

Induksi Tunas Ubi Kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. Adira 2 Secara *In vitro*

In Vitro Shoot Induction of Cassava (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. Adira 2

Nurul Khumaida* dan Ahmad Rifqi Fauzi

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 6 Februari 2013/Disetujui 5 Juli 2013

ABSTRACT

The research aim was to evaluate the effect of culture medium composition and BAP concentration on growth and shoot multiplication of *in vitro*-grown cassava (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. 'Adira 2'. The experimental design was completely randomized design with two factors. The first factor was composition of basal medium including MS and ½ MS (half of macro and micro nutrients), and the second factor was concentration of BAP (0, 0.5, 1, 1.5, and 3 ppm). The result showed that basal medium MS was the best medium to induce shoot multiplication of cassava var. 'Adira 2' with 1.27 shoots explant⁻¹. BAP concentrations had no significant effect on some variables including number of shoot, leaf, node, and height of shoot. However, the BAP concentration affected the number of root explant⁻¹. The control treatment medium (without BAP) showed the best growth of root with 1.95 roots explant⁻¹.

Keywords: cassava, BAP, MS medium, tissue culture

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh komposisi media kultur dan konsentrasi BAP pada pertumbuhan dan multiplikasi tunas ubi kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. 'Adira 2' secara *in vitro*. Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak lengkap dengan dua faktor. Faktor pertama merupakan komposisi media dasar yang terdiri atas MS dan ½ MS (setengah konsentrasi hara makro dan mikro), dan faktor kedua merupakan konsentrasi BAP yang terdiri atas 0, 0.5, 1, 1.5, dan 3 ppm. Hasil percobaan menunjukkan bahwa media dasar MS merupakan media terbaik untuk multiplikasi tunas ubi kayu var. 'Adira 2' dengan rata-rata 1.27 tunas eksplan⁻¹. Konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku, dan tinggi tunas, akan tetapi konsentrasi BAP mempengaruhi jumlah akar eksplan⁻¹. Perlakuan kontrol (0 ppm BAP) menghasilkan jumlah akar tertinggi dengan rata-rata 1.95 akar eksplan⁻¹.

Kata kunci: BAP, kultur jaringan, media MS, ubi kayu

PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan tanaman utama penghasil karbohidrat setelah padi dan jagung. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2008), konsumsi umbi-umbian secara nasional pada akhir tahun 2008 mencapai 51.7 g kapita⁻¹ hari⁻¹ dari anjuran sebesar 100 g kapita⁻¹ hari⁻¹ yang didominasi oleh ubi kayu. Indonesia termasuk negara penghasil ubi kayu terbesar ke-4 (22.039 juta ton tahun⁻¹) di dunia setelah Nigeria (36.822 juta ton tahun⁻¹), Thailand (30.088 juta ton tahun⁻¹), dan Brazil (24.4 juta ton tahun⁻¹) (FAO, 2012). Permasalahan utama yang dihadapi dalam pengembangan agroindustri pangan non-beras seperti ubikayu salah satu diantaranya adalah ketersediaan varietas yang sesuai dan unggul serta

ketersediaan bahan baku secara kontinu sehingga tidak dapat menjamin keberlanjutan industri pengolahannya. Strategi untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah peningkatan produktivitas umbi ubi kayu dengan menggunakan teknologi modern yang dapat menunjang ketersediaan dan kontinuitas produksinya. Perbanyakan vegetatif ubi kayu melalui teknik *in vitro* memberikan peluang untuk melakukan perbanyakan bibit tanaman secara massal (Ogero *et al.*, 2012). Keberhasilan perbanyakan secara *in vitro* ini akan bermanfaat untuk menunjang kegiatan pembibitan dan penelitian perbaikan tanaman ubi kayu.

Penggunaan komposisi media dasar dan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur *in vitro* sangatlah penting. Media dasar Murashige dan Skoog merupakan jenis media dasar yang biasa digunakan dalam kultur jaringan dan untuk regenerasi hampir seluruh jenis tanaman (Gamborg dan Phillips, 1995). Zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan pada media adalah kelompok auksin dan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: nkhumaida@yahoo.com

sitokinin. Auksin dapat menginisiasi akar dan memacu perkembangan akar cabang pada kultur jaringan, sedangkan sitokinin dapat menstimulasi pembentukan tunas serta memecah dormansi sel dan mempunyai peranan dalam morfogenesis dan pembelahan sel (Gaba, 2005). Salah satu jenis sitokinin yang sering digunakan dalam teknik *in vitro* adalah BAP (*6-benzylaminopurine*) karena lebih stabil, tidak mahal, mudah tersedia, bisa disterilisasi, dan efektif (Wattimena, 1988).

Penelitian perbaikan tanaman ubi kayu melalui kultur jaringan telah banyak dilakukan seperti modifikasi komposisi pati pada ubi kayu (Joseph *et al.*, 2004). Hasil penelitian Medina *et al.* (2007) terhadap 29 klon ubi kayu menunjukkan bahwa, media dasar MS dengan 5% sukrosa yang mengandung 0.54 μm NAA dan 0.44 μm BAP merupakan media yang paling efektif dalam merangsang pertumbuhan tanaman yang berasal dari akar. Onuoch dan Onwubiku (2007) menyatakan bahwa media tanpa BAP mampu mendorong tinggi planlet, jumlah daun, dan jumlah buku planlet ubikayu varietas TMS 98/0379 dan TMS 98/0581. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media kultur yang optimum dan mempelajari pengaruh perlakuan BAP pada beberapa taraf konsentrasi terhadap perbanyakan dan pertumbuhan planlet ubi kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) varietas Adira 2.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Umum Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas samping dengan 1 buku ubi kayu varietas Adira 2. Media dasar yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog) dan media $\frac{1}{2}$ MS (1/2 konsentrasi hara makro dan hara mikro media dasar MS).

Percobaan disusun berdasarkan rancangan kelompok lengkap teracak (RKL) faktorial dua faktor. Faktor pertama adalah pengenceran media dasar MS yang terdiri atas dua taraf yaitu media MS dan $\frac{1}{2}$ MS. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP dengan 5 taraf, yaitu 0 ppm, 0.5 ppm, 1.0 ppm, 1.5 ppm, 3.0 ppm dan media MS0 (media MS tanpa penambahan ZPT) sebagai kontrol. NAA dengan konsentrasi 0.2 ppm ditambahkan ke dalam setiap media perlakuan. Kombinasi perlakuan terdiri atas 10 unit percobaan dan media MS0 tanpa penambahan NAA sebagai kontrol dengan masing-masing 9 ulangan. Setiap unit percobaan terdiri atas satu eksplan per botol, sehingga terdapat unit percobaan sebanyak 99 unit. Apabila hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata pada taraf 5%, pengujian dilanjutkan dengan DMRT pada taraf nyata 1% dan 5%.

Eksplan berupa tunas samping yang masih muda disterilisasi di dalam *laminar air flow* (LAF). Sterilisasi permukaan ubi kayu varietas Adira 2 dengan melakukan perendaman dalam alkohol 70% selama 1 menit (Chawla, 2002) yang dimodifikasi. Tunas yang telah disterilisasi dikulturkan pada media pre kondisi berupa media MS0 dengan jumlah 3-4 eksplan per botol untuk menghasilkan

kultur asenik. Selanjutnya, kultur asenik di sub kulturkan kedalam media perlakuan, dengan jumlah satu eksplan per botol. Botol berisi eksplan steril diinkubasikan pada ruang kultur dengan suhu 22 ± 4 °C dan pencahayaan selama 24 jam.

Peubah pertumbuhan diamati setiap satu minggu sekali. Beberapa peubah yang diamati meliputi waktu terbentuknya tunas (HST), persen kultur terkontaminasi (%), persen eksplan bertunas (%), persen eksplan berkalus (%), jumlah tunas total yang muncul, jumlah daun total, waktu terbentuknya akar ditentukan saat munculnya akar (HST), persen eksplan berakar (%), dan jumlah akar per eksplan. Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA, dilanjutkan dengan DMRT pada taraf nyata 1% dan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum media dasar MS yang tidak diencerkan merupakan media yang paling efektif untuk menginduksi multiplikasi tunas ubi kayu varietas 'Adira 2'. Penambahan zat pengatur tumbuh BAP sampai dengan 3 ppm tidak berpengaruh nyata terhadap beberapa peubah pertumbuhan eksplan ubi kayu varietas 'Adira 2'. Akan tetapi, konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah akar.

Persentase Eksplan Bertunas, Eksplan Berakar, dan Eksplan Berkalus

Kombinasi perlakuan antara pengenceran media dasar MS dengan konsentrasi BAP menghasilkan jumlah eksplan bertunas, berkalus, dan berakar yang berbeda (Tabel 1). Secara umum terlihat bahwa persentase eksplan berkalus pada perlakuan media dasar MS lebih besar dibandingkan dengan media dasar $\frac{1}{2}$ MS. Kualitas kalus yang terbentuk selama penelitian berdasarkan penampakan struktur dan warna kalus relatif seragam (data tidak ditampilkan). Kalus yang terbentuk berstruktur remah dan berwarna coklat pada akhir pengamatan (8 MST). Selama pembentukan kalus remah ini, terjadi perubahan warna kalus mulai dari putih kehijauan menjadi kuning kecoklatan selanjutnya menjadi coklat (gambar tidak disajikan). Menurut Hutami (2008), perubahan warna kalus menjadi coklat (*browning*) dalam kultur jaringan terjadi karena akumulasi polifenol oksidase yang disintesis oleh jaringan dalam kondisi teroksidasi ketika sel dilukai.

Kemampuan eksplan bertunas tercepat adalah dua hari setelah kultur, yang diperoleh pada kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan 3 ppm BAP (Tabel 2), sedangkan pada perlakuan media MS+ 3 ppm BAP mencapai 3.25 HST. Namun demikian waktu pemunculan tunas tersebut tidak berbeda nyata dengan waktu muncul tunas pada perlakuan kontrol (MS0). Waktu muncul tunas ini lebih cepat bila dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan Wasswa *et al.* (2010) yang menunjukkan bahwa tunas ubi kayu terbentuk setelah 2 minggu pada beberapa kultivar ubi kayu. Salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan waktu munculnya tunas ini adalah posisi buku pada tunas samping. Berdasarkan pengamatan, posisi buku yang paling responsif

Tabel 1. Persentase eksplan bertunas, berakar, dan berkalus pada kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2

Komposisi media dasar	BAP (ppm)	Jumlah eksplan		
		Bertunas	Berkalus	Berakar
		----- % -----		
MS	0.0	30.55	62.50	33.33
MS	0.5	38.88	94.44	5.56
MS	1.0	22.22	59.72	0.00
MS	1.5	51.39	95.83	0.00
MS	3.0	51.39	97.22	0.00
½ MS	0.0	23.61	16.67	0.00
½ MS	0.5	0.00	15.28	0.00
½ MS	1.0	22.22	15.28	0.00
½ MS	1.5	11.11	19.44	0.00
½ MS	3.0	11.11	36.11	0.00
Kontrol (MS0)		59.72	0.00	50.00

Keterangan: pada media perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA, kecuali pada media kontrol (MS0)

adalah buku ke 2-4 dari pucuk. Kondisi fisiologis tanaman induk juga diduga mempengaruhi waktu munculnya tunas *in vitro*.

Persen eksplan bertunas juga tampak lebih tinggi pada media MS dibandingkan dengan media ½ MS. Tunas selanjutnya tumbuh dari kalus yang terbentuk sebelumnya pada minggu ke-3. Tumbuhnya tunas ini disebabkan media kultur mampu untuk meregenerasi kalus menjadi tunas-tunas baru, yang diduga melalui proses organogenesis tidak langsung (*indirect organogenesis*). Phillips *et al.* (2004) menyatakan bahwa kalus dapat beregenerasi menjadi tunas melalui proses organogenesis tidak langsung. Regenerasi

tunas dari kalus merupakan proses yang kompleks, karena dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya genotipe, tipe eksplan, dan keseimbangan zat pengatur tumbuh, dalam hal ini auksin dan sitokinin serta kondisi fisiologi kalus (Gaba, 2005). Tunas hasil regenerasi kalus atau kultur suspensi dapat menunjukkan variasi bentuk (*morphological variation*) ataupun variasi somaklonal (*somaclonal variation*) (Phillips *et al.*, 2004).

Pertumbuhan akar pada planlet diperoleh pada perlakuan MS + 0.5 ppm BAP dan media MS0 (kontrol). Terbentuknya akar pada media kontrol (MS0) dan pada media yang mengandung BAP pada konsentrasi rendah (0.5 ppm) mengindikasikan adanya auksin endogen pada eksplan. Penelitian Ogero *et al.* (2012) menunjukkan bahwa akar dapat terbentuk pada eksplan dua varietas ubi kayu yang dikulturkan pada media tanpa ZPT.

Tabel 2. Rataan waktu muncul tunas pertama kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2

Komposisi media dasar	Konsentrasi BAP (ppm)	Waktu muncul tunas (HST)
MS	0.0	8.50a
	0.5	12.25a
	1.0	9.33a
	1.5	14.00a
	3.0	3.25b
½ MS	0.0	15.00a
	0.5	>15.00a
	1.0	11.00a
	1.5	12.00a
	3.0	2.00b
Kontrol (MS0)	0.0	6.50ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$; Media kontrol (MS0): tanpa penambahan 0.2 ppm NAA

Jumlah Total Tunas per eksplan

Komposisi media dasar berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas total per eksplan (Tabel 3). Media dasar MS menghasilkan jumlah tunas per eksplan terbanyak pada 8 MST, yaitu 1.27 tunas. Media dasar ½ MS hanya mampu menghasilkan tunas sebanyak 0.81 tunas per eksplan. Namun demikian, jumlah total tunas per eksplan pada media dasar MS yang mengandung NAA tidak berbeda nyata dengan media kontrol (MS0). Hal ini terjadi diduga karena konsentrasi unsur hara antara kedua media tersebut sama, sehingga respon yang ditunjukkan eksplan tidak jauh berbeda.

Jumlah tunas pada penelitian ini yang kurang dari 2 tunas per eksplan lebih rendah jika dibandingkan beberapa penelitian sebelumnya. Smith *et al.* (1986) melaporkan bahwa tujuh tunas ubi kayu per eksplan buku (*node*) dapat dihasilkan dengan menggunakan media MS yang mengandung 1.0 μM BAP dan 0.25 μM NAA. Abd-Alla

Tabel 3. Jumlah tunas per eksplan pada kultur in vitro ubi kayu (*Mannihot esculenta*) varietas Adira 2

Perlakuan	Umur (minggu setelah tanam)			
	2	4	6	8
Komposisi media dasar				
Kontrol (MS0)	1.03a	1.15a	1.15a	1.15a
MS	0.92ab	1.14a	1.24a	1.27a
½ MS	0.79b	0.81b	0.81b	0.81b
Konsentrasi BAP (ppm)				
Kontrol (MS0)	1.03	1.15	1.15	1.15
0	0.90	0.94	0.94	0.94
0.5	0.85	1.00	1.08	1.09
1	0.83	0.93	0.96	0.96
1.5	0.79	1.00	1.12	1.16
3	0.89	0.99	1.00	1.00

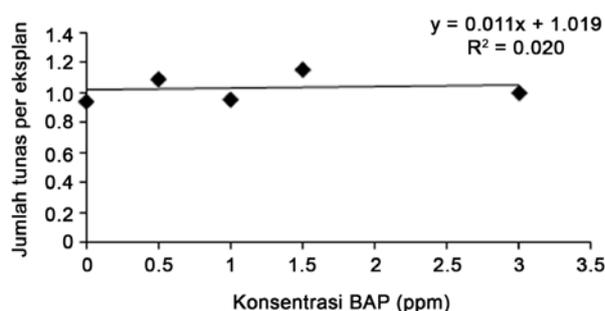
Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$; pada media perlakuan ditambahkan 0.2 ppm NAA, kecuali pada media kontrol (MS0)

et al. (2013) melaporkan bahwa pada ubi kayu kultivar ‘America’ yang ditanam pada media MS yang mengandung 1.0 mg L⁻¹ BA dan 0.05 mg L⁻¹ NAA dapat dihasilkan 5.67 tunas per eksplan. Kemampuan eksplan yang hanya bisa menumbuhkan tunas antara 0.79-1.27 tunas per eksplan dalam penelitian ini, diduga disebabkan oleh perbedaan genotipe ubi kayu yang digunakan dan kondisi kultur yang belum optimal. Penelitian Ogero *et al.* (2012) menunjukkan bahwa pada media yang MS yang mengandung 3% sukrosa dan 0.3% gelrite, ubi kayu varietas ‘Muchericheri’ memiliki jumlah buku yang lebih tinggi dibandingkan ubi kayu varietas ‘KME 1’. Hal tersebut mengindikasikan bahwa genotipe ubi kayu yang berbeda dapat memiliki respon berbeda terhadap media kultur. Genotipe ubi kayu juga dapat memiliki respon pertumbuhan yang berbeda terhadap lingkungan tumbuh. Ubi kayu varietas ‘TMS 188/00106’ dan ‘TMS 083/00125’ dapat tumbuh secara optimum dalam kultur *in vitro* pada suhu 22-25 °C (Aladele dan Kuta, 2008), akan tetapi hasil penelitian Raemakers *et al.* (1993) menunjukkan bahwa kultur *in vitro* beberapa genotipe ubi kayu memerlukan suhu 30 °C baik untuk multiplikasi tunas maupun untuk induksi embriogenesis somatik.

Menurut hasil analisis regresi, penambahan BAP dapat terus dilakukan sampai lebih dari 3 ppm untuk mencapai taraf optimum (Gambar 1). Persamaan regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas adalah $y = 0.011x + 1.019$ ($R^2 = 0.020$). Meskipun hasil pengujian menyatakan bahwa konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan jumlah tunas per eksplan, namun dari persamaan ini dapat diduga 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), yang berarti hanya 2 % keragaman dari Y yang dapat dijelaskan oleh model regresi linear sederhana. Onuoch dan Onwubiku (2007) melaporkan bahwa varietas ubi kayu asal Afrika TMS

98/0379 memiliki jumlah tunas terbaik pada konsentrasi BAP 0 ppm, meskipun tidak berbeda nyata dengan level konsentrasi BAP yang lain. Daya multiplikasi tunas varietas ubi kayu tersebut meningkat setiap minggunya pada konsentrasi BAP 0.5-1.5 ppm.

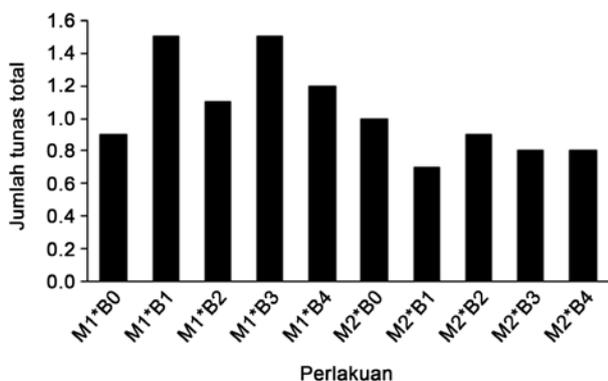
Interaksi antara komposisi media dasar dengan konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas terjadi pada 5 MST sampai dengan 8 MST (Gambar 2). Kombinasi perlakuan media dasar MS dengan konsentrasi 0.5 ppm BAP memberikan respon terbaik terhadap jumlah tunas, namun hasil tersebut tidak berbeda dengan kombinasi perlakuan media dasar MS dengan konsentrasi 1.5 ppm BAP. Hal tersebut mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi BAP tidak selalu meningkatkan jumlah tunas ubi kayu. Le *et al.* (2007) melaporkan hasil penelitiannya pada organogenesis ubi kayu kultivar ‘K140’, bahwa penambahan 0.5 ppm BAP + 0.1 ppm NAA pada media dasar MS menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Penelitian Konan *et al.* (1997), menunjukkan bahwa BAP mampu menginduksi tunas aksilar yang lebih efisien dibandingkan dengan ketiga sitokinin lainnya, yaitu TDZ, Zeatin, dan Kinetin. Ubi kayu genotipe ‘TMS 30555’ berhasil mendapatkan 25 tunas pada media MS dengan penambahan 10 ppm BAP.



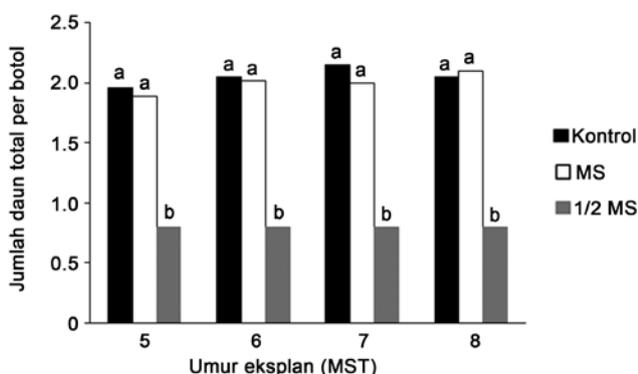
Gambar 1. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas per eksplan ubi kayu varietas Adira 2

Jumlah Daun per Tanaman

Pembentukan daun pada eksplan ubi kayu relatif cepat. Pertumbuhan yang cepat juga diikuti oleh proses senesen yang cepat pada beberapa kombinasi perlakuan. Pertumbuhan daun terjadi sejak minggu pertama (1 MST), namun tidak semua eksplan mampu menghasilkan daun karena daun hanya tumbuh pada eksplan yang membentuk bertunas. Berdasarkan data yang disajikan pada Gambar 3, pengenceran media dasar berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah daun total per tanaman. Jumlah daun yang dihasilkan perlakuan kontrol (MS0, tanpa penambahan 0.2 ppm NAA) mendominasi sejak minggu pertama hingga 7 MST. Namun, pada akhir pengamatan (8 MST), media MS menghasilkan jumlah daun per tanaman terbanyak, yaitu 2.28 daun. Jumlah daun tersebut tidak berbeda dengan jumlah daun yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol, yaitu sebanyak 2.23 daun per tanaman. Sebaliknya, pada perlakuan media dasar 1/2 MS pada 8 MST hanya menghasilkan jumlah daun per tanaman



Gambar 2. Pengaruh interaksi antara pengenceran media dasar MS dan konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas total per eksplan kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2 pada 8 MST M1, M2 berturut-turut media dasar MS dan 1/2 MS B0, B1, B2, B3, dan B4 berturut-turut 0, 0.5, 1.0, 1.5, dan 3 ppm BAP



Gambar 3. Pengaruh pengenceran media dasar MS terhadap jumlah daun total kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2. Diagram batang yang diikuti huruf yang sama pada umur yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$

sebanyak 0.79. Jumlah daun pada perlakuan media dasar MS terus meningkat setiap minggunya jika dibandingkan dengan media dasar 1/2 MS. Penelitian Mapayi *et al.* (2013) menunjukkan bahwa jumlah daun tiga genotipe ubi kayu *in vitro* pada media MS lebih tinggi dibandingkan pada media 1/2 MS, akan tetapi Wasswa *et al.* (2010) melaporkan bahwa pertumbuhan *in vitro* pada beberapa genotipe ubi kayu yang lain terjadi secara optimal pada media 1/2 MS.

Konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun. Media kontrol (MS0) dan kombinasi 1 ppm BAP + 0.2 ppm NAA memiliki jumlah daun yang lebih banyak. Jumlah daun total pada media kontrol sebanyak 2.23 daun per botol, sedangkan pada perlakuan konsentrasi 1 ppm BAP menghasilkan 1.81 daun per botol. Jumlah daun paling sedikit dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi 0 ppm BAP. Data tersebut di atas juga menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari auksin, mampu menghasilkan jumlah daun lebih tinggi bila dibandingkan dengan hanya menggunakan auksin. Hasil penelitian Onouch dan Onwubiku (2007) juga menyebutkan bahwa penambahan 0.75 mg L⁻¹ BAP untuk ubi kayu varietas TMS 98/0581 memberikan nilai jumlah daun tertinggi pada 6 MST, meskipun tidak lebih banyak dari nilai jumlah daun pada perlakuan kontrol.

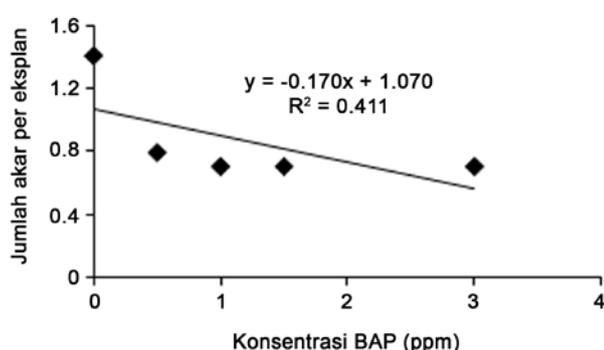
Jumlah Akar per Eksplan

Konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah akar mulai 4 MST (Tabel 4). Perlakuan 0 ppm BAP memberikan jumlah akar nyata lebih banyak bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya, meskipun tidak berbeda dengan media kontrol (MS0 tanpa penambahan 0.2 ppm NAA). Jumlah akar terbanyak pada 8 MST berturut-turut 1.41 dan 1.95 diperoleh pada perlakuan 0 ppm BAP dengan penambahan 0.2 ppm NAA dan kontrol (MS0 tanpa NAA). Peningkatan konsentrasi BAP sampai dengan 3 ppm secara nyata menurunkan jumlah akar per tanaman. Pengaruh BAP terhadap pembentukan akar disajikan dalam bentuk analisis regresi (Gambar 4). Model regresi linear sederhana pengaruh konsentrasi BAP memiliki persamaan $y = -0.170x + 1.070$ ($R^2 = 0.411$). Persamaan tersebut memberikan *slope* yang negatif terhadap pembentukan akar, yang berarti bahwa 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 cukup tinggi sebesar 41.1%, artinya, 41.1% keragaman dari y dapat dijelaskan oleh model regresi linear sederhana tersebut. Pengaruh interaksi antara komposisi media dasar dengan konsentrasi BAP terhadap jumlah akar pada 8 MST disajikan pada Gambar 5. Kombinasi media dasar MS + 0 ppm BAP memberikan jumlah akar terbanyak yaitu 2.01 akar per eksplan pada 8 MST, sedangkan kombinasi perlakuan yang lain hanya menghasilkan jumlah akar per eksplan kurang dari 1. Diduga penambahan 0.2 ppm NAA dalam media mengambil peranan penting dalam pembentukan akar.

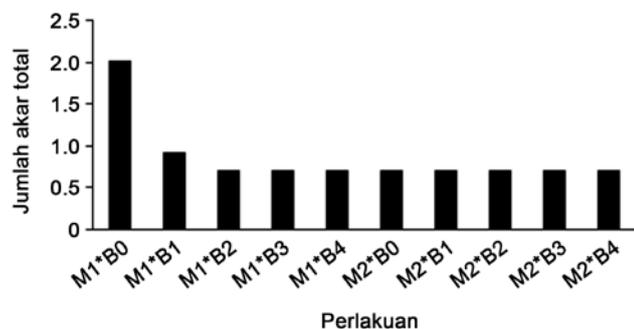
Tabel 4. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah akar per eksplan pada kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2

Konsentrasi BAP (ppm)	Umur (MST)					
	3	4	5	6	7	8
0	1.55	1.63a	1.63a	1.63a	1.76a	1.95a
0 + 0.2 ppm NAA	1.04	1.27a	1.28a	1.31a	1.38a	1.41a
0.5 + 0.2 ppm NAA	0.71	0.71b	0.74b	0.76b	0.78b	0.79b
1.0 + 0.2 ppm NAA	0.71	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b
1.5 + 0.2 ppm NAA	0.71	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b
3.0 + 0.2 ppm NAA	0.71	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b	0.71b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$



Gambar 4. Analisis regresi pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah akar per eksplan kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2



Gambar 5. Pengaruh interaksi antara pengenceran media dasar MS dan konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas total per eksplan kultur *in vitro* ubi kayu varietas Adira 2 pada 8 MST M1, M2 berturut-turut media dasar MS dan 1/2 MS B0, B1, B2, B3, dan B4 berturut-turut 0, 0.5, 1.0, 1.5, dan 3 ppm BAP

Nitrogen pada tanaman salah satunya bersumber pada NH_4 yang dapat meningkatkan sintesis sitokinin dalam jaringan tanaman (Gao *et al.*, 1992). Dengan meningkatnya sintesis sitokinin endogen, akan merubah rasio sitokinin - auksin. Gaba (2005) menyatakan bahwa konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menghambat perakaran. Banyaknya akar

yang terbentuk diduga diakibatkan konsentrasi auksin yang lebih tinggi. Penambahan auksin sintetik (0.2 ppm NAA) dalam konsentrasi rendah menyebabkan pemunculan akar yang cepat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol, yang diikuti dengan pemanjangan akar yang cepat. Namun demikian, pertumbuhan akar terlihat terhambat karena ukuran akar yang relatif kecil. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Wightman *et al.* (1980), bahwa aplikasi auksin eksogen pada media kultur dapat meningkatkan inisiasi akar dan pembentukan akar yang lebih cepat, serta mempengaruhi pemanjangan akar jika digunakan dalam konsentrasi rendah.

KESIMPULAN

Media dasar MS, yang tidak diencerkan, merupakan media yang efektif untuk induksi tunas *in vitro* ubi kayu varietas 'Adira 2'. Jumlah tunas per eksplan terbanyak pada 8 MST adalah 1.5, berturut-turut dihasilkan pada kombinasi media MS + 0.5 ppm BAP dan MS + 1.5 ppm BAP. Media dasar berpengaruh nyata terhadap jumlah daun per tanaman. Jumlah daun terbanyak pada akhir pengamatan adalah 2.1, yang diperoleh pada media dasar MS. Penambahan BAP sampai dengan 3 ppm tidak berpengaruh nyata terhadap beberapa peubah yang diamati, namun nyata menurunkan peubah jumlah akar.

DAFTAR PUSTAKA

Abd-Alla, N.A., M.E. Ragab, S.E.M. El-Miniawy, H.S. Taha. 2013. *In vitro* studies on cassava plant micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). J. Appl. Sci. Res. 9:811-820.

[BPS] Badan Pusat Statistik. 2008. Survei sosial ekonomi nasional: modul konsumsi 1999, 2002-2008. <http://www.bps.go.id> [20 Juni 2009].

Chawla, H.S. 2002. Introduction to Plant Biotechnology 2nd Edition. Science Publisher Inc., New Hampshire.

- [FAO] Food and Agricultural Organization. 2012. Food outlook global market analysis. <http://www.fao.org/giews/> [30 Juli 2013].
- Gaba, V.B. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. In R.J. Trigiano, D.J. Gray (Eds.). Plant Development and Biochemistry. CRC Press, London.
- Gamborg, O.L., G.C. Phillips. 1995. Media Preparation and Handling. Springer-Verlag, Berlin.
- Gao, Y.P., H. Motosugi, A. Sugiwaru. 1992. Rootstock effects on growth and flowering in young apple trees grown with ammonium and nitrate nitrogen. HortScience 117:446-452.
- Hutami, S. 2008. Masalah pencoklatan pada kultur jaringan. J. AgroBiogen. 4:83-88.
- Joseph, R., H. Yeoh, C. Loh. 2004. Induced mutations in cassava using somatic embryos and the identification of mutant plants with altered starch yield and composition. Plant Cell Rep. 23:91-98.
- Konan, N.N., C. Schopke, R. Carcamo, R.N. Beachy, 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. 6:444-449.
- Le, B.V., B.L. Anh, K. Soyong, N.D. Danh, L.T. Anh Hong. 2007. Plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) plants. J. Agric. Technol. 3:121-127.
- Mapayi, E.F., D.K. Ojo, O.A. Oduwaye, J.B.O. Porbeni. 2010. Optimization of in vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. J. Agric. Sci. 5:261-269.
- Medina, R.D., M.M. Faloci, A.M. Gonzalez, L.A. Mroginski. 2007. In vitro cultured primary roots derived from stem segments of cassava (*Manihot esculenta*) can behave like storage organs. Ann. Bot. 99:409-423.
- Ogero, K.O., G.N. Mburugu, M. Mwangi, O. Ombori, M. Ngugi. 2012. In vitro micropropagation of cassava through low cost tissue culture. Asian J. Agric. Sci. 4:205-209.
- Onuoch, C.I., N.I.C. Onwubiku. 2007. Micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using different concentrations of benzylaminopurine (BAP). J. Eng. Appl. Sci. 2:1229-1231.
- Phillips, G.C., J.F. Hubstenberger, E.E. Hansen. 2004. Plant regeneration from callus and cell suspension cultures by somatic embryogenesis. p. 81-90. In O.L. Gamborg, G.C Phillips (Eds.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture Fundamental Methods. Springer-Verlag, Berlin.
- Raemakers, C.J.J.M., E. Jacobsen, R.G.F. Visser. 1993. Somatic embryogenesis and transformation of cassava. In W.M. Roca, A.M. Thro (Eds.). Proceedings 1st International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network. Cartagena, 25-28 August 1992.
- Smith, M.K., B.J. Biggs, K.J. Scott. 1986. In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Plant Cell, Tissue Organ Cult. 6:221-228.
- Wasswa, P., T. Alicai, S.B. Mukasa. 2010. Optimisation of in vitro techniques for cassava brown streak virus elimination from infected cassava clones. Afr. Crop Sci. J. 18:235-241.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas, IPB, Bogor.
- Wightman, F., E.A. Schneider, K.V. Thimann. 1980. Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots II. Effects of exogenous growth factors on lateral root formation in pea roots. Physiol. Plant. 49:304-314.