

Pertumbuhan *in vitro* stek mikro singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

***In vitro* Growth of Micro-cutting of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.)**

Ardian

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

ABSTRACT

Propagation of cassava through in vitro culture is needed by farmers and agro industries to fulfill the need of the best and the newest clone as soon as after that clone is released by government. The objective of this research is to know the effect of the application of some concentration sucrose and activated charcoal on in vitro and ex vitro growth of micro-cutting of cassava. Explants used were one-node cuttings of cassava, which were derived from sterile shoot culture. The explants were cultured on MS basal medium supplemented with 0,2 mg.l⁻¹ benzyl adenine. This research was arranged in completely randomized design with the treatments consisting of some concentrations of sucrose: 3%, 4% and 5% and concentration of activated charcoal: 0% and 0,1%. Each treatment was replicated 7 times with 4 explants in each experiment unit. The best growth micro-cutting of cassava in vitro was achieved by treatment of 3% sucrose without activated charcoal.

Keywords: Micro-cutting, Cassava

Diterima: 02-07-2010, disetujui: 03-09-2010

PENDAHULUAN

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

Percepatan kenaikan kebutuhan bahan baku singkong tidak seiring dengan pertambahan jumlah lahan yang dapat ditanami singkong. Selain itu kebutuhan akan bahan baku singkong sebagai bahan baku industri tepung tapioka, glukosa, dextrin, asam sitrat (Esti dan Prihatman, 2000) semakin meningkat seiring dengan diversifikasi industri pengolahan bahan baku singkong menjadi bioetanol

(FAO, 2007). Hal ini perlu diantisipasi melalui intensifikasi dalam budidaya singkong untuk meningkatkan produktivitas lahan. Salah satunya dengan penggunaan varietas baru yang berproduksi dan berkadar pati tinggi dalam pengembangan tanaman singkong di tingkat petani dan industri pengolahan ubi singkong.

Masalah selanjutnya adalah setelah varietas unggul yang baru dirakit melalui pemuliaan atau dari introduksi dapat dirilis pemerintah, tidak serta merta dapat diperoleh petani singkong dengan mudah dan dalam jumlah banyak. Hal ini disebabkan terbatasnya jumlah bibit yang dapat disebar atau didistribusikan dalam waktu relatif singkat, karena dari satu tanaman singkong hanya diperoleh sekitar 10 stek saja setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (BIP, 1995). Sedangkan stek yang diperlukan untuk penanaman singkong secara monokultur satu hektarnya saja sekitar 10.000 - 14.000 stek. Sehingga diperlukan suatu teknik perbanyakan vegetatif yang secara cepat memenuhi kebutuhan petani untuk skala yang luas dan dalam jumlah yang banyak dan pada akhirnya keunggulan varietas baru tersebut dapat cepat dirasakan oleh masyarakat petani singkong. Salah satu cara untuk mengatasi kendala dalam produksi bibit singkong adalah dengan cara perbanyakan secara *in vitro*. Ardian dan Yuliadi (2009) telah mendapatkan teknik perbanyakan stek mikro tanaman singkong secara *in vitro* yang *true-to-type*. Akan tetapi setelah stek mikro diperoleh perlu diketahui pertumbuhan stek tersebut secara *in vitro*.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan stek mikro satu buku *in vitro* adalah sukrosa yang berperan untuk memenuhi kebutuhan energi dan arang aktif yang biasanya digunakan untuk menyerap kelebihan zat yang mungkin menghambat perakaran. Sukrosa biasanya dihidrolisis sebagian atau seluruhnya menjadi komponen monosakarida glukosa dan fruktosa yang diserap oleh jaringan tanaman sebagian melalui transpor aktif dan sebagian lagi melalui penyerapan pasif (George dan Sherrington, 1984). Konsentrasi sukrosa yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 1 – 5% (Pierik, 1987). Akan tetapi kebutuhan sukrosa antara satu tanaman dengan lainnya akan berbeda dalam kuantitas dan kualitas tunas yang dihasilkan melalui perbanyakan tunas secara *in vitro*. Selain itu arang aktif banyak digunakan untuk mengurangi oksidasi senyawa fenol yang dapat memperbaiki pertumbuhan dan perkembangan sel tunas mikro (George dan Sherrington, 1984), dan biasa digunakan pada konsentrasi 0,1 % sampai 0,3% (Pierik, 1987).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi sukrosa dan arang aktif terhadap pertumbuhan stek mikro singkong secara *in vitro*.

METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman singkong varietas *Kasersart* asal penanaman Kecamatan Wonoasri, Lampung Utara, Lampung. Eksplan berupa stek mikro satu buku singkong steril dengan ukuran ± 1 cm, berasal dari perbanyakan stek mikro secara *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ benzyl adenine. Eksplan ditanam tegak lurus terhadap media dan dibenamkan $\frac{1}{3}$ bagiannya ke dalam media perlakuan. Media dasar yang digunakan adalah formulasi media Murashige dan Skoog (1962) tanpa zat pengatur tumbuh yang ditambahkan sukrosa dan arang aktif sesuai perlakuan. Media diatur pH nya pada 5,8 dan ditambahkan agar 5 g.l^{-1} , lalu dimasak dan dimasukkan ke dalam botol ukuran 250 ml dan tiap botol berisi 20 ml media. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan $1,2 \text{ kg.m}^{-2}$ selama 15 menit. Medium yang sudah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang kultur dengan suhu $26 \pm 2^\circ\text{C}$ dan intensitas cahaya ± 1000 lux dari lampu TL Philips 40 watt dengan periode penyinaran diatur 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Penelitian ini menggunakan rancangan teracak lengkap dengan perlakuan disusun secara faktorial (2 x 3). Faktor pertama adalah konsentrasi sukrosa yaitu, 2%; 3%; dan 4%. Faktor kedua adalah konsentrasi arang aktif yaitu, 0 dan 1 g/l. Kultur diamati setelah 4 minggu diinkubasi di ruang kultur dengan peubah: panjang tunas, jumlah buku, jumlah daun segar, jumlah daun kering, jumlah akar, dan panjang akar rata-rata.

Perbedaan nilai variable antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan,.

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

x_i = nilai pengamatan ke- i
 n = banyaknya pengamatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan panjang tunas terbaik dicapai oleh perlakuan arang aktif dengan konsentrasi sukrosa 2% dan 3% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Kecenderungan ini agak berbeda dengan peubah jumlah buku pada perlakuan dengan arang aktif 1 g.l⁻¹ dengan penambahan sukrosa 2% sampai 4% menghasilkan jumlah buku yang tidak berbeda nyata antar perlakuan, sedangkan perlakuan tanpa arang aktif penambahan sukrosa 3% jumlah bukunya lebih banyak dan berbeda nyata dengan penambahan sukrosa 2% dan 4%.

Perlakuan 3% dan 4% sukrosa tanpa arang aktif menghasilkan jumlah daun segar terbanyak dan jumlah daun kering tersedikit yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Karakter pertumbuhan tunas bagian atas (tajuk) terbaik yang didasarkan pada jumlah nilai `a` terbanyak dicapai oleh perlakuan 3% sukrosa tanpa arang aktif.

Tabel 1. Nilai rata-rata ± *standar error of the mean* panjang tunas, jumlah buku, jumlah daun segar, jumlah daun kering kultur *in vitro* singkong umur 6 minggu pada berbagai konsentrasi arang aktif dan sukrosa

Konsentrasi arang aktif dan sukrosa	Panjang Tunas	Jumlah buku	Jumlah daun segar	Jumlah daun kering
Arang 0 % Gula 2%	2,04 ± 0,328 d	3,81 ± 0,262 c	2,74 ± 0,217 c	1,11 ± 0,195 b
Arang 0 % Gula 3%	4,54 ± 0,398 b	4,74 ± 0,114 a	3,78 ± 0,180 a	0,93 ± 0,140 ab
Arang 0 % Gula 4%	3,43 ± 0,315 c	4,52 ± 0,112 b	3,78 ± 0,172 a	0,74 ± 0,147 a
Arang 0,1% Gula 2%	5,61 ± 0,403 a	4,78 ± 0,111 a	3,19 ± 0,193 b	1,59 ± 0,222 c
Arang 0,1% Gula 3%	6,27 ± 0,482 a	4,89 ± 0,165 a	2,29 ± 0,229 d	2,61 ± 0,214 d
Arang 0,1% Gula 4%	4,93 ± 0,249 b	4,88 ± 0,140 a	2,04 ± 0,130 d	2,85 ± 0,143 d

1) Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Nilai rata-rata ± *standar error of the mean* jumlah akar, panjang akar kultur *in vitro* singkong umur 6 minggu pada berbagai konsentrasi arang aktif dan sukrosa

Konsentrasi arang aktif dan sukrosa	Jumlah akar	Panjang akar
Arang 0 % Gula 2%	2,04 ± 0,299 c	2,73 ± 0,452 b
Arang 0 % Gula 3%	5,44 ± 0,404 a	5,21 ± 0,337 a
Arang 0 % Gula 4%	5,11 ± 0,431 a	5,46 ± 0,286 a
Arang 0,1% Gula 2%	3,11 ± 0,330 b	2,28 ± 0,261 b
Arang 0,1% Gula 3%	3,57 ± 0,444 b	1,45 ± 0,298 c
Arang 0,1% Gula 4%	2,81 ± 0,451 b	0,94 ± 0,211 d

1) Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

Pemberian 3% dan 4% sukrosa tanpa arang aktif menghasilkan pertumbuhan jumlah akar terbanyak dan panjang akar rata-rata terpanjang yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedikit berbeda dengan pertumbuhan tunas bagian atas, pertumbuhan tunas bagian akar terbaik yang didasarkan pada jumlah nilai `a` terbanyak dihasilkan oleh perlakuan 3% dan 4% sukrosa tanpa arang aktif.

Kecenderungan ini mirip pada kultur tunas *Lilium longiflorum* yang menghasilkan pembentukan tunas terbaik di media kultur dengan sukrosa 3% (Nhut, *et al.*, 2001). Pertumbuhan tajuk pada tunas mikro anggur juga diperoleh dengan media dengan sukrosa 3% dan pertukaran udara 2,5 h⁻¹ (Shim, Hahn dan Paek, 2003). Hal yang sama diperoleh pada kultur *Syzygium alternifolium* dengan sukrosa 3% yang menghasilkan persentase planlet berakar, jumlah akar dan panjang akar terbaik (Sha Valli Khan, Hausman dan Rao, 1999).

Sedikit berbeda pada kultur anyelir dengan sukrosa 2% menghasilkan pertumbuhan tunas dan akar terbaik (Schnapp dan Preece, 1986). Dan juga pada tunas mikro *Ceratonia siliqua* dengan perlakuan sukrosa 145 mM (2,61%) dapat menginduksi akar dengan frekuensi perakaran terbaik (Custodio, Loucao dan Romano, 2004).

Peningkatan pertumbuhan tajuk pada konsentrasi sukrosa 3% kemungkinan berkaitan dengan proses autotropik pada kultur *in vitro* yang memerlukan sukrosa sebagai sumber energi utama dan akan dipergunakan pada proses metabolisme jaringan tanaman tersebut (Thorpe, 1982).

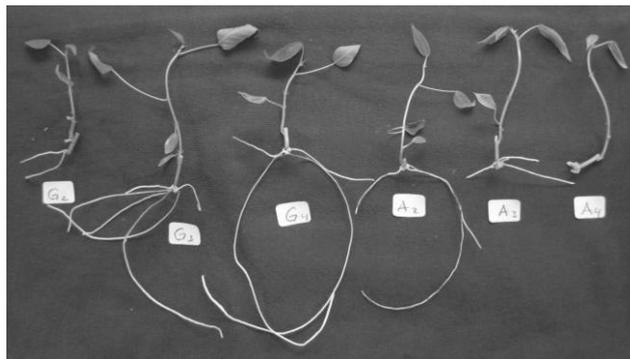
Kehadiran sukrosa dapat meningkatkan aktivitas Fosfoenol piruvat karboksilase (PEPC) yang penting dalam mekanisme carboxylase dan fiksasi CO₂ yang penting pada tahap pengakaran. Peningkatan aktivitas PEPC berperan pada suplai anplerotik pada rangka karbon untuk lintasan asam trikarboksilat dalam sintesis asam amino dan protein (Hdider dan Desjardius, 1994).

Tabel 3. Jumlah nilai `a` pada berbagai kombinasi konsentrasi arang aktif dan sukrosa

Konsentrasi arang aktif dan sukrosa	A 0 %	A 0 %	A 0 %	A 0,1 %	A 0,1 %	A 0,1 %
	G 2 %	G 3 %	G 4 %	G 2 %	G 3 %	G 4 %
Jumlah nilai `a`	0	5	4	2	2	1

Pengaruh sukrosa tanpa adanya arang aktif pada penelitian ini mirip dengan penelitian tunas mikro nilam *in vitro* yang jumlah akar lebih dipengaruhi oleh penambahan sukrosa 3% tanpa menggunakan arang aktif (Ardian, 2008). Hasil yang berbeda terjadi pada kultur *Muscari armeniacum* untuk pembentukan akar dari kalus yang terbentuk pada basal tunas mikro membutuhkan media dengan penambahan arang aktif (Peck dan Cumming, 1986).

Akan tetapi pada penelitian ini penambahan arang aktif cenderung menghambat pertumbuhan akar terutama pada jumlah dan panjang akarnya. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan akar pada stek mikro singkong *in vitro* tidak dihambat oleh auksin endogen yang terbentuk disekitar pangkal stek mikro. Arang aktif yang bersifat menyerap zat-zat yang terkandung pada media kultur *in vitro* diduga menyerap auksin endogen yang dihasilkan stek mikro sehingga pertumbuhan akar selanjutnya menjadi sangat berkurang. Hal tersebut dapat disebabkan arang aktif menyerap senyawa asam fenil asetat dan asam benzoat yang dikeluarkan jaringan tunas mikro dan terakumulasi pada media kultur yang dapat menghambat pembentukan akar (Fridborg, *et al.*, 1978). Selain itu kemungkinan arang aktif menyerap auksin atau sitokinin (Weatherhead, Burdon dan Hensaw, 1979) dan juga vitamin, tetapi tidak menyerap sukrosa dan myo-inositol (Weatherhead, *et al.*, 1978). Pertumbuhan *in vitro* stek mikro terbaik berdasarkan keseluruhan peubah yang diamati dengan melihat jumlah nilai `a` terbanyak dicapai oleh perlakuan 3% sukrosa tanpa arang aktif.



Gambar 1. Pertumbuhan stek mikro singkong *in vitro* pada media tanpa arang aktif dengan sukrosa konsentrasi 2% (G2) 3% (G3) dan 4% (G4) (kiri) serta media 0,1% arang aktif dengan sukrosa konsentrasi 2% (A2), 3% (A3) dan 4% (A4) (kanan)

KESIMPULAN

Perlakuan 3% sukrosa tanpa arang aktif menghasilkan pertumbuhan tunas bagian tajuk terbaik dari peubah pajang tunas, jumlah buku dan jumlah daun segar terbanyak serta jumlah daun kering tersedikit. Pemberian 3% dan 4% sukrosa tanpa arang aktif menghasilkan pertumbuhan jumlah akar terbanyak dan panjang akar rata-rata terpanjang yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Pendidikan Tinggi dan Universitas Lampung yang telah membiayai penelitian ini melalui program Hibah Penguasaan Teknologi DIPA Universitas Lampung tahun 2009 dengan nomor: 292/H.26/KU/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardian. 2008. Pertumbuhan *in vitro* dan *ex vitro* tunas mikro tanaman nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan perlakuan berbagai konsentrasi sukrosa dan arang aktif. J.Agrista: 36-42.
- Badan pusat Statistik Lampung. 2008. Lampung Dalam Angka 2006. BPS Lampung dan Bappeda Propinsi Lampung. 622 hlm.
- Balai Informasi Pertanian Irian Jaya. 1995. Budidaya Singkong (*Manihot esculenta* Cranz.). Lembar Informasi Pertanian, BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- Custodio, L., M.A.M. Loucao and A. Romano. 2004. Influence of sugars on *in vitro* rooting and acclimatization of carob tree. Biol.Plant. 48(3): 469-472.
- Esti dan K. Prihatman. 2000. Tepung tapioca. <http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/pangan>.
- Food and Agriculture Organization. 2007. Cassava. <http://www.fao.org>.

- Fridborg, G., M. Pedersen, L.E. Landstrom and T. Eriksson. 1978. The effect of activated charcoal on tissue cultures: adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol. Plant.* 43: 104-106.
- George, F.E. and P.D. Sherington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd. England.
- Hdider, C. and Y. Desjardius. 1994. Effect of sucrose on photosynthesis and phosphoenolpyruvat carboxylase activity of in vitro cultured strawberry planlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 36: 27-33.
- Nhut, D.T., B.V. Le, S. Fukai, M. tanaka and T.T. Van. 2001. Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young stem culture. *Plant Growth Reg.* 33: 59-65.
- Peck, D.E. and B.G. Cumming. 1986. Beneficial effects of activated charcoal on bublet production in tissue cultures of *Muscari armeniacum*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 6: 9-14.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martin Nijhoff Publ. Netherland. p. 344.
- Schnapp, S.R. and J.E. Preece. 1986. In vitro growth reduction of tomato and carnation microplants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 6: 3-8.
- Sha Valli Khan, P.S., J.F. Hausman and K.R. Rao. 1999. Effect of agar, MS medium strength, sucrose and polyamines on in vitro rooting of *Syzygium alternifolium*. *Biol.Plant.* 42(3): 333-340.
- Shim, S.W., E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2003. In vitro and ex vitro growth of gravevine rootstock `5BB` as influenced by number of air exchanges and the presence or absence of sucrose in culture media. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 75: 57-62.
- Thorpe, T.A. 1982. Carbohydrate utilization and metabolism. *In* J.M. Bonga and D.J. Durzan (eds). *Tissue culture in forestry*. Martinus Nijhoff. London.
- Weatherhead, M.A., J. Burdon and G.G. Henshaw. 1978. Some effect of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z.Pflanzenphysiol.* 89: 141-147.
- Weatherhead, M.A., J. Burdon and G.G. Henshaw. 1979. Effect of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media: part 2. *Z.Pflanzenphysiol.* 94: 399-405.