

Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzil Adenin dan Asam Naftalen Asetat Pada Kultur *In vitro* Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

The Effect of Some Concentrations of Benzyl Adenine and Naphthalene Acetic Acid In Vitro Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.)

Ardian¹⁾, Kresna²⁾ dan Agustiansyah¹⁾

¹⁾ Staf pengajar Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

²⁾ Alumni Program Studi Agroekoteknologi, 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 it is released by government. The objective of this research was to know the effects of the application of some concentrations of benzyl adenine and naphthalene acetic acid on in vitro growth and multiplication of micro-shoot of cassava. Explants used were one-node green cuttings of cassava, which were derived from cutting seedling. This research was arranged in completely randomized design with the treatments consisting of some concentrations of benzyl adenine 0.2, 0.4, and 0.8 mg/l and concentrations of naphthalene acetic acid: 0 and 0.1 mg/l. Each treatment was replicated 10 times with 2 explants in each experiment unit. The best growth and multiplication shoot of cassava in vitro was achieved by treatment of 0,2 mg/l benzyl adenine with 0,1 mg/l naphthalene acetic acid.

Keywords: Benzyl Adenine, Naphthalene Acetic Acid, Cassava

Diterima: 09-12-2011, disetujui: 30-12-2011

PENDAHULUAN

Singkong atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae ini merupakan tanaman semusim yang berbentuk perdu. Singkong merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan di propinsi Lampung. Pada tahun 2007, total luas lahan yang ditanami singkong di Lampung adalah 283.430 ha dengan total produksi 6.383.485 ton yang berarti produktivitas lahan sekitar 22,522 ton.ha⁻¹. Sedangkan luas lahan yang ditanami singkong dari tahun 2001 sampai dengan 2007 terus menurun sebesar 10,58% (BPS Lampung, 2008).

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

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

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dalam perbanyak tunas *in vitro* adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (George dan Sherrington, 1984). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perbanyak tunas dalam kultur *in vitro* adalah sitokinin. Salah satu jenis sitokinin yang paling umum digunakan adalah benziladenin (BA), karena paling efektif dan aktif untuk merangsang perbanyak tunas secara *in vitro* dengan merangsang pembelahan sel dan mengurangi dominansi apikal (Khaleghi *et al.*, 2008). Khalafalla *et al.*, (2007), memperoleh perbanyak dan pertumbuhan tunas *Vernonia amygdalina* secara *in vitro* yang optimal dengan menggunakan 0,5 mg.l⁻¹ benziladenin. Pemberian sitokinin tanpa auksin menunjukkan kecenderungan pada pembentukan tunas secara langsung, seperti yang ditunjukkan pada penelitian Pant and Manandhar, (2007) yang menggunakan 0,5 mg.l⁻¹ BA. Akan tetapi kebutuhan sitokinin antara satu tanaman dengan lainnya akan berbeda dalam hal kuantitas dan kualitas tunas yang dihasilkan melalui perbanyak tunas secara *in vitro*.

Penambahan benzil adenin dengan konsentrasi rendah menghasilkan respon yang rendah terhadap regenerasi tunas dan menghasilkan tunas tunggal. Penggunaan benzil adenin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan dikombinasikan dengan asam naftalen asetat akan merangsang regenerasi tunas dengan frekuensi yang lebih tinggi, terutama dalam pembentukan multiplikasi tunas (Naz *et al.*, 2009) Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi benzil adenin dan asam naftalen terhadap pertumbuhan dan perbanyak tunas singkong secara *in vitro*.

METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman singkong varietas Kasersart asal penanaman Kecamatan Tanjung Bintang, Lampung Selatan, Lampung. Eksplan berupa stek hijau singkong

satu buku dengan ukuran ± 1 cm, berasal dari stek berumur 1 bulan yang ditumbuhkan di polibag, digunakan untuk percobaan perbanyakan tunas mikro secara *in vitro*. Eksplan disterilisasi dengan 1% Sodium hypochlorite selama 10 menit, lalu dibilas 3 kali dengan air steril. Eksplan yang telah steril ditanam tegak lurus terhadap media dan dibenamkan $\frac{1}{3}$ bagiannya ke dalam media perlakuan. Media dasar yang digunakan adalah formulasi media Murashige dan Skoog (1962) yang ditambahkan dengan sukrosa 30 g.l⁻¹. 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 kg.cm² selama 15 menit. Medium yang sudah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang kultur dengan suhu 26 \pm 2°C dan intensitas cahaya \pm 1000 lux dari lampu TL Philips 40 watt dengan periode penyinaran diatur 16 jam terang dan 8 jam gelap.

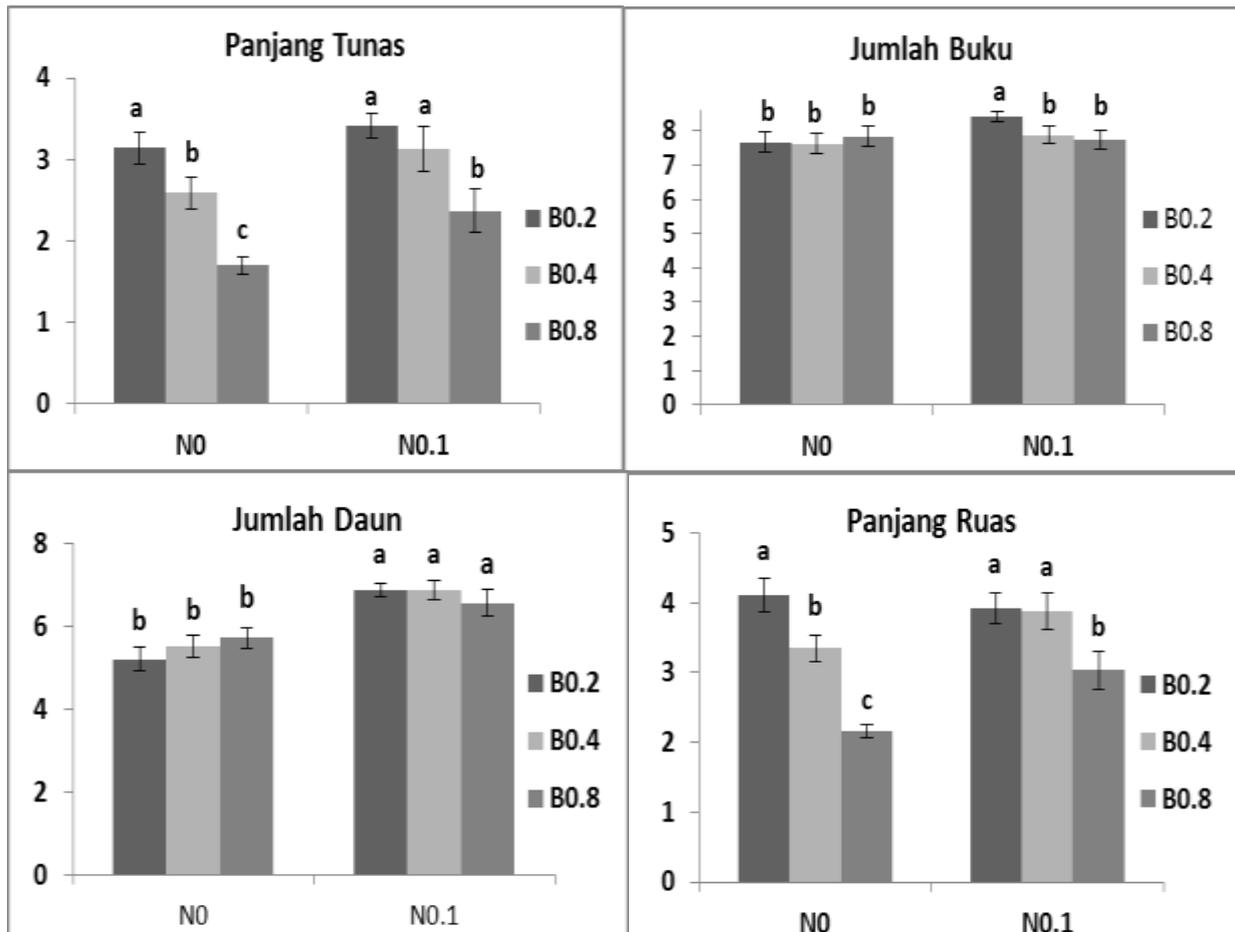
Penelitian ini menggunakan rancangan teracak sempurna dan perlakuannya disusun secara faktorial (4x2) dengan faktor pertamanya adalah berbagai konsentrasi Benzil adenin pada media dasar yaitu 0,2; 0,4; dan 0,8 mg.l⁻¹. Faktor keduanya adalah konsentrasi Asam naftalen asetat yaitu: 0; dan 0,1 mg.l⁻¹. Setiap perlakuan diulang 10 kali dengan satuan percobaan terdiri dari 2 eksplan. Setelah 4 minggu pada media perbanyakan, kultur diamati dengan peubah: panjang tunas yang diukur mulai dari pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan, jumlah buku tunas utama, dan jumlah daun segar tunas utama dan panjang ruas rata-rata per tanaman. Perbedaan nilai variabel antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan.

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan benzyl adenine (BA) dan asam naftalen asetat (ANA) mempengaruhi pertumbuhan berdasarkan peubah yang diamati. Perlakuan BA yang ditambahkan perlakuan AIA menghasilkan pertumbuhan panjang tunas yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan BA saja (Gambar 1). Peningkatan BA dari konsentrasi 0,2 mg.l⁻¹ sampai 0,8 mg.l⁻¹ menurunkan panjang tunas yang terbentuk dengan dan tanpa 0,1 mg/l ANA. Penambahan ANA 0,1 mg.l⁻¹ pada perlakuan BA 0,4 dan 0,8 mg.l⁻¹ meningkatkan panjang tunas yang terbentuk dibandingkan dengan perlakuan BA yang sama tanpa penambahan ANA 0,1 mg.l⁻¹. Panjang tunas terbaik dengan nilai 3,42 cm dicapai oleh pemberian 0,2 mg.l⁻¹ BA dengan atau tanpa perlakuan 0,1 mg.l⁻¹ ANA yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,4 mg.l⁻¹ BA ditambah 0,1 mg.l⁻¹ ANA.

Kecenderungan penurunan panjang tunas pada kenaikan konsentrasi benzil adenin dari 0,2-0,8 mg.l⁻¹, menandakan kebutuhan sitokinin eksogen untuk pertumbuhan panjang tunas tunas mikro singkong sangat sedikit dan penambahan konsentrasi 0,1 mg.l⁻¹ asam naftalen asetat membantu menghilangkan hambatan pemanjangan tunas oleh kelebihan sitokinin eksogen. Kenaikan konsentrasi benzil adenin sampai pada konsentrasi tertentu akan menaikkan pertumbuhan panjang tunas dan akan menghambat pada konsentrasi yang lebih tinggi lagi (Rani and Rana, 2010).



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

Penambahan asam naftalen asetat (ANA) pada perlakuan benzil adenin (BA) secara umum tidak mempengaruhi peningkatan jumlah buku dibandingkan dengan perlakuan BA saja (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi BA dari 0,2 sampai 0,8 mg.l⁻¹ tanpa perlakuan ANA tidak mempengaruhi peningkatan jumlah buku yang terbentuk. Penambahan 0,1 mg.l⁻¹ANA pada konsentrasi 0,2 mg.l⁻¹ BA meningkatkan jumlah buku yang terbentuk, akan tetapi pada konsentrasi 0,4 dan 0,8 mg.l⁻¹BA jumlah buku yang terbentuk tidak berbeda dibandingkan tanpa perlakuan ANA. Jumlah buku terbanyak dengan nilai 8,42 buah dicapai oleh perlakuan 0,2 mg.l⁻¹ BA dengan 0,1 mg.l⁻¹ANA.

Secara umum penambahan asam naftalen asetat (ANA) pada perlakuan benzil adenin (BA) sangat mempengaruhi peningkatan jumlah daun segar yang terbentuk dibandingkan dengan perlakuan BA saja (Gambar 1). Peningkatan BA dari konsentrasi 0,2 - 0,8 mg.l⁻¹ tanpa perlakuan ANA jumlah daun segar yang terbentuk tidak berbeda, akan tetapi dengan penambahan 0,1 mg.l⁻¹ ANA pada peningkatan konsentrasi BA tersebut menyebabkan jumlah daun segar yang terbentuk lebih banyak dibandingkan tanpa ANA dan juga tidak berbedadiantara konsentrasi BA. Jumlah daun segar terbanyak dengan nilai 6,89 lembar dicapai oleh perlakuan 0,2 mg.l⁻¹BA dengan 0,1 mg.l⁻¹ ANA, yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,4 dan 0,8 mg.l⁻¹BA dengan ANA.

Hasil penelitian ini mirip dengan kultur in vitro tanaman mawar dengan perlakuan 0, 9 mg.l⁻¹ benzyl adenine ditambah 0,1 mg.l⁻¹asam naftalen asetat yang menghasilkan jumlah daun

terbanyak dibandingkan konsentrasi benzil adenin yang lebih rendah maupun yang lebih tinggi (Khosravi, *et al.*, 2007).

Penambahan asam naftalen asetat (ANA) pada perlakuan benzil adenin(BA) secara umum mempengaruhi peningkatan panjang ruas dibandingkan dengan perlakuan BA saja, kecuali pada perlakuan 0,2 mg.l⁻¹ BA (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi BA dari 0,2 - 0,8 mg.l⁻¹ pada perlakuan tanpa ANA menurunkan panjang ruas yang terbentuk, akan tetapi pada perlakuan dengan ANA hanya pada peningkatan konsentrasi BA 0,4 ke 0,8 mg.l⁻¹ terjadi penurunan panjang ruas yang terbentuk. Penambahan 0,1 mg.l⁻¹ ANA pada konsentrasi 0,4 dan 0,8 mg.l⁻¹ BA meningkatkan panjang ruas yang terbentuk dibandingkan perlakuan tanpa ANA, akan tetapi pada konsentrasi 0,2 mg.l⁻¹ BA dengan ANA panjang ruas yang terbentuk tidak berbeda. Panjang ruas terbaik dengan nilai 4,1 mm dicapai oleh perlakuan 0,2 mg.l⁻¹ BA tanpa atau dengan 0,1 mg.l⁻¹ ANA, yang tidak berbeda dengan perlakuan 0,2 dan 0,4 mg.l⁻¹ BA dengan 0,1 mg.l⁻¹ ANA.

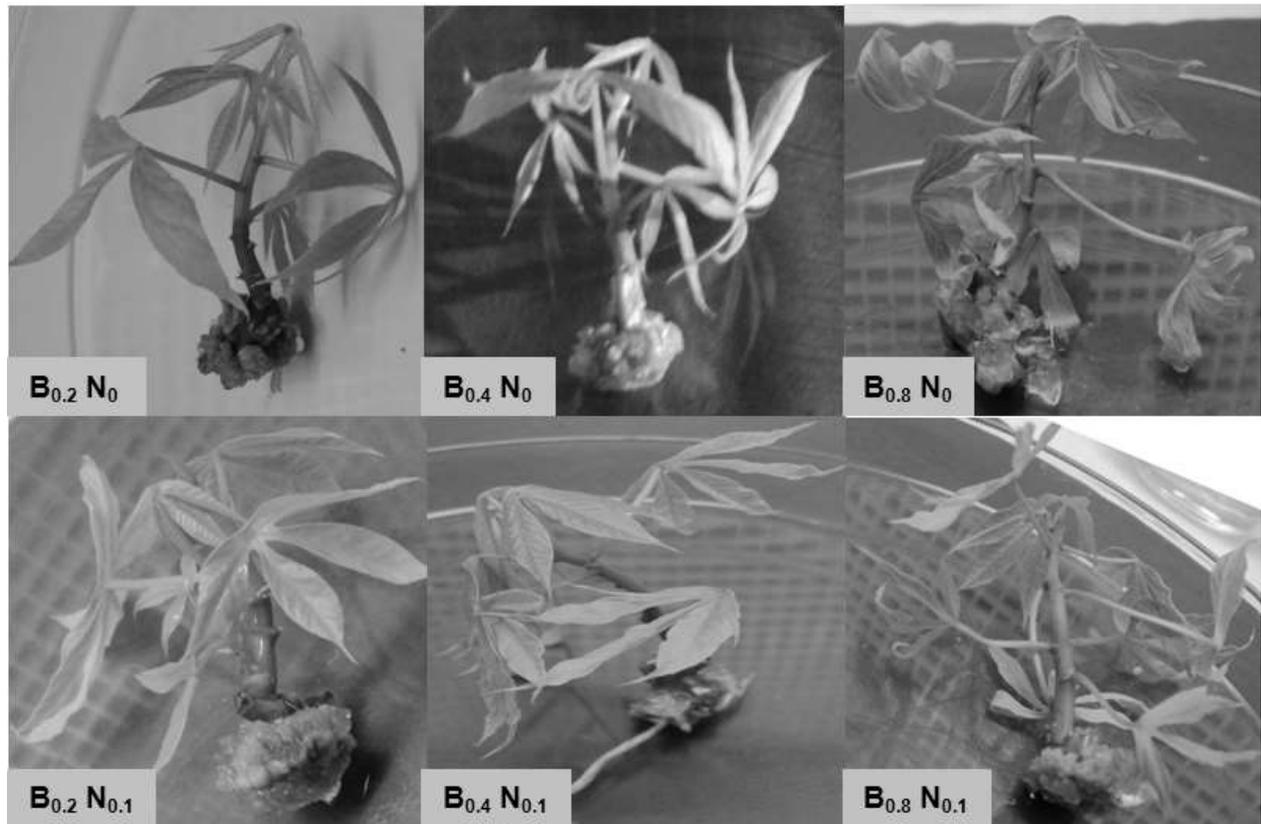
Tabel 1. Jumlah nilai `a` pada berbagai konsentrasi benzil adenin dan konsentrasi asam naftalen asetat

Perlakuan	B _{0,2} N ₀	B _{0,4} N ₀	B _{0,8} N ₀	B _{0,2} N ₀₋₁	B _{0,4} N ₀₋₁	B _{0,8} N ₀₋₁
Pertumbuhan	2	0	0	4	3	1
Perbanyakan	0	0	0	1	0	0

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

Hal ini mirip dengan penelitian Hossain *et al.*, (2003) yang mendapatkan multiplikasi tunas dan panjang tunas terbaik dicapai dengan perlakuan 0,5 mg.l⁻¹ bezil adenine dan 0,2 mg.l⁻¹ asam naftalen asetat dan juga Oliveira, *et al.*, (2010) mendapatkan jumlah tunas terbanyak tanaman *Citrus* cv. Cravo dengan perlakuan 0,5 mg.l⁻¹ benzyl adenine dan 0,25 mg.l⁻¹ asam naftalen asetat.. Sedikit berbeda dengan penelitian Cristea *et al.*, (2010) yang mendapatkan multiplikasi tunas terbaik tanaman *Dianthus henteri* dengan benzil adenin(BA) dan 0,1 mg.l⁻¹ asam naftalen asetat(ANA) atau rasio keseimbangan konsentrasi BA:ANA adalah 10/1.

Hal ini disebabkan karena singkongbenzil adenin mempunyai pengaruh dalam merangsang pemecahan dormansi mata tunas dan pembentukan multiplikasi tunas (Rani dan Rana, 2010). Sitokinin mempunyai pengaruh fisiologis yang penting dalam merangsang pembelahan sel dan pematangan sel, sintesis RNA aktif, merangsang sintesis protein dan aktifitas enzim (Al Malki dan Elmeer, 2010). Kehadiran asam naftalen asetat (auksin) pada konsentrasi rendah dibutuhkan untuk regenerasi primordia tunas dan auksin terutama berperan pada pemanjangan sel (Khaleghi, *et al.*, 2008).



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

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan perbanyak tunas terbaik dicapai oleh kombinasi perlakuan $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ benzil adenin dengan $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ asam naftalenasetat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional dan Universitas Lampung yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Research Grant IM-HERE 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Malki, A.A.H.S. and K.M.S. Elmeer. 2010. Influence of auxin and cytokinine on in vitro multiplication of *Ficus Anastasia*. *Af. J. Biotech.* 9(5):635-639.
- Ardian dan Yuliadi, E. 2009. Pertumbuhan dan perbanyak tunas mikro singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi benzil adenin. *J. Agrotropika* 14(1): 19-22.

- Badan pusat Statistik Lampung. 2008. Lampung Dalam Angka 2006. BPS Lampung dan Bappeda Propinsi Lampung. 622 hlm.
- Balai Informasi Pertanian Irian Jaya. 1995. Budidaya Singkong (*Manihot esculenta* Cranz.). Lembar Informasi Pertanian, BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- Cristea, V., A.T. Brummer, L. Jarda and M. Miclaus. 2010. In vitro culture initiation and phytohormonal influence on *Dianthus henteri-* a Romanian endemic species. *Rom.Biotech. Lett.* 15(1): 25-33.
- George, E.F. 1996. Plant propagation by tissue culture In Practice. 2nd edition. Exegetics. England.
- Hossain, S.N., M.K. Munshi, M.R. Islam, L. Hakim and M. Hossain. 2003. In vitro propagation of plum (*Zyziphus jujube* Lam.). *Plant Tissue Cult.* 13(1): 81-84.
- Khalafalla, M.M., E.I. Elgaali and M.M. Ahmed. 2007. In vitro multiple shoot regeneration from nodal explants of *Vernonia amygdalina-* an important medicinal plant. *Af.Crop Sci. Conf. Proc.* Vol 8: 747-752.
- Khaleghi, A., A. Khalighi, A. Sahraroo, M. Karimi, A. Rasoulnia, I.N. Ghafooni and R. Ataei. 2008. In vitro propagation of *Alstroemeria* cv. `Fuego`. *Am-Euras J.Agric & Environ. Sci.* 3(3): 492-497.
- Khosravi, P., M.J. Kermani, G.A. Nematzadeh and M.R. Bihamta. 2007. A protocol for mass production of rosa hybrid cv. Iceberg through in vitro propagation. *Iran J. Biotech* 5(2):100-104.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Naz, S., S. Illyas, S. Javad and A.Ali. 2009. In vitro clonal multiplication and acclimatization of different varieties of turmeric (*Curcuma longa* L.) *Pak. J. Bot.* 41(6): 2807-2816.
- Oliveira, M.L.P., M.G.C. Costa, C.V. Silva and W.C. Otoni. 2010. Growth regulators, culture media, and antibiotics in the in vitro shoot regeneration from mature tissue of citrus cultivars. *Pesq. Agropec.Bras.* 45(7): 654-660.
- Pant, B. and S. Manandhar. 2007. In vitro propagation of carrot (*Daucus carota*) L. *Sci. World* 5(5): 51-53.
- Rani, S. and J.S. Rana. 2010. In vitro propagation of *Tylophora indica-* influence of explanting season, growth regulator synergy, culture passage and planting, substrate. *J Amm. Sci.* 6(2): 385-392.