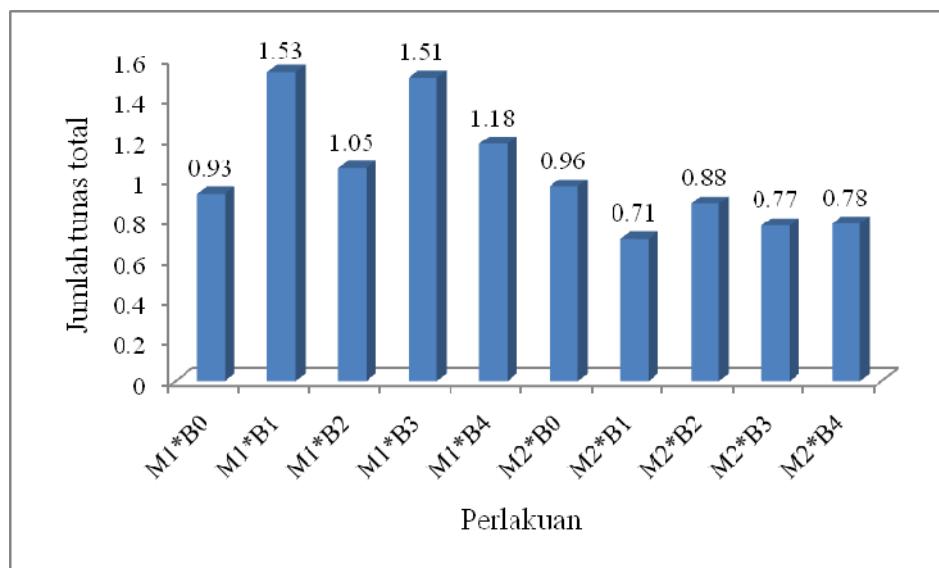
zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media atau dapat juga disebabkan kondisi kultur yang belum optimal. Walaupun pada umumnya tanaman memerlukan suhu optimum di ruang kultur $25\pm1^{\circ}\text{C}$ (Sudarmonowati, 2002), hasil penelitian Raemakers *et al* (1993) pada tanaman ubi kayu menunjukkan bahwa kultur *in vitro* ubi kayu baik untuk multiplikasi tunas maupun untuk induksi embriogenesis somatik memerlukan suhu 30°C .



Gambar 10. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas ubi kayu (*Mannihot esculenta*) per eksplan

Menurut hasil analisis regresi, penambahan BAP dapat terus dilakukan di atas 3 ppm sampai mencapai taraf optimum. Hasil regresi ini tersaji pada Gambar 10. Gambar di atas memperlihatkan pola pembentukan tunas akibat pengaruh pemberian BAP pada beberapa konsentrasi. Dari gambar tersebut dapat dibuat persamaan regresi sederhana yaitu $y = 0.011x + 1.019$ ($R^2 = 0.020$). Dari persamaan ini, diperoleh hasil pengujian bahwa konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan jumlah tunas per eksplan. Namun dari persamaan ini juga dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi BAP akan meningkatkan jumlah tunas sebesar 1.019 tunas per eksplan. Selain itu, koefisien determinasi yang dihasilkan sangat rendah (0.020), artinya hanya 2 % keragaman dari Y yang dapat dijelaskan oleh model regresi linear sederhana.

Interaksi antara media dasar dengan konsentrasi BAP terjadi pada 5 MST sampai dengan 8 MST. Interaksi yang berpengaruh nyata terjadi pada 8 MST, seperti ditunjukkan pada Gambar 11. Berdasarkan data tersebut, interaksi antara media dasar MS dengan konsentrasi 0.5 ppm BAP memberikan respon terbaik terhadap pemunculan tunas. Namun hasil ini tidak jauh berbeda dengan interaksi antara media dasar MS dengan konsentrasi 1.5 ppm BAP. Data tersebut juga memberikan informasi bahwa peningkatan konsentrasi BAP tidak selalu meningkatkan jumlah tunas ubi kayu. Le *et al* (2007) memaparkan hasil penelitiannya mengenai organogenesis ubi kayu kultivar K140 yang menyatakan bahwa penambahan kombinasi 5 ppm BAP + 0.1 ppm NAA pada media dasar MS menghasilkan jumlah tunas terbanyak.



Gambar 11. Pengaruh interaksi antara media dasar dan konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas total per eksplan kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta* Crantz) pada 8 MST

Keterangan : M1 = Media dasar MS M2 = Media $\frac{1}{2}$ MS
 B0 = 0 ppm BAP B1 = 0.5 ppm BAP B2 = 1.0 ppm BAP
 B3 = 1.5 ppm BAP B4 = 3.0 ppm BAP
 Seluruh perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA

Berdasarkan hasil analisis, konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap waktu munculnya tunas. Hal ini dapat dilihat pada tabel 5. Kemampuan eksplan memunculkan tunas pertama rata-rata kurang dari 2 minggu setelah tanam. Waktu pemunculan tunas tercepat yaitu pada konsentrasi 3 ppm BAP dimana pada media

MS muncul pada 3.25 HST (hari setelah tanam) dan pada media $\frac{1}{2}$ MS muncul pada 2 HST. Akan tetapi waktu pemunculan tunas tersebut tidak berbeda secara nyata dengan waktu muncul tunas pada kontrol.

Waktu muncul tunas ini lebih cepat bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Sudarmonowati *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa kecepatan pembentukan tunas majemuk ubi kayu umumnya setelah 2 minggu tergantung genotip. Salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan waktu munculnya tunas ini adalah posisi buku pada tunas samping. Berdasarkan pengamatan, posisi buku yang paling responsif adalah buku ke 2-4 dari pucuk. Selain itu, kemungkinan juga disebabkan oleh kondisi fisiologis tanaman induk. Rataan waktu muncul tunas pertama disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan waktu muncul tunas pertama kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2

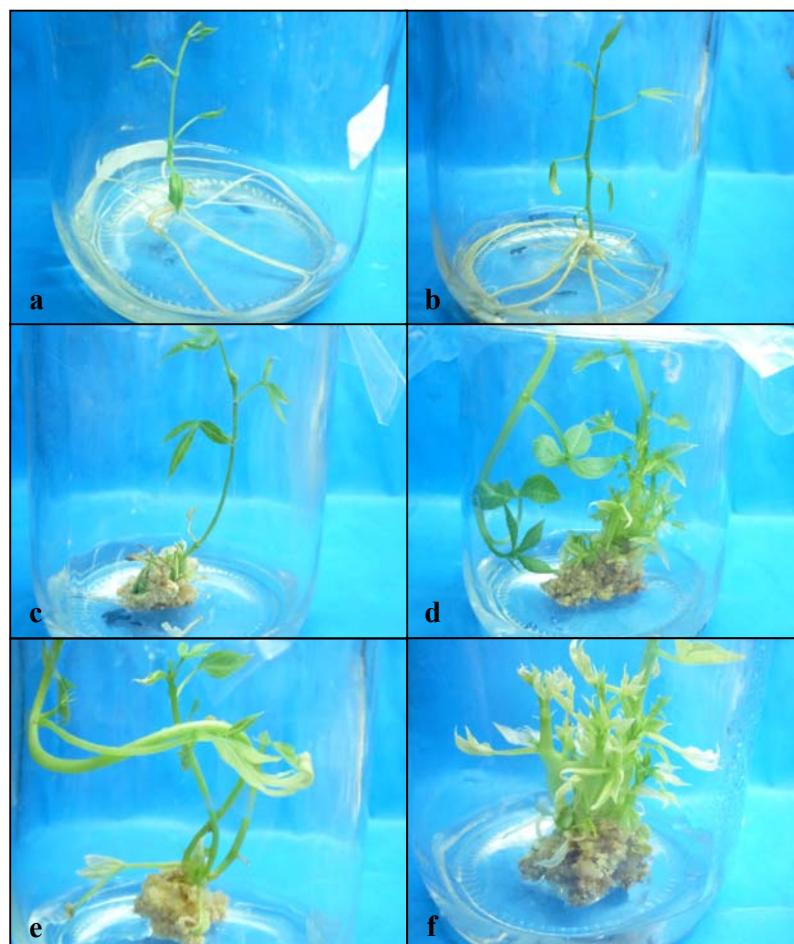
| Media | Konsentrasi BAP (ppm) | Waktu muncul tunas (HST) | Uji lanjut |
|------------------|-----------------------|--------------------------|------------|
| MS | 0.0 | 8.50 | a |
| | 0.5 | 12.25 | a |
| | 1.0 | 9.33 | a |
| | 1.5 | 14.00 | a |
| | 3.0 | 3.25 | b |
| | 0.0 | 15.00 | a |
| $\frac{1}{2}$ MS | 0.5 | >15.00 | a |
| | 1.0 | 11.00 | a |
| | 1.5 | 12.00 | a |
| | 3.0 | 2.00 | b |
| Kontrol (MS0) | 0.0 | 6.50 | ab |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

MS0 : tanpa penambahan NAA

Morfologi tunas yang muncul, berdasarkan pengamatan berbeda tiap perlakuan. Perbedaan ini terlihat pada warna dan ukuran tunas. Pada perlakuan M1B0 dan kontrol ukuran batang kecil dan berwarna hijau tua. Perlakuan M1B1, M1B2, M1B3, dan M1B4 membentuk tunas yang banyak, lebih tegar dan besar serta berwarna lebih muda. Data ini menunjukkan bahwa perbandingan sitokinin yang lebih besar memberikan bentuk morfologi dan daya multiplikasi yang lebih

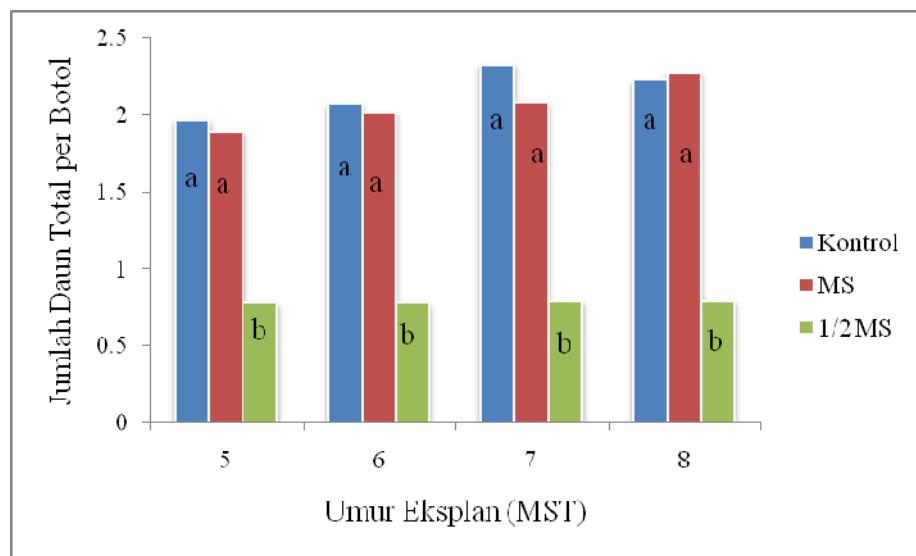
baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Davies (2004) yang menyatakan bahwa penambahan sitokinina pada kultur *in vitro* dan *crown gall* meningkatkan inisiasi tunas serta mempengaruhi bentuk tunas. Penambahan NAA dan BAP mempercepat memperbanyak pertumbuhan tunas dan ketegarannya lebih baik serta dapat membentuk kalus (Wattimena dan Mattjik, 1992). Morfologi tunas pada salah satu komposisi media dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar12. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap morfologi tunas ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2 pada 8 MST: (a) kontrol (b) MS+0 ppm BAP (c) MS+0.5 ppm BAP (d) MS+1 ppm BAP (e) MS+ 1.5 ppm BAP (f) MS+ 3 ppm BAP

Jumlah Daun Total Per Botol

Pembentukan daun pada eksplan ubi kayu relatif cepat. Pertumbuhan yang cepat diikuti oleh proses senesen yang cepat juga pada beberapa perlakuan. Daun yang dihitung merupakan daun yang telah terbuka penuh dan yang masih menempel pada tunas. Pertumbuhan daun terjadi sejak minggu pertama (1 MST). Tidak semua eksplan tumbuh daun. Hanya eksplan yang bertunas yang menumbuhkan daun.



Gambar 13. Pengaruh media dasar terhadap jumlah daun total pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji duncan pada taraf 5%

Berdasarkan data pada Gambar 13, media dasar berpengaruh nyata terhadap jumlah daun total per botol. Pengaruh nyata ini terlihat mulai dari 1 MST. Media kontrol (MS0) mendominasi pertumbuhan daun sampai 7 MST. Namun di akhir pengamatan media dasar MS menghasilkan jumlah daun total terbanyak yaitu 2.27 daun per botol. Jumlah tersebut tidak berbeda jauh dengan jumlah daun yang dihasilkan oleh kontrol yaitu sebanyak 2.23 total daun per botol. Sedangkan untuk perlakuan media dasar $\frac{1}{2}$ MS di akhir pengamatan hanya menghasilkan total 0.79 daun per botol.

Jumlah daun pada media dasar MS terus meningkat setiap minggunya jika dibandingkan dengan media dasar $\frac{1}{2}$ MS. Hal ini diduga konsentrasi nitrogen

dalam media MS lebih tinggi. Nitrogen ini diperoleh dari campuran nitrat dan ammonium. Karena menurut Wijaya (2008), fungsi nitrogen pada tanaman adalah mendorong pembentukan organ tanaman yang berkaitan dengan fotosintesis yaitu daun.

Tabel 6. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah daun pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

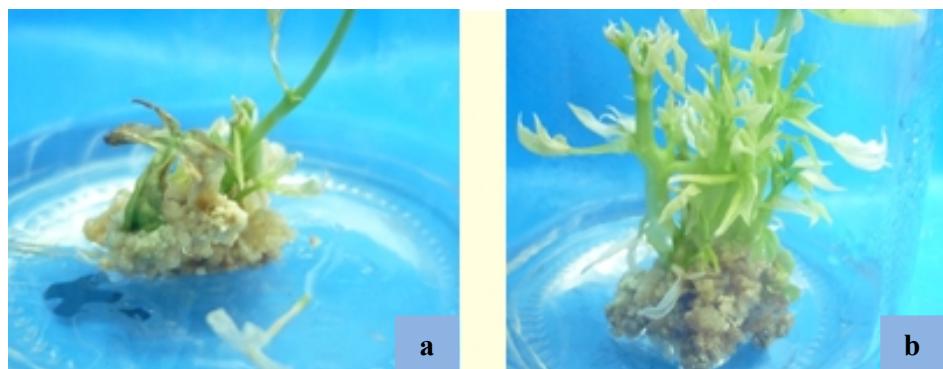
| Konsentrasi BAP (ppm) | Umur (MST) | | | |
|--------------------------|------------|------|------|------|
| | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Kontrol | 1.13 | 1.76 | 2.07 | 2.23 |
| 0 | 0.90 | 0.97 | 0.99 | 1.08 |
| 0.5 | 0.96 | 1.19 | 1.33 | 1.46 |
| 1 | 0.90 | 1.12 | 1.45 | 1.81 |
| 1.5 | 0.86 | 1.28 | 1.58 | 1.79 |
| 3 | 0.94 | 1.42 | 1.64 | 1.56 |
| Uji F | tn | tn | tn | tn |

Keterangan : ke dalam seluruh perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA

Konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun yang tumbuh. Dari data yang diperoleh peningkatan maupun penurunan konsentrasi menunjukkan data yang tidak berbeda signifikan. Kontrol dan kombinasi 1 ppm BAP memiliki nilai yang lebih baik. Jumlah daun total pada kontrol sebanyak 2.23 daun per botol dan untuk konsentrasi 1 ppm BAP menghasilkan 1.81 daun per botol. Jumlah daun paling sedikit dihasilkan oleh konsentrasi 0 ppm BAP. Data yang tersaji pada Tabel 6 menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari auksin, memberikan nilai lebih tinggi bila dengan hanya menggunakan auksin. Hasil penelitian Onouch dan Onwubiku (2007) juga menyebutkan bahwa penambahan 0.75 mg/L BAP untuk varietas TMS 98/0581 memberikan nilai jumlah daun tertinggi pada 6 MST meskipun tidak lebih tinggi dari nilai jumlah daun kontrol.

Banyaknya jumlah daun ini menunjukkan banyaknya tunas dan buku yang terbentuk. Semakin banyak jumlah tunas maka semakin banyak juga jumlah daun dan buku eksplan. Hal ini berarti jumlah daun berkorelasi positif dengan jumlah buku. Sidik ragam korelasi antar peubah tersaji pada Lampiran 8.

Pada 5 MST, daun pada beberapa perlakuan terjadi penguningan dan terdapat daun yang telah gugur (senesen) (Gambar 14). Penguningan ini berlangsung sampai akhir pengamatan terutama pada perlakuan M1B3 dan M1B4. Banyaknya tunas yang tumbuh menyebabkan persaingan perebutan hara antar tunas semakin besar. Tunas-tunas yang kalah dalam perebutan hara, tidak mampu mensuplai nutrisi ke bagian tunas yang lain seperti daun. Akibatnya sebagian daun menguning dan layu, bahkan beberapa daun gugur. Pengguguran daun juga terjadi akibat proses absisi yang ada hubungannya dengan aktivitas auksin di daerah absisi (Wattimena, 1988). Senesen juga dapat terjadi akibat kekurangan nutrisi dan akumulasi racun pada kultur *in vitro* (Cachita dan Cracium, 1990).



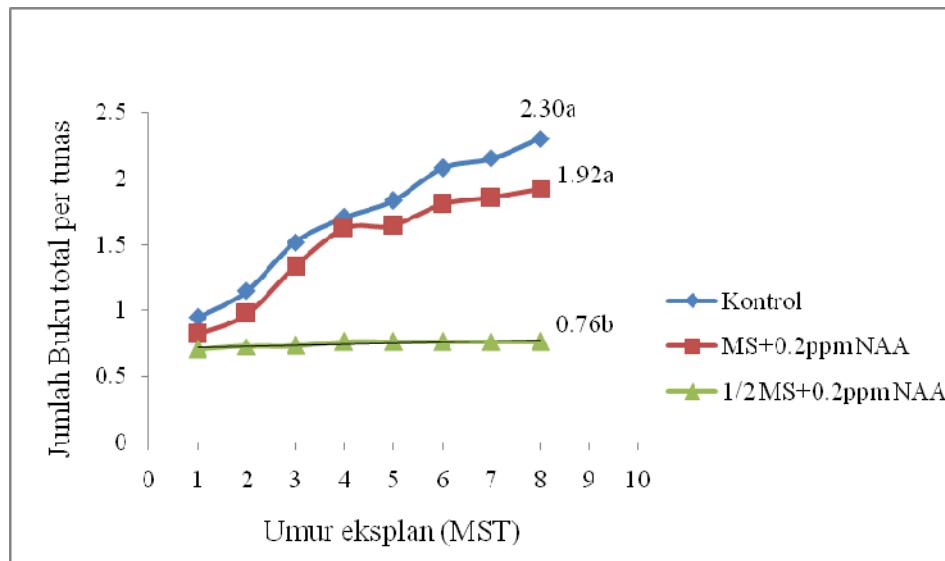
Gambar 14. Pengguguran (senesen) (a) dan penguningan (b) daun kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada 8 MST

Jumlah Buku Total Per Botol

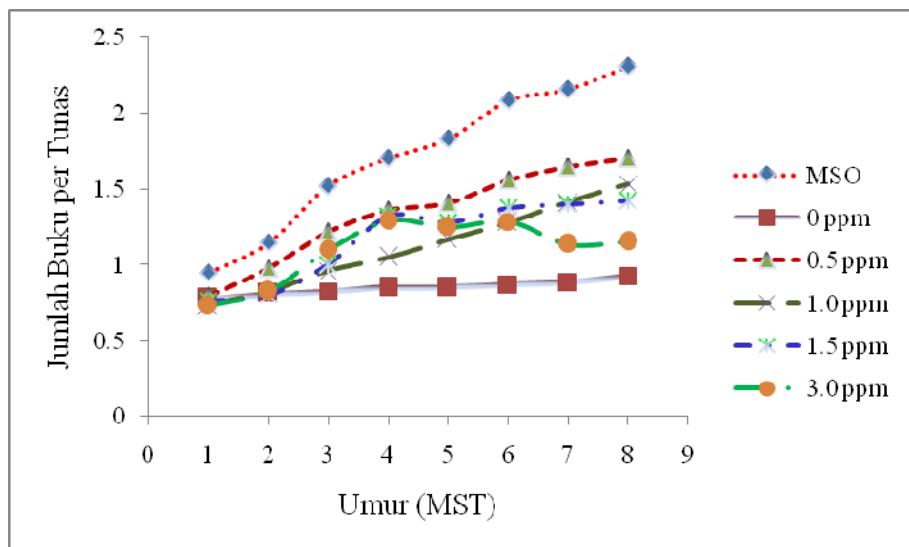
Hasil yang diperoleh pada Gambar 15 menunjukkan bahwa media dasar berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan jumlah buku total per tunas. Sampai akhir pengamatan, media kontrol memberikan jumlah buku terbanyak yaitu 2.3 buku per tunas, diikuti oleh media dasar MS + 0.2 ppm NAA sebanyak 1.92 buku per tunas. Media dasar $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan jumlah buku terkecil yaitu hanya 0.76 buku.

Konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap penambahan jumlah buku per tunas. Hal ini dapat dilihat pada gambar 16. Kontrol memiliki nilai yang paling tinggi dalam pembentukan buku yang bermata tunas walaupun tidak berbeda nyata dengan tingkat konsentrasi BAP yang lainnya. Jumlah buku yang

dihasilkan pada perlakuan kontrol adalah 2.3 buku per tunas. Konsentrasi 0.5 ppm BAP memberikan jumlah buku lebih banyak yaitu 1.7 buku per tunas.



Gambar 15. Pengaruh media dasar terhadap jumlah buku total per tunas pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)



Gambar 16. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan jumlah buku total per tunas pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

Hasil di atas tidak jauh berbeda dengan perlakuan 1 ppm BAP yaitu sebanyak 1.5 buku per tunas. Onouch dan Onwubiku (2007) menerangkan bahwa

untuk peubah jumlah buku pada 4 dan 6 minggu setelah subkultur ubi kayu varietas TMS 98/0379 dan TMS 98/0381, penambahan 0 ppm BAP tidak berbeda jauh hasilnya dengan penambahan BAP pada konsentrasi yang lebih tinggi.

Jumlah buku ini berkorelasi positif dengan jumlah tunas yang muncul. Hal ini dapat dilihat pada Lampiran 8. Korelasi positif menunjukkan bahwa semakin banyak tunas yang muncul maka semakin banyak jumlah buku dan sebaliknya, semakin banyak jumlah buku maka tunas yang muncul banyak.

Buku yang bermata tunas ini berkaitan erat dengan banyaknya stek mikro yang diperoleh. Mata tunas yang berada dalam setiap buku dijadikan sebagai sumber eksplan untuk menumbuhkan tunas baru. Artinya semakin banyak mata tunas yang terbentuk maka akan semakin banyak eksplan yang dapat dijadikan bibit mikro sehingga akan semakin banyak tunas yang terbentuk. Akan tetapi jumlah buku yang dihasilkan belum optimal. Hal ini disebabkan belum optimalnya konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Tinggi Tunas Tertinggi

Pengamatan terhadap tinggi tunas ini dilakukan mulai pada 3 MST. Tunas yang diamati adalah tunas tertinggi. Tinggi diukur mulai dari pangkal tunas sampai titik tumbuh teratas tunas.

Tabel 7. Pengaruh media dasar terhadap pertumbuhan tinggi tunas tertinggi pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan Media dasar | Umur (MST) | | | | | |
|-----------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Kontrol | 1.24a | 1.41a | 1.61a | 1.75a | 1.88a | 2.04a |
| MS | 0.96b | 1.07b | 1.16b | 1.27b | 1.33b | 1.40b |
| 1/2 MS | 0.73c | 0.73c | 0.73c | 0.73c | 0.74c | 0.74c |
| Uji F | ** | ** | ** | ** | ** | ** |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%

Perlakuan media dasar berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan tinggi tunas pada 3-8 MST. Tinggi tunas terus bertambah setiap minggunya yang menandakan terus terjadi pemanjangan sel pada tunas yang terbentuk. Data tersebut disajikan pada Tabel 7. Tunas tertinggi diperoleh dari media kontrol (MS tanpa ZPT) diikuti oleh media dasar MS + BAP dan tunas yang paling pendek

diperoleh dari media ½ MS+BAP. Hal ini menunjukkan bahwa media dasar MS, baik yang ditambah ZPT maupun yang tidak, merupakan media yang paling baik untuk pertambahan tinggi tunas.

Tingginya laju pertambahan tinggi pada media dasar MS ini diduga diakibatkan oleh peranan garam-garam mineral serta nitrogen yang tinggi dalam media MS. Winarto (2004) melaporkan hasil penelitiannya mengenai modifikasi konsentrasi NH_4NO_3 dan CaCl_2 media MS tehadap pertumbuhan eksplan, yang menyatakan bahwa kehadiran NH_4NO_3 mendorong pertumbuhan tanaman yang cepat yang berorientasi pada pertambahan tinggi tanaman. Hal ini semakin menunjukkan bahwa penelitian kultur *in vitro* berbagai spesies tanaman berkayu pada media yang mengandung garam-garam mineral terutama unsur makro nitrat dan ammonium umumnya memberikan hasil yang lebih baik (Pardal *et al*, 2004).

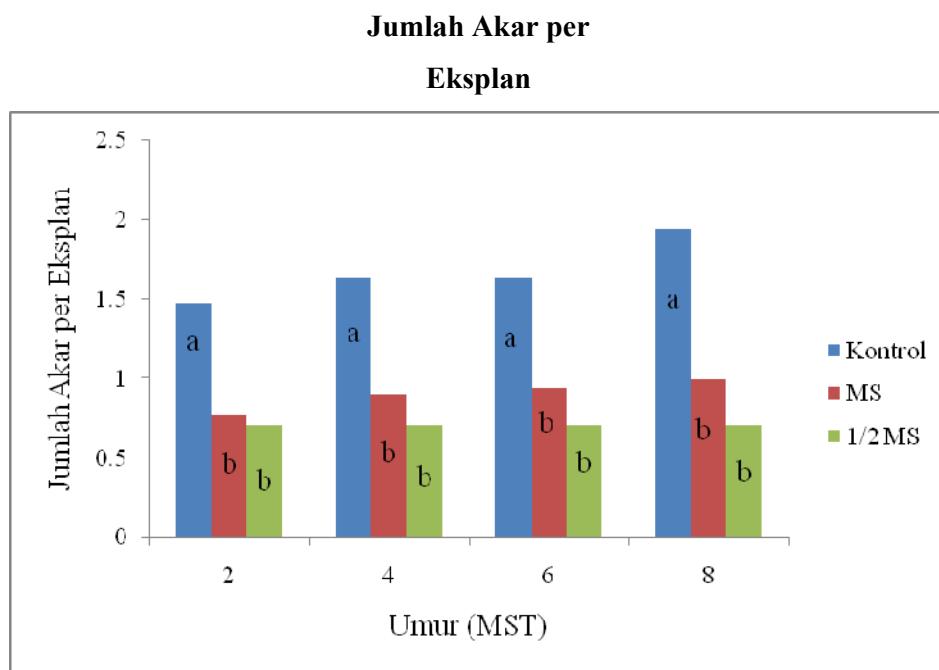
Perlakuan konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap peubah tinggi tunas ini (Tabel 8). Tunas tertinggi diperoleh pada kontrol yaitu 2.04 cm pada 8 MST. Akan tetapi hasil ini tidak berbeda signifikan dengan level konsentrasi yang lainnya. Proses pertambahan tinggi tunas ini terjadi akibat adanya pemanjangan sel-sel jaringan. Penambahan auksin (NAA) pada media mempunyai peranan dalam pemanjangan sel tunas karena salah satu peran fisiologis dari auksin adalah mendorong perpanjangan sel (Armini *et al*, 1992).

Tabel 8. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tinggi tunas pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| konsentrasi BAP (ppm) | Umur (MST) | | | | | |
|--------------------------|------------|------|------|------|------|------|
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Kontrol | 1.24 | 1.41 | 1.61 | 1.75 | 1.88 | 2.04 |
| 0 | 0.79 | 0.82 | 0.82 | 0.83 | 0.85 | 0.86 |
| 0.5 | 0.94 | 0.99 | 1.02 | 1.10 | 1.13 | 1.16 |
| 1 | 0.78 | 0.79 | 0.87 | 0.92 | 1.05 | 1.13 |
| 1.5 | 0.84 | 0.93 | 0.98 | 1.04 | 1.12 | 1.15 |
| 3 | 0.84 | 0.92 | 0.97 | 1.05 | 0.96 | 1.00 |
| Uji F | tn | tn | tn | tn | tn | tn |

Hasil diatas sedikit berbeda dengan penelitian Onouch dan Onwubiku (2007) yang melaporkan bahwa aplikasi BAP tidak berpengaruh terhadap tinggi

tanaman pada kultur *in vitro* 2 varietas ubi kayu asal Afrika, namun berbeda sangat nyata dengan kontrol yang menghasilkan tunas tertinggi yaitu 3.88.



Gambar 17. Pengaruh media dasar terhadap Jumlah akar total per eksplan pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

Data yang tersaji pada Gambar 17 menunjukkan pengaruh nyata media dasar terhadap pertumbuhan akar pada eksplan. Kontrol memberikan pengaruh yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan media dasar lainnya. Jumlah akar yang mampu dihasilkan kontrol adalah sebanyak 1.95 akar per eksplan, media dasar MS + BAP 0.99 akar per eksplan, dan media $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan 0.71 akar per eksplan pada 8 MST. Tingginya jumlah akar yang tumbuh pada media dasar diduga adanya perbedaan konsentrasi NH_4^+ pada media dasar MS dan $\frac{1}{2}$ MS. Nitrogen pada tanaman salah satunya diperoleh dari NH_4 yang dapat meningkatkan sintesis sitokinin dalam jaringan tanaman (Gao *et al*, 1992). Dengan meningkatnya sintesis sitokinin, berarti meningkat pula konsentrasi sitokinin dalam media. Gaba (2005) menjelaskan bahwa konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menghambat perakaran.

Kontrol dan konsentrasi BAP 0 ppm memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pembentukan akar. Pengaruh mulai terlihat sejak 4 MST (Tabel 9). Banyaknya akar yang terbentuk diakibatkan nisbah konsentrasi auksin yang lebih tinggi. Penambahan auksin sintetik dalam konsentrasi rendah pada perlakuan M1B0 menyebabkan pemunculan akar yang cepat jika dibandingkan dengan kontrol, namun pertumbuhan akar terlihat terhambat karena ukuran akar yang kecil dan hanya pemanjangan akar yang terus terjadi setiap minggunya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wightman *et al* (1980) yang menyatakan bahwa aplikasi auksin eksogen pada media kultur dapat mempercepat pembentukan akar dan mempengaruhi pemanjangan akar jika digunakan dalam konsentrasi rendah.

Tabel 9. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap Jumlah akar per eksplan pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Konsentrasi BAP | Umur (MST) | | | | | |
|-----------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| B0' | 1.55 | 1.63a | 1.63a | 1.63a | 1.76a | 1.95a |
| B0 | 1.04 | 1.27a | 1.28a | 1.31a | 1.38a | 1.41a |
| B1 | 0.71 | 0.71b | 0.74b | 0.76b | 0.78b | 0.79b |
| B2 | 0.71 | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b |
| B3 | 0.71 | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b |
| B4 | 0.71 | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b | 0.71b |
| Uji F | tn | * | * | * | ** | ** |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf 5%.

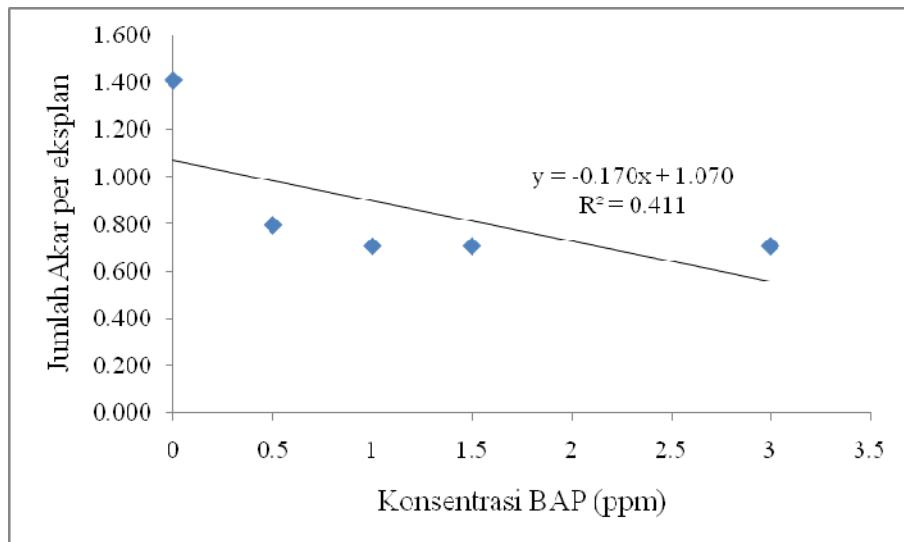
$$B0' = \text{tanpa ZPT} \quad B2 = 1.0 \text{ ppm BAP} + 0.2 \text{ ppm NAA}$$

B0 = 0 ppm BAP + 0.2 ppm NAA B3 = 1.5 ppm BAP + 0.2 ppm NAA

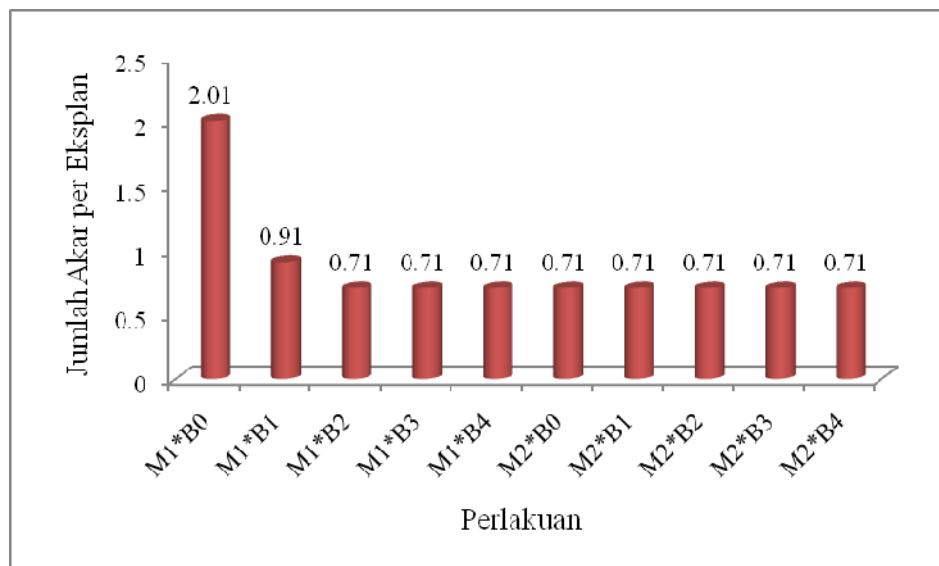
B0 = 0 ppm BAP + 0.2 ppm NAA B3 = 1.5 ppm BAP + 0.2 ppm NAA
 B1 = 0.5 ppm BAP + 0.2 ppm NAA B4 = 3.0 ppm BAP + 0.2 ppm NAA

Model regresi linear sederhana yang dapat dibuat dari Gambar 18 yaitu $y = -0.170x + 1.070$ ($R^2 = 0.411$). Persamaan tersebut memberikan slope yang negatif terhadap pembentukan akar. Slope negatif artinya setiap peningkatan konsentrasi BAP akan menurunkan jumlah akar pada kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2 sebanyak 0.17 kali konsentrasi BAP yang digunakan. Koefisien

determinasi dari model tersebut sebesar 41.1 %. Artinya, 41.1% keragaman dari Y dapat dijelaskan oleh model regresi linear sederhana tersebut.



Gambar 18. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah akar kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) per eksplan



Gambar 19. Pengaruh interaksi antara media dasar dan konsentrasi BAP terhadap Jumlah akar per eksplan pada kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada 8 MST

Keterangan : M1 = Media dasar MS M2 = Media $\frac{1}{2}$ MS
 B0 = 0 ppm BAP B1 = 0.5 ppm BAP B2 = 1.0 ppm BAP
 B3 = 1.5 ppm BAP B4 = 3.0 ppm BAP

Semua perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA

Hasil yang diperoleh pada Gambar 19 menunjukkan bahwa interaksi antara media dasar MS + 0 ppm BAP memberikan jumlah akar terbanyak yaitu 2.01 akar per eksplan pada 8 MST. Sedangkan interaksi pada perlakuan yang lain hanya menghasilkan < 1 akar per eksplan. Dalam hal ini diduga besarnya konsentrasi auksin dalam media mengambil peranan penting dalam pembentukan akar. Karena menurut Armini *et al* (1992), nisbah auksin – sitokinin yang tinggi akan mendorong morfogenesis akar sebaliknya nisbah sitokinin – auksin yang tinggi akan mendorong pembentukan tunas.

Tabel 10. Rataan waktu munculnya akar pertama kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Media | Konsentrasi BAP (ppm) | Waktu muncul akar (HST) |
|------------------|-----------------------|-------------------------|
| MS | 0.0 | 9 |
| | 0.5 | 37 |
| | 1.0 | - |
| | 1.5 | - |
| | 3.0 | - |
| | 0.0 | - |
| $\frac{1}{2}$ MS | 0.5 | - |
| | 1.0 | - |
| | 1.5 | - |
| | 3.0 | - |
| Kontrol (MS0) | 0.0 | 13 |

Keterangan : (-) tidak berakar. MS0 : tanpa penambahan NAA

Pertumbuhan akar yang terhambat pada perlakuan yang lain diakibatkan oleh level konsentrasi sitokinin yang lebih besar dari auksin. Konsentrasi auksin yang lebih tinggi juga mempengaruhi waktu terbentuknya akar pada eksplan. Waktu terbentuknya akar pada perlakuan M1B0 (0 ppm BAP + 0.2 ppm NAA) merupakan yang tercepat bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain (disajikan pada Tabel 10). Hal ini dijelaskan oleh Chawla (2002) yang menyatakan bahwa konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi meningkatkan pembentukan tunas akan tetapi pada umumnya menghambat perakaran. Gaba (2005) juga menjelaskan bahwa pemberian sitokinin dalam konsentrasi tinggi akan menghambat perkembangan akar. Hal ini juga diduga karena faktor endogen seperti auksin dan

karbohidrat yang berperan dalam inisiasi akar setek serta translokasi karbohidrat dari daun dan batang sehingga dapat menyokong pembentukan akar (Hartman dan Kester, 1983).

Berdasarkan hasil uji korelasi yang dilakukan, pertumbuhan akar karena pengaruh konsentrasi BAP berkorelasi negatif dengan pertumbuhan daun dan buku tunas ubi kayu. Data korelasi tersebut tersaji pada Lampiran 8. Korelasi negatif ini berarti pertambahan jumlah daun dan buku tidak diikuti oleh pertambahan akar.

Auksin Endogen Kultur Ubi Kayu

Auksin endogen yang terdapat pada eksplan ubi kayu Adira 2 diduga tergolong pada konsentrasi rendah. Hal ini terlihat dari besarnya jumlah dan persentase eksplan berkalus pada perlakuan dan banyaknya akar yang muncul pada perlakuan tanpa BAP dan kontrol. Hal ini dapat dilihat pada tabel 3. Pierik (1987) menjelaskan bahwa auksin pada konsentrasi rendah, merangsang pembentukan akar yang dominan, sedangkan dalam konsentrasi tinggi, pembentukan akar akan menjadi berkurang dan peranannya berubah menjadi pembentukan kalus.

Kondisi ini juga terlihat sejak masa pre kondisi, dimana eksplan yg telah disterilisasi ditanam pada media MS0 yang menggunakan agar-agar komersil, pertumbuhan akar lebih cepat dan banyak bila dibandingkan dengan pertumbuhan tunas. Hal ini memberikan informasi bahwa untuk multiplikasi ubi kayu Adira 2 tidak perlu digunakan auksin sintetik ataupun dapat digunakan konsentrasi auksin yang rendah mengingat adanya aktivitas auksin endogen dalam ubi kayu.

Besarnya jumlah eksplan berkalus mungkin juga disebabkan oleh penambahan auksin eksogen. Hal ini seperti ditulis oleh Alfas (2009) yang menyatakan bahwa penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur.

Aklimatisasi

Aklimatisasi ditujukan untuk melihat persentase daya hidup eksplan di lingkungan *in vivo*. Karena pada sebagian besar eksplan tidak tumbuh akar, maka aklimatisasi menggunakan eksplan yang dipotong (*micro-cutting*) dari tunas *in vitro* ubi kayu seperti *micro cutting* yang dilakukan pada eksplan *in vitro* kentang. Eksplan yang di aklimatisasi berumur 8 MST. Media yang digunakan adalah campuran arang sekam dan kompos yang telah disterilisasi dengan perbandingan 1:1. Pemilihan arang sekam ini didasarkan pada informasi sebelumnya yang menyatakan bahwa arang sekam dapat meningkatkan kemampuan planlet memproduksi akar dan meningkatkan kemampuan fotosintesis planlet (Douglas, 1985). Hanya eksplan yang bertunas yang diaklimatisasi. Deskripsi planlet ubi kayu sebelum diaklimatisasi disajikan pada Tabel 11. Eksplan-eksplan tersebut berasal dari beberapa perlakuan. Gambar kondisi awal planlet saat aklimatisasi tersaji pada Gambar 20.



Gambar 20. Kondisi awal planlet ubi kayu (*Mannihot esculenta*) saat aklimatisasi

Keberhasilan aklimatisasi ubi kayu ini masih belum optimal. Hal ini berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa daya hidup eksplan ubi kayu yang berasal dari *in vitro* masih sangat rendah (Tabel 12). Dari 16 jumlah aklimatisasi, hampir semua tanaman hanya mampu bertahan sampai 5 HSA (hari setelah aklimatisasi). Namun ada beberapa yang sanggup bertahan sampai 7 HSA. Hanya perlakuan M1B1 yang sanggup bertahan sampai 10 HSA.

Tabel 11. Kondisi awal planlet *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*) sebelum aklimatisasi

| Perlakuan | Jumlah aklimatisasi | Kondisi Awal Eksplan |
|-----------|---------------------|--|
| M1B0 | 4 | 2 Eksplan berupa tunas, akar dengan jumlah akar 7 dan 15 akar, daun (2 helai) 1 eksplan berupa tunas, daun (4 helai), dan 16 akar. 1 eksplan hanya berupa tunas dan daun (3 helai). |
| M1B1 | 3 | Tunas tumbuh bersama-sama dengan terbentuknya kalus. 2 eksplan masing-masing berupa 1 tunas dan daun (4 dan 2 helai). Kedua eksplan tersebut ditanam bersama dengan kalus yang terdapat pada pangkal tunas. 1 eksplan lagi hanya berupa 1 tunas dan 1 helai daun. |
| M1B2 | 3 | Tunas yang tumbuh berasal dari regenerasi kalus. Eksplan yang diaklimatisasi berasal dari 2 botol ulangan. Masing-masing kalus menghasilkan 2 tunas. Tunas di tanam bersama dengan kalus. |
| M1B3 | 4 | Tunas ada yang tumbuh bersamaan dengan terbentuknya kalus dan ada juga yang berasal dari regenerasi kalus. Eksplan yang diaklimatisasi berasal dari 2 botol ulangan. Masing-masing kalus terdapat 2 dan 5 tunas. Kalus yang berada di pangkal tunas ditanam bersama tunas. |
| M1B4 | 2 | Tunas yang tumbuh berasal dari regenerasi kalus. Eksplan berasal dari 1 botol ulangan. |

Tabel 12. Daya hidup planlet ubi kayu (*Mannihot esculenta*) pada saat aklimatisasi

| Perlakuan | \sum awal | \sum tanaman hidup | | | \sum tanaman mati | | |
|-----------|----------------|----------------------|---------|---------|---------------------|---------|---------|
| | | 5 | 7 | 10 |HSA..... | 5 | 7 |
| M1B0 | 4 | 3(75) | 2(50) | 0(0) | 1(25) | 2(50) | 4(100) |
| M1B1 | 3 | 2(66,6) | 2(66,6) | 1(33,3) | 1(33,3) | 1(33,3) | 2(66,6) |

| | | | | | | | |
|------|---|---------|---------|------|---------|---------|--------|
| M1B2 | 3 | 2(66,6) | 1(33,3) | 0(0) | 1(33,3) | 2(66,6) | 3(100) |
| M1B3 | 4 | 2(50) | 1(25) | 0(0) | 2(50) | 3(75) | 4(100) |
| M1B4 | 2 | 0(0) | - | - | 2(100) | - | - |

Keterangan : Angka dalam tanda kurung menunjukkan persentase (%)

Ketidaknormalan planlet diduga mempengaruhi tingkat adaptasi di lingkungan *in vivo*. Ziv (1986) menjelaskan bahwa kondisi planlet saat aklimatisasi memiliki morfologi daun yang tidak normal, stomata yang tidak sempurna, serta daya adaptabilitas yang rendah.

Perubahan lingkungan tumbuh dari heterotrof ke autotrof juga mempengaruhi daya hidup planlet saat aklimatisasi. Pada saat aklimatisasi, tanaman asal kultur jaringan ini belum mampu untuk berfotosintesis sehingga ada periode transisi dari tanaman supaya dapat melakukan proses fotosintesis untuk memenuhi kebutuhan karbohidratnya sendiri (menjadi autotrof). Oleh karena itu, pada tahap awal aklimatisasi dibuat lingkungan tumbuh planlet yang dapat meningkatkan daya tahan planlet sebelum ataupun pada saat aklimatisasi.

Banyaknya akar pada beberapa planlet tidak berpengaruh terhadap daya hidup planlet di aklimatisasi. Bahkan dari data di atas planlet yang berakar hanya mampu bertahan sampai 7 HSA. Hal ini tidak sesuai dengan informasi yang diperoleh yang menyatakan bahwa planlet ubi kayu yang telah mempunyai 2 helai akar sudah dapat dipindahkan ke pot yang berisi campuran tanah dan kompos (Sudarmonowati *et al.*, 2002).

Umur planlet yang masih muda dan kelembapan lingkungan yang belum optimal diduga menjadi faktor lain yang mempengaruhi belum berhasilnya aklimatisasi ini. Di masa mendatang, tingkat daya hidup planlet saat aklimatisasi dapat meningkat salah satunya dengan memanjangkan umur planlet di kultur *in vitro*. Apabila akan diaklimatisasi dalam umur yang masih muda dapat dilakukan terlebih dahulu proses *hardening*. *Hardening* merupakan fase pengadaptasian planlet pada tahap *in vitro* dimana planlet ditumbuhkan pada lingkungan tanpa suplai karbohidrat sehingga mulai mengadakan fotosintesis sendiri dan menyangkut perpanjangan tunas dan akar (Armini *et al.*, 1992).

Tanaman yang berasal dari kultur jaringan sering memperlihatkan lapisan lilin (kutikula) yang kurang berkembang sebagai akibat tingginya kelembapan di dalam wadah kultur (90-100%). Hal ini mengakibatkan tanaman kehilangan air dalam jumlah yang banyak melalui evaporasi kutikula pada saat tanaman dipindahkan ke lapang karena kelembapan udara pada kondisi *in vivo* jauh lebih rendah (Zulkarnain, 2009). Untuk mengatasi hal tersebut, aklimatisasi hendaknya dilakukan dengan menurunkan kelembapan udara secara bertahap selama 1-4 minggu (Kane, 2005), yaitu dengan menempatkan planlet dibawah sungkup plastik pada tahap awal, selanjutnya plastik dibuka dan planlet dipelihara dibawah naungan sebelum akhirnya dipindahkan ke lapangan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Media dasar MS merupakan media yang paling efektif untuk multiplikasi tunas ubi kayu. Jumlah tunas terbanyak yang mampu dihasilkan media dasar MS yaitu sebanyak 1.26 tunas per eksplan. Penambahan BAP pada berbagai taraf konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap beberapa peubah pada eksplan Adira 2, namun berpengaruh nyata pada peubah jumlah akar. Untuk penggandaan tunas terbaik diperoleh dari penambahan 1.5 ppm BAP yaitu sebanyak 1.16 tunas per eksplan.

Hasil aklimatisasi planlet kultur *in vitro* ubi kayu menunjukkan masih rendahnya daya hidup planlet di lingkungan *in vivo*. Sebagian besar hanya bertahan sampai 5 hari setelah aklimatisasi (HSA) meskipun terdapat tanaman yang bertahan sampai 10 HSA yaitu planlet dari kombinasi perlakuan media dasar MS+0.5 ppm BAP. Secara umum, hasil yang diperoleh dari penelitian ini belum optimal dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan hasil yang maksimal.

Saran

Belum optimalnya jumlah tunas yang dihasilkan disebabkan belum optimal konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Karenanya perlu ada penelitian lanjutan mengenai multiplikasi ubi kayu dengan penggunaan zat pengatur tumbuh lain yang sesuai atau dengan menggunakan berbagai level konsentrasi BAP yang lebih ekonomis. Karena diduga adanya auksin endogen pada kultur ubi kayu, maka untuk penelitian multiplikasi ubi kayu selanjutnya, auksin sintetik tidak perlu ditambahkan atau ditambahkan dalam konsentrasi yang rendah (< 2 ppm). Untuk memperbaiki tingkat daya hidup planlet saat aklimatisasi maka perlu ditingkatkan kualitas dan ketegaran planlet dengan menambahkan *kalsium pantotenat* (Ca-P) dan N-organik seperti *casein hidrolisat*, serta memperpanjang umur planlet di kultur *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfas. 2009. Auksin. <http://blog.www.unila.ac.id> [5 Desember 2009].
- Arteca, R. N. 1996. Plant Growth Substances: Principles and Application. Chapman and Hall. International Thomson Publishing: New York. 332p.
- Armini, N. M., G. A. Wattimena, L. W. Gunawan. 1992. Perbanyak Tanaman: Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB, Bogor:309 hal.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. 1993. Deskripsi Varietas Unggul Palawija Jagung, Sorgum, Kacang-kacangan, dan Ubi-ubian 1918-1992. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. Hal 143-144.
- Balitkabi. 2001. Laporan Tahunan Balitkabi Tahun 2000. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang. Hal 52-62.
- Beyl, C.A. 2005. Getting started with tissue culture: media preparation, sterile technique, and laboratory equipment, p 19-37. *In* R.J. Trigiano and D.J.Gray (Eds.). Plant Development and Biotechnology. CRC Press: Florida.
- Cachita, C. D. and C. Cracium. 1990. Ultrastructural respon studies on some ornamentals, p 57-87. *In*: Ammirato, P.V., D.A. Evans, W. R. Sharp, Y.P.S. Bajaj (eds). Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 5. McGraw-Hill Co. New York.
- Chawla, H. S. 2002. Introduction to Plant Biotechnology 2nd Edition. Science Publisher Inc.: New Hampshire. 532p.
- Davies, P. J. 2004. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!. Kluwer Academic Publisher. London.
- Douglas, J.S. 1985. Advanced Guide to Hydroponics. London: Pelham Books.
- Gaba, V. B. 2005. Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development. *In* : R.J. Trigiano and D.J. Gray (Eds.). Plant Development and Bioechnology. CRC Press. London.
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Handbook and Directory of Comercial Laboratories. Exegetics Ltd.,Everslay. Basingtoke. England. 709 p.

- Gamborg, O. L., G. C. Phillips. 1995. Media Preparation and Handling, p 21-33. *In Gamborg and Phillips (Eds.). Springer-Verlag:Berlin.*
- Gao, Y. P., H. Motosugi, dan A. Sugiwara. 1992. Rootstock effects on growth and flowering in young apple trees grown with ammonium and nitrate nitrogen. *Hort Science*, 117: 446-452.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB, Bogor :303 hal.
- Gunawan, L.W. 1992. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB, Bogor:309 hal.
- Flick, C.E., D.A. Evans, dan W.R. Sharp. 1983. Organogenesis in Y. Yamada (ed). *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 1 : *Techniques for Propagation and Breeding*. New York: Macmillan Publishing Company.
- Hartmann, H. T. dan D. E. Kester. 1983. Plant propagation, principles, and practice, p. 523-280. *In Englewood Cliffs (Ed.). Prentice-Hall inc, New Jersey.*
- Hutami, S. 2008. Masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal Agro Biogen*. Vol 4:2. Hal 83-88.
- Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian, DKI Jakarta. 1996. Pakan aayam buras. 19 hal. <http://www.pustaka-deptan.go.id/agritek/dkij0110.pdf>. [19 Januari 2010]
- Kane, M.E. 2005. Shoot Culture Procedures. *In : R.J. Trigiano and D.J. Gray (Eds.). Plant Development and Bioengineering*. CRC Press. London.
- Kartha, K.K. 1982. Organogenesis dan embryogenesis dalam Wetter, L. R. and F. Constabel. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Mathilda B. Widodo (Penerjemah). Penerbit ITB, Bandung.
- Le, B.V., Anh, B.L., Soytong, K., Danh, N.D. and Anh Hong, L.T. 2007. Plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) plants. *Journal of Agricultural Technology*. 3(1): 121-127.
- Lestari, E.G. 2008. Kultur Jaringan: Menjawab Persoalan Pemenuhan Kebutuhan Akan Peningkatan Kualitas Bibit Unggul dan Perbanyakannya secara Besar-besaran. AkaDemia:Bogor. 60 hal.
- Lingga, P. dkk. 1986. Bertanam Ubi-ubian. Penebar Swadaya: Jakarta. 285 hal.
- Maryani, Y. dan Zamroni. 2005. Penggandaan tunas krisan melalui kultur jaringan. *Jurnal Ilmu Pertanian*. Vol 12:1. Hal 51-55.

- Medina, R. D.,*et al.* 2006. In vitro cultured primary roots derived from stem segments of cassava (*Manihot esculenta*) can behave like storage organs. Oxford Journal. 10:1093.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue. Pev. Plant Physiol. 15 :473-497.
- Night Elf. 2008. Ubi kayu: bahan pangan nomor dua, bahan bakar nomor satu. <http://prapanca21.wordpress.com>. [19 Januari2010]
- Night Elf. 2009. Budidaya dan pengembangan ubi kayu sebagai komoditas agroindustri. //<http://www.wordpress.com>. [27 Juni 2009]
- Nweke, FI., Spencer, SCD., Lynam, KJ. 2002. The Cassava Transformation. Africa Best Kept Secret. Michigan State University Press, East Lansing:Michigan. 273p.
- Onuoch, C. I. and Onwubiku, N. I. C. 2007. Micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using different concentrations of *benzylaminopurine* (BAP). Journal of Engineering and Applied Sciences. 2 (7):1229-1231.
- Pardal, S.J., I. Mariska, E.G. Lestari, dan Slamet. 2004. Regenerasi tanaman dan transformasi genetik salak pondoh untuk rekayasa buah partenokarpik. Jurnal Bioteknologi Pertanian. Vol. 9(2):49-55.
- Pierik, R. L. M. 1987. In vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publ., Netherlands. 344 p.
- Phillips, G. C., J.F. Hubstenberger, and E. E. Hansen. 2004. Plant regeneration from callus and cell suspension cultures by somatic embryogenesis, p 81-90. In Plant Cell, Tissue and Organ Culture Fundamental Methods. O.L. Gamborg and G.C Phillips (*Eds.*). Springer-Verlag:Berlin.
- Prihardana, R. et al. 2007. Bioetanol Ubikayu : Bahan Bakar Masa Depan. Agromedia Pustaka: Jakarta. 194 hal.
- Purwono dan H. Purnamawati. 2007. Budidaya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggul. Penebar Swadaya: Jakarta. 139 hal.
- Roca, WM., Henry G., Angel F., Sarria R. 1992. Biotechnology Research Applied to Cassava Improvement at The International Center of Tropical Agriculture (CIAT).

- Raemakers, C.J.J.M., Jacobsen, E., & Visser, R.G.F. 1993. Somatic embryogenesis and transformation of cassava. *Dalam: W.M. Roca & A.M. Thro. (eds.). Proceedings 1st International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network.* Cartagena, 25-28 August 1992.
- Soetanto, N.E. 2008. Tepung Kasava dan Olahannya. Kanisius:Yogyakarta.81 hal.
- Suryana, A. 2009. Dukungan kebijakan pengembangan industri tepung *cassava*. Prosiding Lokakarya Nasional: Akselerasi Industrialisasi Tepung *Cassava* untuk Memperkokoh Ketahanan Pangan Nasional. BULOG dan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Jakarta.
- Suwarto. 2009. Peningkatan produktivitas *cassava* : analisis kesenjangan produksi potensial dengan produkdi riil. Prosiding Lokakarya Nasional: Akselerasi Industrialisasi Tepung *Cassava* untuk Memperkokoh Ketahanan Pangan Nasional. BULOG dan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Jakarta.
- Sudarmonowti, E. 1994. Induction Somatic Embryogenesis of Indonesian Cassava Genotypes. *Proceedings of 2nd International Scientific Meeting, Cassava Biotechnology Network.* Bogor, August 22-24 1994.
- Sudarmonowati, E., R. Hartati, T. Taryana. 2002. Produksi, Regenerasi dan Evaluasi Hasil Ubi Kayu (*Mannihot esculenta*) Indonesia Asal Kultur Jaringan di Lapang. Pusat Penelitian Bioteknologi. LIPI: Cibinong.
- Survei Sosial Ekonomi Nasional. 2008. Modul Konsumsi 1999, 2002-2008. <http://www.bps.go.id> [20 Juni 2009].
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor. 145 hal.
- Wattimena, G. A. 1989. Zat pengatur tumbuh : peran fisiologis dan dasar-dasar pemakaian. Bul. Agron.(edisi khusus November): 28-49.
- Wattimena, G. A. dan N. A. Mattjik. 1992. Bioteknologi Tanaman: Pemuliaan tanaman secara *in vitro*. Laboratorium kultur jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. 309 hal.
- Wetter, L. R. and F. Constabel. 1982. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Mathilda B. Widodo (Penerjemah). Penerbit ITB, Bandung.
- Wightman, F., E. A. Scheneider, and K. V. Thimann. 1980. Hormonal Factors Controlling the Initiaton and Development of Lateral Roots II. Effects of Exogenous Growth Factors on Lateral Root Formation in Pea Roots. *Physiol. Plant.* 49:304-314.

- Wijaya, K.A. 2008. Nutrisi Tanaman sebagai Penentu Kualitas Hasil dan Resistensi Tanaman. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta. 121 hal.
- Winarto, B. 2004. Modifikasi konsentrasi NH₄NO₃ dan CaCl₂ medium MS terhadap pertumbuhan tanaman. Jurnal Agrosains. 6(2):45-52.
- Ziv, M. 1986. *In vitro* hardening and acclimatization of tissue culture plants. *Dalam*: Withers LA dan Anderson P.G. (eds). Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications. London: Butterworths.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Bumi Aksara:Jakarta.249 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Deskripsi ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2

| Deskripsi | Keterangan |
|-----------------------------|--|
| Tahun pelepasan | 1978 |
| No seleksi klon | W-236 |
| Asal | Persilangan Mangi/Ambon, Bogor 1957 |
| Umur | 8-12 bulan |
| Tinggi batang | 2-3 meter |
| Bentuk daun | Menjari agak lonjong dan gemuk |
| Warna pucuk daun | Ungu |
| - Tangkai daun | Merah muda (bagian atas) dan hijau muda (bagian bawah) |
| - Batang muda | Hijau muda |
| - Batang tua | Putih cokelat |
| - Kulit umbi | Putih cokelat (bagian luar) dan ungu muda (bagian dalam) |
| - Daging umbi | Putih |
| Kualitas rebus | Baik |
| Rasa | Agak pahit |
| Kadar tepung | 41% |
| Kadar protein | 0.7% (basah) |
| HCN | 124 mg/kg |
| Hasil rata-rata | 22 ton/ha |
| Ketahanan terhadap penyakit | Tahan penyakit layu (<i>Pseudomonas solancearum</i>) |

Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993.

Lampiran 2. Komposisi Media Murashige-Skoog (1962)

| Nama Stok | Bahan Kimia | Konsentrasi Dalam Media MS (mg/L) | Konsentrasi Dalam Larutan Stok (mg/L) | Volume yang dipipet/Liter media (ml) |
|------------------|---|--|--|---|
| Makro A | NH ₄ NO ₃ | 1650 | 16500 | 10 |
| | KNO ₃ | 1900 | 19000 | |
| | MgSO ₄ .7H ₂ O | 370 | 3700 | |
| | KH ₂ PO ₄ | 170 | 1700 | |
| Ca | CaCl ₂ .2H ₂ O | 440 | 22000 | 20 |
| Mikro A | H ₃ BO ₃ | 6.2 | 620 | 10 |
| | MnSO ₄ .4H ₂ O | 16.9 | 1690 | |
| | ZnSO ₄ .7H ₂ O | 8.6 | 860 | |
| Mikro B | KI | 0.830 | 830 | |
| | Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O | 0.250 | 250 | |
| | CuSO ₄ .5H ₂ O | 0.025 | 25 | |
| | CoCl ₂ .6H ₂ O | 0.025 | 25 | |
| Fe | FeSO ₄ .7H ₂ O | 27.8 | 2780 | 10 |
| | NaEDTA | 37.3 | 3730 | |
| Vitamin | Thiamin-HCl | 0.1 | 10 | |
| | Piridoksin-HCl | 0.5 | 50 | |
| | Nicotinic Acid | 0.5 | 50 | |
| | Glysin | 2.0 | 200 | |
| Myo | Myo Inositol | 100 | 5000 | |
| | | | Tidak dibuat | |
| | Gula | 30000 | stok | |
| | | | Tidak dibuat | |
| | Agar | 7000-8000 | stok | |

Lampiran 3. Jumlah dan persentase kontaminasi kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan | Jumlah eksplan awal | MST | | | | | | | | Rata-rata | Percentase (%) |
|-----------|---------------------|------|------|------|---|---|---|---|---|-----------|----------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | |
| M1B0 | 9 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.125 | 1.39 |
| M1B1 | 9 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.25 | 2.78 |
| M1B2 | 9 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.375 | 4.17 |
| M1B3 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M1B4 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B0 | 9 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.25 | 2.78 |
| M2B1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B2 | 9 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.5 | 5.55 |
| M2B3 | 9 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.125 | 1.39 |
| M2B4 | 9 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.125 | 1.39 |
| Kontrol | 9 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.25 | 2.78 |
| Jumlah | 99 | 6 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 22.33 |
| Rata-rata | | 0.54 | 0.45 | 0.45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |

Lampiran 4. Jumlah dan persentase eksplan bertunas kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan | Jumlah Eksplan | MST | | | | | | | | Rata-rata | Persentase (%) |
|------------------|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------|----------------|
| | | Awal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| M1B0 | 9 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2.75 | 30.55 |
| M1B1 | 9 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3.5 | 38.89 |
| M1B2 | 9 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 22.22 |
| M1B3 | 9 | 2 | 2 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 4.625 | 51.39 |
| M1B4 | 9 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4.625 | 51.39 |
| M2B0 | 9 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2.125 | 23.61 |
| M2B1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B2 | 9 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 22.22 |
| M2B3 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 11.11 |
| M2B4 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 11.11 |
| Kontrol | 9 | 3 | 4 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5.375 | 59.72 |
| Jumlah | 99 | 23 | 23 | 27 | 32 | 32 | 32 | 31 | 32 | | |
| Rata-rata | | 2.09 | 2.09 | 2.45 | 2.90 | 2.90 | 2.90 | 2.81 | 2.90 | | |

Lampiran 5. Jumlah dan persentase eksplan berakar kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan | Jumlah Eksplan Awal | MST | | | | | | | | Rata- rata | Percentase (%) |
|------------------|------------------------|------|------|------|------|------|------|----|----|---------------|-------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | |
| M1B0 | 9 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 33.33 |
| M1B1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.5 | 5.55 |
| M1B2 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M1B3 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M1B4 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B2 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B3 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M2B4 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kontrol | 9 | 1 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 4.5 | 50 |
| Jumlah | 99 | 3 | 6 | 7 | 8 | 9 | 9 | 11 | 11 | | |
| Rata-rata | | 0.27 | 0.54 | 0.63 | 0.72 | 0.81 | 0.81 | 1 | 1 | | |

Lampiran 6. Jumlah dan persentase eksplan berkalus kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

Lampiran 7. Perubahan warna kalus eksplan kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| Perlakuan | MST | | | | | | | |
|-----------|------------------|--------------------|-------------------|---------------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| M1B0 | Hijau | Putih | Putih | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M1B1 | Hijau | Putih kehijauan | Putih cokelat | Cokelat putih | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M1B2 | Hijau | Putih kehijauan | Putih kecokelatan | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M1B3 | Hijau | Putih | Putih cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M1B4 | Hijau | Putih | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M2B0 | Hijau | Hijau putih | Hijau kekuningan | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M2B1 | Hijau | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M2B2 | Hijau | Hijau cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M2B3 | Kuning kehijauan | Kuning kecokelatan | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |
| M2B4 | Hijau | Hijau kekuningan | Hijau kecokelatan | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat | Cokelat |

Lampiran 8. Sidik ragam korelasi antar peubah kultur *in vitro* ubi kayu (*Mannihot esculenta*)

| | Tunas | Daun | Buku | Tinggi | Akar |
|--------|-------|-------|--------|--------|-------|
| Tunas | - | 0.72* | 0.89** | 0.79** | 0.014 |
| Daun | | - | 0.92** | 0.65 * | -0.10 |
| Buku | | | - | 0.79** | -0.09 |
| Tinggi | | | | - | 0.22 |
| Akar | | | | | - |

Lampiran 9. Sidik ragam tunas kultur *in vitro* ubi kayu (setelah transformasi)

| Umur (MST) | SK | Db | Kuadrat Tengah | Pr > F | KK (%) |
|---------------|-----------|----|-------------------|--------|-----------|
| 1 | Perlakuan | 10 | 0.05 | tn | 26.88 |
| | Galat | 88 | 0.05 | | |
| 2 | Perlakuan | 10 | 0.1 | tn | 29.09 |
| | Galat | 82 | 0.06 | | |
| 3 | Perlakuan | 10 | 0.24 | ** | 30.21 |
| | Galat | 78 | 0.08 | | |
| 4 | Perlakuan | 10 | 0.32 | ** | 32.49 |
| | Galat | 70 | 0.1 | | |
| 5 | Perlakuan | 10 | 0.5 | ** | 35.48 |
| | Galat | 70 | 0.13 | | |
| 6 | Perlakuan | 10 | 0.57 | ** | 35.57 |
| | Galat | 70 | 0.14 | | |
| 7 | Perlakuan | 10 | 0.64 | ** | 35.97 |
| | Galat | 70 | 0.14 | | |
| 8 | Perlakuan | 10 | 0.65 | ** | 35.97 |
| | Galat | 70 | 0.14 | | |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p>5\%$) * = berpengaruh nyata ($p<5\%$)
 ** = berpengaruh sangat nyata ($p<1\%$)

Lampiran 10. Sidik ragam jumlah daun total kultur *in vitro* ubi kayu (setelah transformasi)

| Umur (MST) | SK | Db | Kuadrat Tengah | Pr > F | KK (%) |
|------------|-----------|----|----------------|--------|--------|
| 1 | Perlakuan | 10 | 0.03 | tn | 20.72 |
| | Galat | 88 | 0.02 | | |
| 2 | Perlakuan | 10 | 0.23 | tn | 42.65 |
| | Galat | 82 | 0.15 | | |
| 3 | Perlakuan | 10 | 1.19 | ** | 53.33 |
| | Galat | 78 | 0.33 | | |
| 4 | Perlakuan | 10 | 1.85 | ** | 60.11 |
| | Galat | 70 | 0.57 | | |
| 5 | Perlakuan | 10 | 3.18 | ** | 67.1 |
| | Galat | 70 | 0.89 | | |
| 6 | Perlakuan | 10 | 3.91 | ** | 74.78 |
| | Galat | 70 | 1.21 | | |
| 7 | Perlakuan | 10 | 4.4 | ** | 75.11 |
| | Galat | 70 | 1.29 | | |
| 8 | Perlakuan | 10 | 5.45 | ** | 77.71 |
| | Galat | 70 | 1.53 | | |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p>5\%$) * = berpengaruh nyata ($p<5\%$)
 ** = berpengaruh sangat nyata ($p<1\%$)

Lampiran 11. Sidik ragam jumlah buku per tunas kultur *in vitro* ubi kayu (setelah transformasi)

| Umur (MST) | SK | Db | Kuadrat Tengah | Pr > F | KK (%) |
|------------|-----------|----|----------------|--------|--------|
| 1 | Perlakuan | 10 | 0.06 | tn | 26.08 |
| | Galat | 88 | 0.04 | | |
| 2 | Perlakuan | 10 | 0.28 | * | 39.43 |
| | Galat | 82 | 0.11 | | |
| 3 | Perlakuan | 10 | 1.15 | ** | 53.76 |
| | Galat | 78 | 0.46 | | |
| 4 | Perlakuan | 10 | 2.18 | ** | 60.63 |
| | Galat | 70 | 0.56 | | |
| 5 | Perlakuan | 10 | 2.37 | * | 78.58 |
| | Galat | 70 | 0.97 | | |
| 6 | Perlakuan | 10 | 3.45 | ** | 83.34 |
| | Galat | 70 | 1.27 | | |
| 7 | Perlakuan | 10 | 4.28 | ** | 86.14 |
| | Galat | 70 | 1.38 | | |
| 8 | Perlakuan | 10 | 4.53 | ** | 87.04 |
| | Galat | 70 | 1.53 | | |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p>5\%$) * = berpengaruh nyata ($p<5\%$)
 ** = berpengaruh sangat nyata ($p<1\%$)

Lampiran 12. Sidik ragam jumlah akar per eksplan kultur *in vitro* ubi kayu (setelah transformasi)

| Umur (MST) | SK | Db | Kuadrat Tengah | Pr > F | KK (%) |
|------------|-----------|----|----------------|--------|--------|
| 1 | Perlakuan | 10 | 0.12 | * | 32.11 |
| | Galat | 88 | 0.05 | | |
| 2 | Perlakuan | 10 | 0.44 | ** | 47.78 |
| | Galat | 82 | 0.14 | | |
| 3 | Perlakuan | 10 | 0.68 | ** | 48.57 |
| | Galat | 78 | 0.15 | | |
| 4 | Perlakuan | 10 | 1.15 | ** | 55.27 |
| | Galat | 70 | 0.23 | | |
| 5 | Perlakuan | 10 | 1.15 | ** | 54.85 |
| | Galat | 70 | 0.23 | | |
| 6 | Perlakuan | 10 | 1.2 | ** | 56.31 |
| | Galat | 70 | 0.25 | | |
| 7 | Perlakuan | 10 | 1.52 | ** | 56.05 |
| | Galat | 70 | 0.26 | | |
| 8 | Perlakuan | 10 | 1.83 | ** | 56.59 |
| | Galat | 70 | 0.28 | | |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p>5\%$) * = berpengaruh nyata ($p<5\%$)
** = berpengaruh sangat nyata ($p<1\%$)

Lampiran 13. Sidik ragam tinggi tunas tertinggi kultur *in vitro* ubi kayu (setelah transformasi)

| Umur (MST) | SK | Db | Kuadrat Tengah | Pr > F | KK (%) |
|------------|-----------|----|----------------|--------|--------|
| 3 | Perlakuan | 10 | 0.28 | ** | 35.31 |
| | Galat | 78 | 0.09 | | |
| 4 | Perlakuan | 10 | 0.44 | ** | 41.07 |
| | Galat | 70 | 0.15 | | |
| 5 | Perlakuan | 10 | 0.71 | ** | 45.38 |
| | Galat | 70 | 0.20 | | |
| 6 | Perlakuan | 10 | 1.43 | ** | 51.05 |
| | Galat | 70 | 0.29 | | |
| 7 | Perlakuan | 10 | 1.28 | ** | 57.01 |
| | Galat | 70 | 0.38 | | |
| 8 | Perlakuan | 10 | 1.62 | ** | 61.62 |
| | Galat | 70 | 0.49 | | |

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata ($p>5\%$) * = berpengaruh nyata ($p<5\%$)
 ** = berpengaruh sangat nyata ($p<1\%$)

