

# **PERTUMBUHAN DAN PERBANYAKAN TUNAS MIKRO SINGKONG (*Manihot esculenta* CRANTZ.) SECARA *IN VITRO* PADA BERBAGAI KONSENTRASI BENZIL ADENIN.**

**Ardian dan Erwin Yuliadi<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung  
Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung 35145, Telp. 0721 781820  
Email: [ardian.unila@gmail.com](mailto:ardian.unila@gmail.com).

## **ABSTRACT**

**GROWTH AND MICRO-SHOOT PROPAGATION OF CASSAVA (*Manihot esculenta* CRANTZ.) THROUGH *IN VITRO* IN SOME CONCENTRATION OF BENZYL ADENINE.** *Propagation of cassava through in vitro culture is required 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 four concentration of benzyl adenine on the growth and proliferation of cassava shoot in vitro. Explants used were one-node cuttings of cassava about 1 cm length, grown in polybags. This research was arranged in completely randomized design with the treatments consisting of four concentrations of benzyl adenine: 0.5, 1, 2 and 4 mg/l added of basic media of Murashige and Skoog. Each treatment was replicated 4 times with 5 explants in each experiment unit. The best growth and micro-shoot propagation of cassava in vitro was indicated by treatment of 0.5 mg/l benzyl adenine.*

**Key words:** *cassava, benzyl adenin, in vitro, micro-shoot*

## **PENDAHULUAN**

Singkong atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae merupakan tanaman semusim yang berbentuk perdu. Singkong ada dua jenis yaitu singkong makan dengan kadar sianida (HCN) rendah dan singkong beracun yang mengandung kadar sianida tinggi umumnya digunakan sebagai bahan baku industri tepung tapioka, glukosa, dextrin, asam sitrat (Esti dan Prihatman, 2000) dan bioetanol (FAO, 2007).

Singkong merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan di Provinsi Lampung. Pada tahun 2005, total luas lahan yang ditanami singkong adalah 252.984 ha dengan total produksi 4.806.254 ton yang berarti produktivitas lahan sekitar 18,998 ton/ha. Sedangkan luas lahan yang ditanami singkong dari tahun 2001 - 2005 terus menurun sebesar 20,19% (BPS Lampung, 2006). Hal ini perlu diantisipasi melalui intensifikasi dalam budidaya singkong untuk meningkatkan produktivitas lahan.

Berlawanan dengan hal tersebut di atas, kebutuhan bahan baku singkong semakin meningkat seiring dengan diversifikasi industri pengolahan bahan baku singkong menjadi bioetanol. Percepatan kenaikan kebutuhan bahan baku singkong makin nyata tidak sepadan dengan pertambahan jumlah lahan yang dapat ditanami singkong. Oleh karena itu varietas baru yang berproduksi dan berkadar pati lebih tinggi terus dibutuhkan dalam pengembangan tanaman singkong di tingkat petani dan industri pengolahan 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 cepat, mudah, dan dalam jumlah mencukupi. 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 14.000 stek. Dari fakta tersebut diperlukan suatu teknik perbanyakan vegetatif yang secara cepat memenuhi kebutuhan petani dalam skala yang luas dan 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*. Perbanyakan secara *in vitro* dapat menghasilkan bibit singkong yang bebas dari berbagai penyakit sistemik dalam waktu cepat, dalam jumlah banyak, seragam dan sama dengan induknya, tidak tergantung musim.

Dalam teknik perbanyakan secara *in vitro* salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (George dan Sherrington, 1984). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perbanyakan 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 perbanyakan tunas secara *in vitro* (Pierik, 1987). Rahman dan Blake (1988), memperoleh perbanyakan dan pertumbuhan tunas angka secara *in vitro* yang optimal dengan menggunakan 1,125 mg/l

benziladenin. Pemberian sitokinin tanpa auksin menunjukkan kecenderungan pada pembentukan tunas secara langsung, seperti yang ditunjukkan pada penelitian Stamp, dkk. (1990) yang menggunakan 2 mg/l BA. Dari dua penelitian tersebut, jelas bahwa kebutuhan sitokinin antara antartanaman berbeda dalam hal kuantitas dan kualitas tunas yang dihasilkan melalui perbanyakan tunas secara *in vitro*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi benzil adenin terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas singkong secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman singkong varietas Kasersart asal penanaman Kecamatan Wonoasri, Lampung Utara, Lampung. Eksplan berupa stek satu buku singkong dengan ukuran  $\pm 1$  cm, berasal dari stek yang ditumbuhkan di polibag, digunakan untuk percobaan perbanyakan tunas mikro secara *in vitro*. 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) yang ditambahkan sukrosa 30 g/l dengan konsentrasi benzyl adenin sesuai perlakuan. Media diatur pH nya pada 5,8 dan ditambahkan agar 5 g/l, lalu dimasak dan dimasukkan ke dalam botol ukuran 250 ml dan tiap botol berisi 20 ml media. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 1,2 kg/cm<sup>2</sup> selama 15 menit. Medium yang sudah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang kultur bersuhu  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  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 adalah berbagai konsentrasi BA yaitu, 0; 0,5; 1; 2 dan 4 mg/l. Setiap perlakuan diulang 4 kali dengan satuan percobaan terdiri dari 5 eksplan. Setelah 4 minggu pada media perbanyakan, kultur diamati dengan peubah: jumlah tunas adventif, jumlah tunas aksilar, jumlah mata tunas aksilar, panjang tunas yang diukur mulai dari pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan, rata-rata panjang tunas aksilar, jumlah buku tunas pokok, jumlah buku tunas aksilar, jumlah daun tunas pokok, dan jumlah daun tunas aksilar. Perbedaan nilai variabel antarperlakuan diketahui dengan melihat nilai galat baku nilai tengah (*standard error of the mean*) dari data setiap perlakuan.

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

$x_i$  = nilai pengamatan ke- $i$

$n$  = banyaknya pengamatan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semua perlakuan tunas adventif dan tunas mikro tidak terbentuk eksplan stek satu buku cenderung memanjang atau bertambah tinggi. Pemberian benziladenin sampai dengan konsentrasi 4 mg/l, belum dapat merangsang pembentukan tunas adventif. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan konsentrasi benzyl adenine yang diberikan masih rendah untuk stek mikro ubikayu tersebut membentuk tunas adventif. Tunas adventif atau organogenesis pada tanaman ubikayu baru akan terbentuk setelah pemberian benzyl adenine mencapai 10 mg/l (Konan dkk., 1997 dan Raemakers dkk., 2000). Gejala yang berkaitan dengan penggunaan konsentrasi benzyl adenine relatif tinggi untuk mendapatkan multiplikasi tunas terbaik juga terjadi pada perbanyakan cabe Tunisia (Arous dkk., 2001) dan `white dasheen` *Colocasia esculenta* (Ko dkk., 2008). Akan tetapi untuk mendapatkan bibit asal kultur *in vitro* yang *true to type* sangat tidak disarankan penggunaan zat pengatur tumbuh yang berlebihan, terutama pembentukan tunasnya melalui kalus.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa pada semua perlakuan terbentuk kalus pada pangkal stek bekas potongan yang semakin besar bentuk kalusnya seiring dengan kenaikan konsentrasi benziladenin. Sampai akhir penelitian, kalus yang terbentuk tidak menunjukkan adanya pembentukan organogenesis maupun embriogenesis. Pengaruh sitokinin terhadap pembentukan kalus juga tampak pada penelitian Geetha dkk. (1990) yang memperoleh kalus pada perlakuan dengan menggunakan sitokinin dengan eksplan batang lada. Selain itu Mok dkk. (1979), juga mendapatkan gejala yang sama mengenai pembentukan kalus yang dipengaruhi oleh sitokinin.

Hasil pengamatan pada jumlah tunas aksilar yang tumbuh pada perlakuan benzyl adenine 0,5 dan 2 serta 4 mg/l menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata (Tabel 1).

Sedangkan jumlah mata tunas tidak berbeda nyata antarperlakuan benzyl adenine. Pengaruh benzyl adenine terhadap jumlah tunas aksilar sulit untuk diduga, karena pengaruhnya tidak konsisten pada peningkatan konsentrasi benzyl adenine dari konsentrasi 0,5 sampai 4 mg/l.

Dalam variabel jumlah buku tunas pokok perlakuan benzyl adenine 0,5 sampai 2 mg/l menghasilkan jumlah buku tunas pokok terbanyak yang berbeda nyata dengan perlakuan benzyl adenine 4 mg/l. Sedangkan jumlah buku tunas aksilar tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan.

Pertumbuhan tunas mikro ubikayu secara *in vitro* yang terbaik dicapai pada perlakuan 0,5 mg/l benziladenin. Hal ini didasarkan pada jumlah nilai

**Tabel 1.** Nilai rata-rata  $\pm$  standar error of the mean jumlah tunas aksilar, jumlah mata tunas aksilar, jumlah buku tunas pokok, dan jumlah buku tunas aksilar kultur singkong umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi benzyl adenine secara *in vitro*

| Benziladenin (mg/l) | Jumlah tunas aksilar | Jumlah mata tunas aksilar | Jumlah buku tunas pokok | Jumlah buku tunas aksilar |
|---------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 0,5                 | 3,40 $\pm$ 0,535 a   | 1,50 $\pm$ 0,456 a        | 12,0 $\pm$ 0,533 a      | 1,67 $\pm$ 0,589 a        |
| 1                   | 1,65 $\pm$ 0,327 b   | 1,60 $\pm$ 0,255 a        | 11,3 $\pm$ 0,616 ab     | 2,13 $\pm$ 0,779 a        |
| 2                   | 2,80 $\pm$ 0,462 a   | 1,05 $\pm$ 0,256 a        | 11,6 $\pm$ 0,682 a      | 1,00 $\pm$ 0,697 a        |
| 4                   | 3,15 $\pm$ 0,399 a   | 1,25 $\pm$ 0,289 a        | 10,1 $\pm$ 0,791 b      | 1,05 $\pm$ 0,521 a        |

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

**Tabel 2.** Nilai rata-rata  $\pm$  standar error of the mean panjang tunas pokok dan panjang tunas aksilar, jumlah daun tunas pokok dan jumlah daun tunas aksilar kultur singkong umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi benzyl adenine secara *in vitro*

| Benziladenin (mg/l) | Panjang tunas pokok  | Panjang tunas aksilar | Jumlah daun tunas pokok | Jumlah daun tunas aksilar |
|---------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| 0,5                 | 6,575 $\pm$ 0,888 a  | 0,30 $\pm$ 0,059 a    | 11,10 $\pm$ 0,369 a     | 3,670 $\pm$ 0,867 a       |
| 1                   | 5,710 $\pm$ 0,647 ab | 0,41 $\pm$ 0,118 a    | 10,55 $\pm$ 0,613 a     | 2,188 $\pm$ 0,807 ab      |
| 2                   | 4,950 $\pm$ 0,574 b  | 0,29 $\pm$ 0,088 a    | 11,30 $\pm$ 0,715 a     | 2,059 $\pm$ 0,689 b       |
| 4                   | 3,785 $\pm$ 0,574 c  | 0,49 $\pm$ 0,154 a    | 9,55 $\pm$ 0,742 b      | 1,450 $\pm$ 0,630 b       |

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

**Tabel 3.** Jumlah nilai `a` pada berbagai konsentrasi benzyl adenine

| Benzyladenine    | 0,5 mg/l | 1 mg/l | 2 mg/l | 4 mg/l |
|------------------|----------|--------|--------|--------|
| Jumlah nilai `a` | 8        | 7      | 6      | 4      |

**Gambar 6.** Perbanyakan tunas pada media MS + Benziladenin 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 mg/l (dari kiri ke kanan)

tertinggi peubah yang diamati diperingkat dengan tanda huruf a di belakang nilai rata-rata perlakuan  $\pm$  standar error of the mean yang berbeda nyata dengan huruf lainnya (Table 3). Hal ini sama dengan penelitian kultur *in vitro* pada tanaman *Spilanthes acmella* yang menggunakan konsentrasi benzyl adenine 0,5 mg/l untuk memproduksi multiplikasi tunas (Haw dan Keng, 2003) dan juga pada kultur *Ocimum gratissimum* (Gopi dkk., 2006).

Nilai tertinggi berikutnya dicapai pada perlakuan 1 mg/l benziladenin yang jumlah tunas aksilar dan jumlah daun tunas pokoknya berbeda dengan perlakuan 0,5 mg/l. Hasil yang agak berbeda dengan hasil penelitian ini dicapai dengan kultur *in*

*vitro Dioscorea sp.* yang menghasilkan perbanyakan tunas terbaik pada pemberian 2 mg/l benzyl adenine (Poornima dan Rai, 2007). Begitu juga pada kultur *in vitro Balanites aegyptiaca* (Ndoye dkk., 2003) dan *Bambusa vulgaris* (Ndiaye dkk., 2006).

Walaupun tunas adventif tidak terbentuk, perbanyakan tunas mikro dapat diperoleh melalui stek satu buku dari tunas pokok yang memanjang dan tunas aksilar yang terbentuk. Semakin banyak buku yang terbentuk dan atau tunas aksilar yang terbentuk, akan semakin banyak bahan untuk perbanyakan tunas mikro yang dapat disubkulturkan. Berdasarkan peubah jumlah tunas aksilar dan jumlah buku tunas pokok, perlakuan terbaik untuk perbanyakan stek

mikro secara *in vitro* adalah perlakuan 0,5 mg/l benziladenin.

Oleh karena itu, perlakuan 0,5 mg/l benziladenin dapat digunakan untuk perbanyakan dan pertumbuhan tunas mikro singkong secara *in vitro*.

### KESIMPULAN

1. Pertumbuhan tunas mikro ubikayu secara *in vitro* yang terbaik dicapai pada perlakuan 0,5 mg/l benziladenin.
2. Perlakuan terbaik untuk tujuan perbanyakan stek mikro adalah perlakuan 0,5 mg/l benziladenin

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Program Hibah Penguasaan Teknologi DIPA Universitas Lampung tahun 2009 dengan nomor: 292/H.26/KU/2009. Penulis menyampaikan terima kasih kepada pengelola program tersebut.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arous, S., M. Boussaid and M. Marrakchi. 2001. Plant regeneration from zygotic embryo hypocotyls of Tunisian chili (*Capsicum annum* L.). J Appl. Hort. 3(1): 17-22.
- Badan Pusat Statistik Lampung. 2006. Lampung Dalam Angka 2006. BPS Lampung dan Bappeda Propinsi Lampung. 622 hlm.
- Balai Informasi Pertanian Irian Jaya. 1995. Budidaya Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.). Lembar Informasi Pertanian, BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- Esti dan K. Prihatman. 2000. Tepung tapioca. <http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/pangan>.
- Food and Agriculture Organization. 2007. Cassava. <http://www.fao.org>.
- Geetha, C. K., P. A. Nazeem, and L. S. Joseph. 1990. In vitro callus induction in Black Pepper. Indian Cocoa, Arecanut and Spices Journal 14(1):34-36.
- George, F. E. and P. D. Sherington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd. England.
- Gopi, C., Y. N. Sekhar, and P. Ponmurugan. 2006. In vitro multiplication of *Oncidium gratissimum* L. Through direct regeneration. Af. J. Biotech. 5(9): 723-726.
- Haw, A. B. and C. L. Keng. 2003. Micropropagation of *Spilanthes acmella*, a bio-insecticide plant, through proliferation of multiple shoots. J. Appl. Hort. 5(2): 65-68.
- Ko, C. Y., J. P. Kung, and R. Mc Donald. 2008. In vitro micropropagation of white dasheen (*Colocasia esculenta*). Af. J. Biotech. 7(1): 41-43.
- Konan, N. K., C. Schopke, R. Carcamo, R. N. Beachy, and C. Fauquet. 1997. An efficient mass propagation system for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) based on nodal explants and axillary bud-derived meristems. Plant Cell Rep. 16: 444-449.
- Mok, M. C., S. G. Kim, D. J. Armstrong, and D. W. S. Mok. 1979. Induction of cytokinin autonomy by N,N'-diphenylurea tissue cultures of *Phaseolus lunatus* L. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 3880-3884.
- Ndiaye, A., M. S. Dialo, D. Niang and Y. K. Gassama-Dia. 2006. In vitro regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. Af. J. Biotech. 5(13): 1245-1248.
- Ndoye, M., I. Diallo and Y. K. Gassama-Dia. 2003. In vitro multiplication of the semi-arid forest tree, *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Af. J. Biotech. 2(11): 421-424.
- Pierik, R. L. M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martin Nijhoff Publ. Netherland. p. 344.
- Poornima, G. N. and R. Rai. V. 2007. In vitro propagation of wild yam, *Dioscorea oppositifolia* L. And *Dioscorea pentaphylla* L. Af. J. Biotech. 6(20): 2348-2352.
- Raemakers, K., E. Jacobsen, and R. Visser. 2000. The use of somatic embryogenesis for plant propagation cassava. Mol. Biotech. 14: 215-221.
- Rahman, M. A. and J. Blake. 1988. Factors affecting in vitro proliferation and rooting of shoot of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Plant Cell Tissue and Organ Culture 13: 179-187.
- Stamp, J. A., S. M. Colby, and C. P. Meredith. 1990. Improved shoot organogenesis from leaves of Grape. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(6):1038-1042.