

**TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH  
KONSENTRASI BENZILADENIN PADA PERBANYAKAN EKSPAN  
TUNAS SATU BUKU KECAMBAH UBIKAYU (*Manihot esculenta*  
CRANTZ ) DUA KLON SECARA *IN VITRO***

**(SKRIPSI)**

Oleh

**WIWIK FERAWATI**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2016**

## **ABSTRAK**

### **TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH KONSENTRASI BENZILADENIN PADA PERBANYAKAN EKSPAN TUNAS SATU BUKU KECAMBAH UBIKAYU (*Manihot esculenta* CRANTZ ) DUA KLON SECARA *IN VITRO***

Oleh

**WIWIK FERAWATI**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui teknik perkecambahan benih dan pengaruh peningkatan konsentrasi BA terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas ubikayu.

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan yaitu perkecambahan benih ubikayu (percobaan I) dan perbanyakan eksplan tunas satu buku dari kecambah ubikayu (percobaan II). Bahan tanam yang digunakan yaitu benih ubikayu dengan 2 jenis yaitu benih botani F1 keturunan tetua betina klon malang-6 dan klon BL-8. Benih ubikayu dikecambahkan dengan menggunakan 3 metode yaitu pengecambahan secara *in vitro* (metode 1), pengecambahan pada botol kultur yang diberi media campuran pasir dan arang sekam dengan kondisi botol tertutup plastik bening (metode 2), dan pengecambahan pada polybag dengan media campuran tanah dan kompos dalam

lingkungan terbuka. Data hasil percobaan I tidak dianalisis secara statistika. Hasil yang diperoleh dari percobaan 1 yaitu perkecambahan ubikayu pada metode 3 memberikan daya berkecambah yang lebih besar yaitu 53 % dibandingkan dengan perkecambahan benih pada metode 1 dan metode 2 yaitu hanya 2 % dan 22 %. Pada percobaan II eksplan ubikayu berasal dari kecambah ubikayu yang berumur 2 MST dan diambil tunas satu buku dari cabangnya yang mempunyai 3 - 4 buku. Percobaan II dilakukan dengan menggunakan rancangan teracak sempurna (RTS) dengan 1 faktor yaitu 4 taraf konsentrasi Benziladenin (BA) ( 0, 2, 4, dan 6 mg/l) pada media dasar Murashige and Skoog (MS). Perbedaan antarperlakuan dapat dihitung berdasarkan nilai galat baku nilai tengah ( *Standard error of the mean/SE*) dari data setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian media murashige and skoog (MS) yang ditambahkan BA tidak memberikan pengaruh nyata pada penambahan jumlah tunas adventif dan panjang tunas. Panjang tunas terbaik terdapat pada media murashige and skoog (MS) yang tidak ditambahkan ZPT (MS 0) dengan panjang tunas 3,73. Pada media yang ditambahkan BA tunasnya yang dihasilkan lebih pendek.

Kata kunci : Benziladenin (BA), *in vitro*, kecambah , ubikayu.

**TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH BERBAGAI  
KONSENTRASI BENZILADENIN PADA PERBANYAKAN EKSPAN  
TUNAS SATU BUKU DARI KECAMBAH UBIKAYU (*Manihot esculenta*  
CRANTZ ) DUA KLON SECARA *IN VITRO***

**Oleh**

**WIWIK FERAWATI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN**

**pada**

**Program Studi Agroteknologi**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

Judul Skripsi : **TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH KONSENTRSI BENZILADENIN PADA PERTUMBUHAN DAN PERBANYAKAN EKSPAN TUNAS SATU BUKU KECAMBAH UBIKAYU (*Manihot esculenta* CRANTZ) DUA KLON SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Wiwik Ferawati**

No. Pokok Mahasiwa : 1214121229

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI,**

1. Komisi Pembimbing



**Akari Edy, S.P. , M.Si.**  
NIP 197107012003121001



**Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.**  
NIP 196110211985031002

2. Ketua Jurusan agroteknologi



**Prof. Dr. Ir. Sri Yasnaini, M.Si.**  
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Akari Edy, S.P., M.Si.



---

Sekretaris

: Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.



---

Penguji

Bukan Pembimbing

: Sri Ramadiana, S.P., M.Si.



---

2. Dekan Fakultas Pertanian



---

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 08 Desember 2016

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“Teknik Perkecambahan Benih dan Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benziladenin Pada Perbanyakan Eksplan Tunas Satu Buku Dari Kecambah Ubikayu (*Manihot Esculenta Crantz*) Dua Klon Secara *in Vitro*”** merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku di Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 28 Desember 2016

Penulis,



Wiwik Ferawati

NPM 1214121229

## **RIWAYAT PENULIS**

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 25 Februari 1995. Penulis merupakan anak enam dari 6 bersaudara dari pasangan Bapak Hawasi Fauzi dan Ibu Mulyati. Penulis menjalani pendidikan Taman Kanak-kanak di TK Setia Kawan Panjang (1999-2000), dan melanjutkan pendidikan dasar di SD Negeri 2 Panjang Utara (2000-2006). Pendidikan menengah pertama ditempuh di SMP Negeri 11 Bandar Lampung (2006-2009), kemudian dilanjutkan di SMA Negeri 10 Bandar Lampung (2009-2012). Penulis diterima sebagai mahasiswa di Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Pengurus Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT), yaitu sebagai Pengurus Bidang Minat dan Bakat (2013/2014). Selain aktif di Himpunan Mahasiswa Jurusan, penulis juga aktif di Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) Fakultas Pertanian, sebagai Anggota Komisi B (Keuangan) (2014/2015).

Penulis memilih Agronomi sebagai konsentrasi perkuliahan. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar-dasar fisiologi tanaman (2015-2016), Pemuliaan Tanaman (2016), Perbanyakan Tanaman (2016) dan Kultur Jaringan (2016). Penulis juga pernah menjadi Trainer kultur jaringan di



Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Pada 2015, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) Cianjur, Jawa Barat, dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Trijaya, Kecamatan Penawartama, Kabupaten Tulang Bawang.

*Bismillahirohmanirrohim,*

*Puji syukur atas semua nikmat yang telah Allah SWT berikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, penuh rasa syukur dan bangga, aku persembahkan karya kecilku ini kepada:*

*Kedua orangtuaku tersayang dan kakak-kakakku tercinta,*

*sebagai tanda terima kasihku atas doa yang selalu terucap untuk kesuksesan dan semua pengorbanan yang telah diberikan kepada diriku selama ini,*

*dan untuk almamaterku tercinta.*

*Semoga karya kecilku ini merupakan awal dari karya-karya besarku yang akan datang.*

*“Yakinlah ada sesuatu yang menantimu selepas banyak kesabaran (yang kau jalani) yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit.”*

*-Ali bin Abi Thalib-*

*“Setiap proses perubahan belum akan berhasil sebelum manusia berhasil memperbarui cara berfikirnya.”*

*-Rhenald Kasali Ph.d.-*

## SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT. Karena atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pelaksanaan penelitian ini tentu tidak terlepas dari pihak-pihak yang telah memberikan motivasi, bimbingan, saran, dan dukungan. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Akary Edi S.P., M.Si., selaku dosen Pembimbing Utama dan Pembimbing Akademik serta pemberi ide penelitian ini. Terima kasih atas waktu, kesabaran, bimbingan, dan nasihat-nasihat bijak yang selama ini diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku dosen Pembimbing Kedua dan selaku Ketua Bidang Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Terima kasih bimbingan, kesabaran, motivasi, dan nasihat bijak selama penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Sri Ramadiana, S.P. M.Si., selaku dosen Penguji. Terima kasih atas saran, masukan, kritikan, dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
5. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

6. Kedua orang tua, Bapak Hawasi Fauzi dan Ibu Mulyati tercinta beserta kakak-kakakku yang senantiasa memberikan doa, dukungan, semangat, serta perhatian kepada penulis.
7. Doni Irawan, selaku teman terdekat penulis, yang telah memberikan motivasi, semangat, do'a, serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Yenni Sofialita N, Rezlinda Nurbaiti, Yanti Marchelina L, Ria Rizky Lestari, Resti Astria, Vanny Unjunan, Syanda Giantara Ali K.M.dan Rifky, selaku rekan dalam melaksanakan penelitian ini. Terima kasih atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan.
9. Hayane Adelina Warganegara, S.P., M.Si., dan kru Laboratorium yang telah memberikan bantuan, saran, dan semangat juang selama penelitian dan penulisan skripsi.
10. Sahabat-sahabat Agroteknologi 2012, Sekar Laras P,Tiara Anggun P,Yossie Linawati, Rini Septiani, Tri Budi Santoso yang telah memberikan semangat dan menemani penulis dalam penulisan skripsi.
11. Saudara serta sahabat penulis Mila dan teman –teman penulis yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam penulisan skripsi.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya dan semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunianya atas bantuan yang telah mereka berikan kepada penulis. Amin.

Bandar Lampung, 28 Desember 2016

Penulis,

**Wiwik Ferawati**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Landasan Teori.....	5
1.5 Kerangka Pemikiran.....	8
1.6 Hipotesis .....	9
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	10
2.1 Tanaman Ubi Kayu .....	10
2.2 Perkecambahan Benih .....	11
2.3 Kultur Jaringan.....	13
2.3.1 Zat Pengatur Tumbuh .....	14
2.3.2 Kultur Jaringan Ubikayu .....	15
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	18
3.1 <i>Percobaan I</i> Perkecambahan Benih Ubi Kayu .....	18
3.1.1 <i>Bahan Tanam</i> .....	18
3.1.2 <i>Metode Penelitian</i> .....	19
3.1.3 <i>Pelaksanaan Penelitian</i> .....	19
3.1.3.1.1 <u>Penyiapan Media Tanam</u> .....	19

3.1.3.1.2	<u>Penanaman Benih</u> .....	21
3.1.3.1.3	<u>Variabel Pengamatan</u> .....	24
3.2	Percobaan II Pertumbuhan dan Perbanyakkan Tunas Satu Buku dari Kecambah Ubi Kayu <i>in Vitro</i> .....	24
3.2.1	<i>Bahan Tanaman</i> .....	24
3.2.2	<i>Metode Penelitian</i> .....	25
3.2.3	<i>Pelaksanaan Penelitian</i> .....	26
3.2.3.1	<i>Sterilisasi Alat</i> .....	26
3.2.3.2	<i>Media Prekondisi dan Media Perlakuan</i> .....	26
3.2.3.3	<i>Sterilisasi Eksplan</i> .....	27
3.2.3.4	<i>Penanaman Eksplan Steril</i> .....	27
3.2.3.5	<i>Kultur Awal</i> .....	28
3.2.3.6	<i>Subkultur</i> .....	28
3.2.3.7	<i>Pemeliharaan</i> .....	29
3.2.3.8	<i>Pengamatan</i> .....	29
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian</b> .....	<b>30</b>
4.1.1	<i>Percobaan I</i> Perkecambahan Benih Ubi Kayu .....	30
4.1.2	<i>Percobaan II</i> Pertumbuhan dan Perbanyakkan Tunas Satu Buku dari Kecambah Ubi Kayu.....	33
4.1.2.2	<u>Kultur Pada Media Prekondisi</u> .....	34
4.1.2.3	<u>Panjang Tunas</u> .....	35
4.1.2.4	<u>Jumlah Tunas</u> .....	37
4.1.2.5	<u>Persentase Kalus</u> .....	40
<b>4.2</b>	<b>Pembahasan</b> .....	<b>41</b>
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan</b> .....	<b>48</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran</b> .....	<b>49</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>50</b>
	<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>53 - 62</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Benih ubi kayu a). varietas malang-6 dan b). varietas BL-8.....	18
2. Media campuran pasir dan sekam bakar yang telah dilakukan sterilisasi.....	20
3. Media campuran tanah dan kompos yang telah dimasukkan ke dalam polybag.....	21
4. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengecambahan benih secara in vitro a). Alat yang digunakan, b). Benih yang akan disterilisasi, c). Air steril, dan d) Bayclin sebagai larutan klorok.....	22
5. Kultur benih pada media MS 0. ....	22
6. Kultur benih ubikayu pada botol kultur yang disungkup 7HST .....	23
7. Benih ubi kayu yang ditanam pada polybag .....	24
8. Kecambah ubi kayu yang akan dilakukan penanaman di <i>Laminar Air Flow (LAF)</i> .....	24
9. Proses sterilisasi eksplan sebelum dilakukan penanaman pada media prekondisi a). Alat dan bahan yang digunakan, b)Kecambah yang akan dijadikan eksplan yang akan disterilisasi, c). pemberian larutan klorok pada eksplan yang akan disterilisasi, dan d).Sterilisasi dengan menggocangkan botol selama 10 menit. ....	27
10. Penanaman eksplan a). Pemotongan eksplan, b). Eksplan tunas satu buku, c) Penanaman eksplan pada media kultur, d). Eksplan yang telah ditanam dalam media MS 0 dan diisolasi pada ruang kultur. ....	28
11. Penampilan kecambah ubi kayu a). Kultur <i>in vitro</i> b). pada media campuran pasir dan sekam bakar dalam botol yang disungkup, dan c). pada media campuran tanah dan kompos dalam polybag di lingkungan terbuka.....	31



12. Rata-rata panjang tunas pada eksplan ubikayu yang dikultur pada media prekondisi (MS 0) selama 7 hari setelah tanam .....	35
13. Rata-rata panjang tunas pada eksplan ubikayu pada berbagai media tanpa ZPT (MS 0) dan media dengan beberapa konsentrasi benziladenin (MS + BA) .....	36
14. Penampakan visual panjang tunas eksplan ubi kayu varietas Malang-6 pada media perlakuan a).MS +BA 0 mg/l, b). MS + BA 2 mg/l, c).MS + BA +4 mg/l, d).MS + BA 6 mg/l .....	37
15. Penampakan visual panjang tunas pada eksplan ubi kayu varietas BL-8 pada media perlakuan a). MS + BA 0 mg/l, b). MS + BA 2 mg/l, c). MS + BA 4 mg/l , dan d). MS+ BA 6 mg/l.....	37
16. Rata-rata jumlah tunas pada eksplan pada berbagai media tanpa ZPT dan media dengan beberapa konsentrasi benziladenin .....	38
17. Penampakan visual jumlah tunas pada eksplan ubi kayu varietas Malang-6 pada media perlakuan a). MS + BA 0 mg/l, b). MS + BA 2 mg/l, c). MS + BA 4 mg/l , dan d). MS+ BA 6 mg/l .	39
18. Penampakan visual jumlah tunas pada eksplan ubi kayu varietas BL-8 pada media perlakuan a). MS + BA 0 mg/l, b). MS + BA 2 mg/l, c). MS + BA 4 mg/l , dan d). MS+ BA 6 mg/l.....	39
19. Rata-rata persentase jumlah eksplan ubikayu membentuk kalus pada 6 minggu setelah tanam .....	40
20. Penampakan visual eksplan ubi kayu varietas Malang-6 yang membentuk kalus .....	41
21. Penampakan visual eksplan ubi kayu varietas BL-8 yang membentuk kalus .....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rekapitulasi hasil pengamatan perkecambahan benih ubi kayu Pada 3 metode perkecambahan. ....	33
2. Formulasi Media Murashige dan Skoog (MS).....	54
3. Peranan masing-masing unsur hara dan vitamin dalam media kultur .....	55
4. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas malang-6 pada media prekondisi 7 hari setelah tanam.....	56
5. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas Malang-6 pada 6 minggu setelah tanam ( $\pm$ Standard Error/SE).....	56
6. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas BL-8 pada media prekondisi 7 hari setelah tanam.....	57
7. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas BL-8 pada 7 hari setelah tanam ( $\pm$ Standard Error/SE).....	57
8. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas Malang-6 pada 6 minggu setelah tanam .....	58
9. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas Malang-6 pada 6 minggu setelah tanam ( $\pm$ Standard Error/SE).....	58
10. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas BL-8 pada 6 minggu setelah tanam .....	59
11. Rata-rata panjang tunas ubi kayu varietas BL-8 pada 6 minggu setelah tanam ( $\pm$ Standard Error/SE).....	59

12. Rata-rata jumlah tunas ubi kayu varietas Malang-6 pada 6 minggu setelah tanam .....	60
13. Rata-rata jumlah tunas ubi kayu varietas Malang-6 pada 6 minggu setelah tanam ( $\pm$ <i>Standard Error/SE</i> ).....	60
14. Rata-rata jumlah tunas ubi kayu varietas BL-8 pada 6 minggu setelah tanam .....	61
15. Rata-rata jumlah tunas ubi kayu varietas BL-8 pada 6 minggu setelah tanam ( $\pm$ <i>Standard Error/SE</i> ).....	61
16. Rata-rata persentase eksplan berkalus pada ubi kayu varietas Malang-6 .....	62
17. Rata-rata persentase eksplan berkalus pada ubi kayu varietas BL-8 .....	62

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz.) adalah tanaman perdu semusim dari famili *Euphorbiaceae* yang tumbuh di daerah tropika dan subtropika. Ubikayu banyak dibudidayakan di Indonesia, karena hampir seluruh wilayah di Indonesia tanaman ubikayu dapat tumbuh dengan baik. Ubikayu merupakan sumber energi yang kaya karbohidrat, oleh karena itu ubikayu dijadikan sebagai pangan alternatif. Di Indonesia ubikayu banyak dijadikan olahan pangan seperti keripik, gaplek, tape dan olahan lainnya. Sedangkan pada bidang industri ubikayu sebagai bahan baku tapioka dan bioethanol. Penghasil ubikayu terbesar di Indonesia yaitu Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, dan Lampung.

Di Indonesia produksi ubikayu pada tahun 2014 didominasi oleh provinsi Lampung sebesar 8.034.016 ton selanjutnya provinsi Jawa Timur sebesar 3.635.454 ton, Jawa Tengah sebesar 3.977.810 ton, dan Jawa Barat sebesar 2.250.024. Ubikayu merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan di Provinsi Lampung. Pada tahun 2014, total luas lahan di provinsi Lampung yang ditanami ubikayu

adalah 304.468 ha dengan total produksi 8.034.016 ton yang berarti produktivitas lahan sekitar 263,87 ku/ha (Badan Pusat Statistik, 2015).

Kebutuhan ubikayu sebagai bahan baku industri etanol semakin meningkat tetapi produksi ubikayu di Indonesia dari tahun ke tahun mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh produksi ubikayu untuk setiap daerah yang relatif rendah dan semakin sedikitnya lahan produksi yang dapat ditanami. Di samping itu, kurangnya ketersediaan bibit ubikayu yang unggul. Oleh karena itu, varietas baru yang memiliki produksi dan kadar pati yang tinggi terus dibutuhkan dalam pengembangan tanaman ubikayu untuk petani dan industri pengolahan ubikayu (Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, 2014).

Pemuliaan dilakukan untuk merakit varietas baru ubikayu yang mempunyai karakter unggul seperti produksi dan kadar pati yang tinggi. Setelah varietas baru dihasilkan belum cukup untuk langsung dibudidayakan secara massal karena untuk penanaman ubikayu jumlah bibit yang diperlukan dalam satu hektar cukup banyak. Sehingga diperlukan teknik perbanyakan tanaman yang dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah banyak dan dengan waktu yang relatif cepat. Kultur jaringan adalah teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif yang dapat menghasilkan tanaman baru yang seragam dalam jumlah banyak dan dengan waktu yang relatif cepat. Sehingga dengan teknik ini kita dapat menghasilkan bibit unggul ubikayu dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif cepat.

Salah satu faktor pendukung dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* yaitu penggunaan ZPT yang tepat yang akan dicampurkan dalam media. ZPT yang

merangsang pertumbuhan dan perbanyakkan tunas *in vitro* adalah sitokinin.

Sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur *in vitro* untuk perbanyakkan tunas antara lain Benziladenin (BA). Penentuan konsentrasi benziladenin yang tepat untuk pertumbuhan dan perbanyakkan tunas ubikayu merupakan salah satu faktor yang penting sebagai protokol dalam transformasi genetik untuk menghasilkan tanaman transgenik dalam jumlah yang banyak.

Transformasi genetik merupakan salah satu kegiatan manipulasi genetik dengan melakukan introduksi DNA rekombinan yang sebelumnya telah disisipkan ke dalam vektor sel inang yang sesuai. Transformasi umumnya digunakan untuk mengetahui ekspresi dari DNA rekombinan (Wong,2006). Transformasi genetik merupakan salah satu teknik rekayasa genetika yang dapat menghasilkan tanaman transgenik yang memiliki sifat baru seperti meningkatkan kualitas hasil. Webb dan Moris (1992) menyatakan bahwa dasar keberhasilan transformasi genetik adalah kemampuan sel target untuk berkembang menjadi tanaman utuh . Teknik kultur jaringan membuka peluang untuk menyediakan sel target yang terdapat dalam organ tanaman (daun, batang, hipokotil, dan kotiledon) yang terdapat dalam kalus atau kultur suspensi sel dan bahkan protoplas. Sel-sel ini dapat diinduksi dan berkembang menjadi tanaman baru melalui inisiasi pembentukan tunas baru atau melalui embriogenesis. Pemilihan metode transfer gen pada umumnya tergantung pada spesies tanaman yang digunakan dan kemampuan regenerasi tanaman tersebut secara *in vitro*. Menurut Zhang *et al.*(2001), rekayasa genetik ubikayu mempunyai potensi yang besar untuk melengkapi teknik pemuliaan tradisional dalam menghasilkan bibit yang tahan terhadap hama dan penyakit atau meningkatkan mutu umbinya. Thro *et al.* (1999) memfokuskan penelitian *in vitro*

ubikayu pada propagasi klonal dan teknologi transformasi genetik untuk memperoleh sifat-sifat yang diinginkan. Jaringan embriogenik telah digunakan sebagai target transformasi genetik maupun regenerasi tanaman ubikayu transgenik (Taylor *et al.*, 2001). Joseph *et al.* (2004) menggunakan kalus embriogenik sebagai bahan penelitian induksi mutasi pada ubikayu melalui radiasi sinar-Y.

Perluasan keragaman genetik dari klon ubikayu diperoleh dari persilangan alami atau buatan. Karena ubikayu secara alamiah dapat menyerbuk silang dan seleksi dilaksanakan pada generasi F1, klon-klon ubikayu secara genetik bersifat heterozigot. Klon-klon ubikayu yang ditumbuhkan dari benih botani memiliki keragaman yang luas. Tetapi salah satu kendala yang dihadapi dalam pengecambahan benih botani ini yaitu nilai daya kecambah yang relatif rendah. Nassar dan Hair (1985), menyatakan bahwa dari hasil evaluasi terhadap 51 klon ubikayu di Brazil daya berkecambah pada 15 dan 30 hari setelah tanam berturut-turut berkisar antara 0-30% dan 10-56%. Hal ini dikarenakan benih dorman. Benih yang mengalami dormansi tidak akan berkecambah walaupun berada pada kondisi lingkungan yang optimal untuk perkecambahannya.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang dibuat didapatkan rumusan masalah yaitu bagaimana teknik perkecambahan ubikayu dan respon perbanyakannya dan

pertumbuhan eksplan tanaman ubikayu terhadap pemberian beberapa konsentrasi BA.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah yang telah dikemukakan maka tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui teknik perkecambahan benih ubikayu yang baik untuk pertumbuhan perkecambahannya.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi Benziladenin (BA) pada pertumbuhan dan perbanyakan eksplan tanaman ubikayu secara *in vitro*.

### 1.4 Landasan Teori

Benih botani ubikayu sangat jarang digunakan dalam proses pembudidayaannya. Biji tanaman jarak pagar (*Jatropha curcus*) yang memiliki family yang sama dengan ubikayu yaitu *Euphorbiaceae* memiliki struktur kulit biji yang keras atau berdaging. Hal ini dapat menghambat proses perkecambahan benih sehingga mengakibatkan benih lama berkecambah. Proses perkecambahan benih ubikayu yang lama menjadi salah satu alasan mengapa benih botani ubikayu hanya digunakan untuk pemuliaan tanaman.

Salah satu faktor yang mengakibatkan benih botani rendah daya berkecambah yaitu dormansi benih. Dormansi benih disebabkan oleh beberapa faktor antara lain, embrio yang tidak sempurna, embrio yang belum masak, kulit benih tebal, kulit benih impermeable, dan terdapat senyawa-senyawa yang menghambat



perkecambahan (Copeland and Mc.Donald,2001). Menurut Sutopo (2002), dormansi dikelompokkan menjadi 2 tipe yaitu dormansi fisik disebabkan oleh pembatasan struktural terhadap perkecambahan biji, seperti kulit biji yang keras dan kedap sehingga menjadi penghalang mekanis terhadap masuknya air atau gas-gas ke dalam biji. Benih-benih yang termasuk dalam tipe dormansi ini disebut sebagai benih keras karena mempunyai kulit biji yang keras dan strukturnya terdiri dari lapisan sel-sel palisade berdinding tebal terutama di permukaan paling luar dan bagian dalamnya mempunyai lapisan lilin dan bahan kutikula. Utomo et al. (2012) menyatakan bahwa perlakuan pra-pengecambahan dengan perendaman benih padalarutan  $H_2SO_4$  selama 5 menit yang diikuti pengecambahan pada media tanah menunjukkan Persentase Daya Berkecambah (PDB) dan Kecepatan Berkecambah (KB) yang tinggi. PDB dan KB perlakuan tersebut berturut-turut sebesar 96%; 10,5% per hari; sedangkan PDB dan KB control berturut-turut sebesar 78,7% dan 6,8% per hari.

Kultur jaringan adalah suatu teknik untuk menumbuh kembangkan bagian tanaman di dalam tabung transparan (*in vitro*), secara aseptik/aksenik pada media kultur yang berisi hara dan mineral yang lengkap dalam kondisi lingkungan yang terkendali. Yusnita (2003) menyatakan bahwa perbanyakan *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu pengkulturan satu buku, tunas samping (*axillary branching*) dari eksplan ujung tunas, metode pembiakan dengan kultur organogenesis, dan embriogenesis *de novo*. Metode perbanyakan tunas samping dari eksplan ujung tunas akan membentuk tunas-tunas majemuk. Perbanyakan dengan metode percabangan tunas samping ini sering digunakan karena relatif

sederhana, aberasi genetik sangat kecil, dan perbanyakannya berlangsung cukup cepat.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan pada perbanyakan *in vitro* adalah auksin dan sitokinin. Nisbah sitokinin/auksin yang tinggi pada tanaman akan merangsang inisiasi akar, dan nisbah sitokinin/auksin dalam jumlah yang seimbang akan merangsang terbentuknya kalus. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam perbanyakan secara *in vitro* adalah penambahan ZPT. ZPT yang banyak digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perbanyakan tunas secara *in vitro* . yaitu sitokinin seperti BA. BA merupakan salah satu ZPT yang banyak digunakan untuk memacu pembentukan tunas dengan daya aktivitas yang kuat dalam mendorong proses pembelahan sel (George dan Sherrington, 1996).

Hasil penelitian Ardian (2009) didapatkan bahwa pertumbuhan tunas mikro ubikayu terbaik dicapai pada perlakuan 0,5 mg/l benziladenin yang menghasilkan 8 tunas aksilar yang terbentuk pada 4 minggu setelah kultur . Le *et al* (2007) melaporkan penelitiannya bahwa konsentrasi 5 mg/ l BA pada media MS adalah konsentrasi terbaik untuk organogenesis ubikayu varietas K140 dengan jumlah mata tunas baru 12,4 dan frekuensi organogenesis 47,7%. Hasil penelitian Faye *et al* (2015), menyatakan bahwa pertumbuhan tunas dan akar yang terbaik didapatkan pada media MS dengan konsentrasi kinetin 0,1mg/l, sedangkan proliferasi tunas dan daun tertinggi terdapat pada media MS dengan konsentrasi BAP 1 mg/l. Maryani dan Zamroni (2005), mendapatkan bahwa pada tunas krisan secara *in vitro* perlakuan tanpa BA (0 ppm) ternyata memberikan jumlah akar banyak dan kecenderungan jumlah akar menurun dengan meningkatnya konsentrasi BA.

Kemampuan menghambat pertumbuhan akar ini sangat penting untuk pengandaan tunas. Hasil penelitian pada tanaman Almond (*Amygdalus communis* L. cv. Yaltsinki) (Akbas *et al.*, 2009) mendapatkan bahwa media MS dengan penambahan 1 mg/l BA menghasilkan multiplikasi tunas terbanyak, yaitu 2,25 tunas per eksplan, namun peningkatan konsentrasi BA lebih lanjut menjadi 2 atau 4 mg/l menghasilkan jumlah tunas yang cenderung lebih sedikit (2,12 tunas/eksplan) dan tunas yang dihasilkan lebih pendek.

### **1.5 Kerangka Pemikiran**

Perkecambahan benih botani F1 ubikayu hasil pemuliaan tanaman mengalami kendala untuk dapat berkecambah karena nilai daya kecambah benih yang relatif rendah. Hal ini dikarenakan benih dorman. Benih ubikayu yang mengalami dormansi tidak dapat berkecambah walaupun berada di dalam lingkungan yang optimal untuk perkecambahannya. Rendahnya nilai daya berkecambah benih juga dikarenakan sifat fisik dari benih tersebut. Benih ubikayu memiliki kulit yang keras sehingga perlu adanya perlakuan fisik pada benih.

Penemuan varietas baru harus diimbangi dengan teknik perbanyak tanaman yang efektif sehingga varietas baru yang dihasilkan dapat diperbanyak dengan waktu yang relatif cepat dan keunggulannya dapat dirasakan oleh petani. Salah satu teknik yang dapat dilakukan untuk mendapatkan bibit tanaman yang banyak dan dengan waktu yang relatif cepat yaitu dengan kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu teknik menumbuhkembangkan jaringan tanaman di dalam tabung transparan (*in vitro*) pada media yang berhara lengkap dan dalam kondisi lingkungan yang terkendali (Yusnita,2013).

Penggunaan ZPT yang tepat merupakan faktor pendukung dalam keberhasilan dalam kultur jaringan. ZPT merupakan bahan organik bukan hara yang dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Jenis ZPT yang banyak digunakan dalam kultur jaringan yaitu sitokinin dan auksin. Sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Beberapa macam sitokinin merupakan sitokinin alami (kinetin dan zeatin) dan lainnya merupakan sitokinin sintetik. Peningkatan konsentrasi sitokinin akan menyebabkan sistem tunas membentuk cabang dalam jumlah yang lebih banyak (Dewi,2008).

BA merupakan jenis sitokinin yang banyak digunakan karena mudah diperoleh dan harganya yang relatif murah. BA dapat merangsang multiplikasi tunas. Oleh karena itu, untuk mendapatkan prosedur perbanyakan tanaman ubikayu secara *in vitro* yang optimal dilakukan dengan menentukan tingkat konsentrasi BA yang terbaik.

## **1.6 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan dapat disimpulkan hipotesis yaitu :

1. Terdapat teknik perkecambahan benih yang dapat mempercepat benih berkecambah.
2. Peningkatan konsentrasi BA , akan memberikan respon terhadap jumlah tunas yang dihasilkan pada eksplan tunas satu buku tanaman ubikayu secara *in vitro*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Ubikayu

Klasifikasi botani dari ubikayu adalah Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Kelas : Dicotyledonae, Ordo : Malphigiales, Famili: Euphorbiaceae, Genus : Manihot, Spesies : *Manihot esculenta* Crantz (Prihardana dan Hendroko, 2007).

Pemanfaatan ubikayu dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu sebagai bahan baku industri dan sebagai bahan pangan. Ubikayu sebagai bahan pangan harus memenuhi syarat utama, yaitu tidak mengandung racun HCN (< 50 mg per Kg umbi basah). Sementara itu, ubikayu untuk bahan baku industri tidak disyaratkan adanya kandungan protein maupun ambang batas HCN, tapi yang diutamakan adalah kandungan karbohidrat yang tinggi. Pemanfaatan ubikayu sebagai bahan baku tepung tapioka merupakan pemakaian terbesar, tapi di beberapa tempat seperti daerah Jawa Tengah dan Yogyakarta pemanfaatan langsung jauh lebih banyak dibandingkan dengan yang dibuat tepung tapioka (Popoola dan Yangomodou, 2006).

Ubikayu dapat dimanfaatkan menjadi pangan pokok setelah beras dan jagung. Daun ubikayu dapat diolah sebagai sayuran. Batang dapat digunakan untuk membuat pagar kebun dan kayu bakar. Seiring berkembangnya ilmu

pengetahuandan teknologi pada saat ini, tanaman ubikayu dapat digunakan sebagai bahan dasar pada industri makanan, pakan ternak, dan bahan baku pembuatan etanol dengan produktivitas 2.000 – 7.000 liter etanol per hektar (2009).

Jenis Klon ubikayu yang dapat ditanam antara lain adalah UJ-3 (Thailand), UJ-5 (kasetsart), Adita-1, Adira-2, Adira-4, Malang-1, Malang-2, Malang-4, Malang-6 Darul Hidayah, dan Klon lokal (Barokah, Manado, Klenteng, Mekarmanik, dan lain –lain).

## **2.2 Perkecambahan Benih**

Perkecambahan benih secara fisiologis adalah muncul dan berkembangnya struktur-struktur penting dari embrio benih sampai dengan akar menembus kulit benih. Proses metabolisme perkecambahan benih ditentukan oleh faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetik yang berpengaruh terhadap perkecambahan benih adalah sifat dormansi dan komposisi kimia benih. Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap perkecambahan benih adalah air, gas, suhu, dan cahaya. Proses perkecambahan benih merupakan suatu rangkaian kompleks dari perubahan-perubahan morfologi, fisiologi, dan biokimia (Copeland and Mc. Donald, 2001).

Benih dikatakan dorman apabila benih tersebut sebenarnya hidup tetapi tidak berkecambah meskipun diletakkan pada keadaan yang umum dianggap memenuhi persyaratan bagi suatu perkecambahan (Sutopo, 2002). Dormansi merupakan fenomena fisiologis yang menunjukkan ketidakmampuan benih hidup untuk

berkecambah pada kondisi optimum. Dormansi benih dapat berlangsung beberapa hari, beberapa minggu hingga beberapa bulan tergantung pada jenis tanaman (Copeland and Mc.Donald,2001). Utomo et al. (2012) menyatakan bahwa perlakuan pra-pengecambahan dengan perendaman benih padalarutan  $H_2SO_4$  selama 5 menit yang diikuti pengecambahan pada media tanah menunjukkan Persentase Daya Berkecambah (PDB) dan Kecepatan Berkecambah (KB) yang tinggi. PDB dan KB perlakuan tersebut berturut-turut sebesar 96%; 10,5% per hari; sedangkan PDB dan KB control berturut-turut sebesar 78,7% dan 6,8% per hari.

Beberapa cara yang sudah diketahui untuk mematahkan dormansi benih:

1. Perlakuan Mekanis

Disebabkan oleh impermeabilitas kulit biji terhadap air atau gas, resistensi mekanis kulit perkecambahan yang terdapat pada kulit biji. Dapat dilakukan skarifikasi yang mencakup cara-cara seperti mengikir, mengamplas dengan kertas amplas, melubangi dengan pisau atau jarum.

2. Perlakuan Kimia

Dengan menggunakan larutan kimia dengan tujuan agar kulit biji lebih mudah dimasuki air pada waktu proses imbibisi. Asam sulfat dan asam nitrat dengan konsentrasi pekat dapat membat kulit biji menjadi lebih lunak.

3. Perlakuan Perendaman Air

Beberapa benih diberi perendaman air agar memudahkan penyerapan air oleh benih (Sutopo,1993).

### 2.3 Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan teknik untuk menumbuhkembangkan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan ataupun organ dalam keadaan aseptik secara *in vitro*, yang ditandai dengan kondisi kultur aseptik, penggunaan media buatan yang mengandung nutrisi lengkap, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) serta kondisi ruang kultur, suhu dan pencahayaan yang terkontrol (Yusnita, 2003).

Menurut Yusnita (2003), terdapat lima tahapan dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan, yaitu:

1. Tahap 0 merupakan tahap pemilihan dan persiapan tanaman induk untuk eksplan. Tanaman yang akan dikulturkan harus jelas jenis dan varietasnya, serta terbebas dari hama dan penyakit tanaman
2. Tahap 1 merupakan inisiasi kultur (*culture establishment*). Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik. Sterilisasi merupakan langkah yang harus dilakukan untuk mendapatkan kultur yang bebas kontaminan.
3. Tahap 2 merupakan tahap multiplikasi tunas. Multiplikasi tunas merupakan perbanyakan tunas maupun embrio tanaman. Tahapan ini dilakukan dengan mengkondisikan eksplan pada lingkungan hormonal yang sesuai. Setelah diperoleh banyak tunas, subkultur dapat dilakukan beberapa kali sampai jumlah tunas yang diharapkan tercapai.
4. Tahap 3 merupakan tahap persiapan untuk transfer planlet ke lingkungan eksternal, seperti pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Tahapan ini juga membutuhkan lingkungan hormonal yang sesuai. Pemanjangan tunas dan



pengakaran dapat dilakukan bersamaan atau secara bertahap, yaitu pemanjangan tunas terlebih dahulu baru diakarkan.

5. Tahap 4 merupakan tahap aklimatisasi plantlet ke lingkungan eksternal.

Konsep dasar aklimatisasi adalah memindahkan plantlet ke media aklimatisasi dengan intensitas cahaya rendah dan kelembapan nisbi tinggi kemudian berangsur-angsur intensitas cahaya dinaikkan dan kelembapan diturunkan.

Keunggulan teknik perbanyak tanaman dengan kultur jaringan adalah mampu menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif singkat, bebas patogen, dapat dilakukan sepanjang tahun, tidak memerlukan tempat yang luas, dan bibit yang dihasilkan bersifat *true-to type* (Yusnita, 2003).

Media tumbuh kultur merupakan salah satu syarat agar kultur berjalan baik (George dkk.,2008) secara fisik media kultur dibagi menjadi dua yaitu media cair dan media padat (Yusnita,2003).dalam media terkandung komponen yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Komponen dalam media kultur yaitu hara makro dan mikro, sukrosa sebagai sumber energi, aquadessebagai pelarut, bahan aktif untuk mengaktifkan pertumbuhan, vitamin, asam amino, agar sebagai pematat, dan ZPT (Yusnita,2003).

### **2.3.1 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan semua senyawa, baik yang alami atau sintetik, yang dalam konsentrasi rendah dapat mengatur (merangsang atau menghambat) pertumbuhan dan perkembangan sel atau tanaman (Yusnita, 2010).

Menurut Yusnita (2010), semua hormon adalah ZPT tetapi tidak semua ZPT adalah hormon.

Sitokinin merupakan senyawa adenin yang memacu pembelahan sel pada sistem jaringan. Terdapat 2 jenis sitokinin, yaitu sitokinin alami (zeatin, zeatin ribosa, isopentil adenin, dan dihidrozeatin) dan sitokinin sintetis (kinetin, benziladenin (BA), PBA, 2C1-4PU, 2,6C1-4PU, dan thidiazuron). Struktur sitokinin mempunyai rantai samping panjang serta kaya akan atom hidrogen dan oksigen yang menempel pada nitrogen yang menonjol dari puncak cincin purin (Sandra, 2013).

BA merupakan jenis sitokinin yang sering kali dipakai dalam kultur jaringan. BA molekul sebesar 225,26 g/mol. Dengan konsentrasi 0,5-10 mg/l dapat merangsang multiplikasi tunas aksilar dan relatif mudah diperoleh serta lebih murah dari TDZ (Yusnita, 2003).

### **2.3.2 Kultur Jaringan Ubikayu**

Yusnita (2003) menyatakan bahwa kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur berisi hara lengkap dan kondisi lingkungan terkendali untuk tujuan tertentu. Prinsip yang mendasari kultur jaringan adalah teori totipotensi sel, konsep Skoog dan Miller, dan adanya sifat kompeten, dediferensiasi, dan determinasi tanaman. Teori totipotensi dikemukakan oleh Schwann dan Schleiden pada tahun 1838 menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika

kondisinya sesuai. Teori ini baru terbukti berkat penemuan hormon auksin dan percobaan yang dilakukan oleh Skoog dan Miller pada tahun 1957. Skoog dan Miller menyebutkan bahwa regenerasi tunas dan akar *in vitro* (organogenesis) dikontrol secara hormonal oleh sitokinin dan auksin. Namun kecepatan organogenesis maupun embriogenesis dipengaruhi oleh sifat kompeten, dediferensiasi, dan determinasi eksplan tanaman. Hasil penelitian Ardian (2009) didapatkan bahwa pertumbuhan tunas mikro ubikayu terbaik dicapai pada perlakuan 0,5 mg/l benziladenin yang menghasilkan 8 tunas aksilar yang terbentuk pada 4 minggu setelah kultur. Le *et al* (2007) melaporkan penelitiannya bahwa konsentrasi 5 mg/l BA pada media MS adalah konsentrasi terbaik untuk organogenesis ubikayu varietas K140 dengan jumlah mata tunas baru 12,4 dan frekuensi organogenesis 47,7%. Hasil penelitian Faye *et al* (2015), menyatakan bahwa pertumbuhan tunas dan akar yang terbaik didapatkan pada media MS dengan konsentrasi kinetin 0,1mg/l, sedangkan proliferasi tunas dan daun tertinggi terdapat pada media MS dengan konsentrasi BAP 1 mg/l. Priadi dan Sudarmonowati (2006) mendapatkan bahwa sebagian besar kalus embriogenik dihasilkan dari eksplan yang berukuran lebih dari 5 mm yang diperoleh dari daun pucuk tanaman ubikayu yang dipelihara *in vitro*. Persentase kalus embriogenik tertinggi (100%) diperoleh dari genotipe Iding, sedangkan terendah (33%) diperoleh dari genotipe Timtim 29.

Salah satu prasyarat keberhasilan transformasi genetik ubikayu adalah kemampuan untuk menghasilkan atau meregenerasikan tanaman fertil dari sel atau jaringan

yang dikulturkan. Oleh karena itu dibutuhkan suatu protokol dapat dilakukan untuk pemuliaan tanaman ubikayu sehingga didapatkan tanaman ubikayu yang unggul dengan produksi yang tinggi dan kadar pati yang tinggi. Salah satu cara yang cepat sekaligus mempertahankan sifat unggul induk adalah menggunakan metode kultur jaringan. Jaringan embriogenik telah digunakan sebagai target transformasi genetik maupun regenerasi tanaman ubikayu transgenik (Taylor *et al.*, 2001). Kalus embriogenik adalah media yang efektif untuk transformasi genetik melalui teknik *particle bombardment* maupun *Agrobacterium*. Joseph *et al.* (2004) juga menggunakan kalus embriogenik sebagai bahan penelitian induksi mutasi pada ubikayu melalui iradiasi sinar  $\gamma$ .

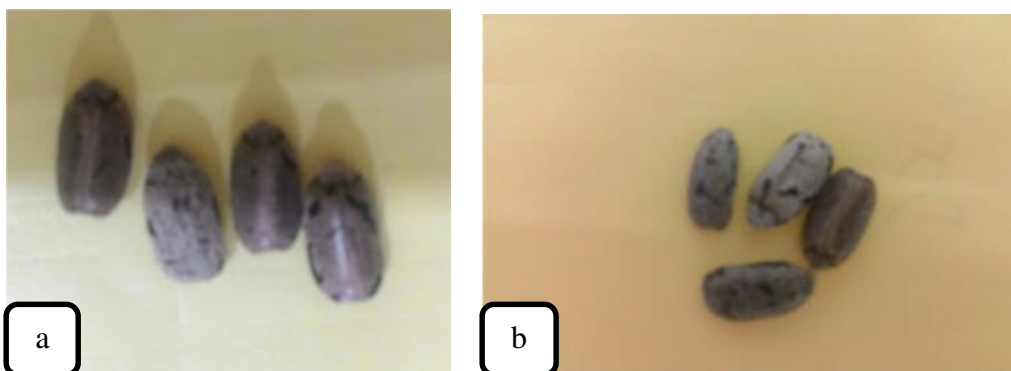
### III. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan yaitu perkecambahan benih ubikayu (Percobaan I) dan perbanyakkan eksplan tunas satu buku dari kecambah ubikayu (Percobaan II). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Juli 2016.

#### 3.1 Percobaan I. Perkecambahan benih ubikayu

##### 3.1.1 Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan yaitu benih ubikayu dengan 2 jenis yaitu benih botani F1 keturunan tetua betina klon Malang-6 dan Klon BL-8 (Gambar 1) dengan masa simpan benih 4 bulan.



Gambar 1. Benih ubikayu a). klon malang-6 dan b). klon BL-8.

### 3.1.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pengecambahan benih dengan menggunakan 3 metode yaitu:

1. Metode 1 : Benih dikecambahkan secara *in vitro* pada media Murashige and Skoog tanpa ZPT (MS 0). Benih yang ditanam yaitu ubikayu klon Malang-6, Thailand, Kasesart, dan Klenteng. Setiap satu botol kultur ditanam 5 benih ubikayu. Setiap klon terdapat 3 ulang sehingga diperoleh 3 botol kultur.
2. Metode 2 : Benih dikecambahkan pada botol kultur yang ditutup plastik transparan dengan menggunakan media campuran pasir dan arang sekam yang telah disterilisasi. Benih yang ditanam yaitu ubikayu klon Malang-6, malang-8, dan kasesart. Masing-masing botol kultur diisi 4 benih ubikayu. Setiap klon terdapat 3 botol.
3. Metode 3: Benih dikecambahkan pada polybag dengan menggunakan media campuran tanah dan kompos. Benih yang ditanam yaitu ubikayu klon Malang-6, BL-8, Thailand, Kasesart, dan Malang-8. Masing-masing polybag ditanam 15 benih ubikayu. Diperoleh 5 polybag untuk pengecambahan.

### 3.1.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.1.3.1 *Penyiapan media tanam*

Media tanam yang digunakan yaitu media dasar Murashige and Skoog tanpa ZPT (MS 0) untuk pengecambahan pada kultur *in vitro* pada kondisi lingkungan terkendali, media campuran pasir dan sekam bakar untuk pengecambahan benih

pada botol kultur yang disungkup di lingkungan luar, dan media campuran tanah dan kompos untuk pengecambahan benih pada polybag.

Media untuk kultur *in vitro* dibuat sesuai dengan formulasi media MS 0 tanpa penambahan ZPT. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf Tomy selama 7 menit untuk menghindari kontaminasi media oleh mikroorganisme dari luar. Media tersebut disimpan pada ruang kultur dengan kondisi lingkungan yang terkendali.

Media campuran pasir dan sekam bakar dicampurkan dengan perbandingan masing-masing bahan yaitu 1:1 yang kemudian dilakukan sterilisasi dengan pengukusan dengan menggunakan dandang selama  $\pm$  1 jam (Gambar 2). Setelah itu media dikering anginkan. Media yang sudah dingin dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah dilakukan sterilisasi setinggi 1/3 bagian botol kultur.



Gambar 2. Media campuran pasir dan sekam bakar yang telah dilakukan sterilisasi.

Media campuran tanah dan kompos yaitu dengan menggunakan tanah kompos Metro Lestari (Gambar 3). Media tersebut dimasukkan ke dalam polybag sebanyak 2/3 bagian dari polybag tersebut.



Gambar 3. Media campuran tanah dan kompos yang telah dimasukkan ke dalam polybag.

### 3.1.3.2 Penanaman Benih

Benih ubikayu ditanam dengan menggunakan 3 metode yaitu:

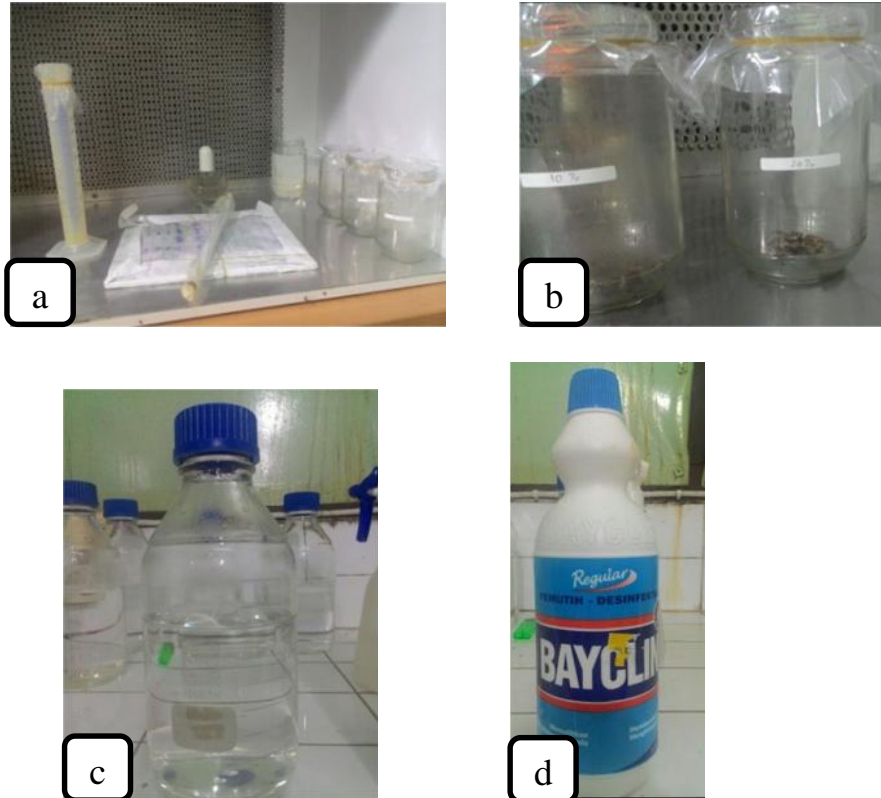
- a) Pengecambahan pada media MS 0 secara *in vitro*

Pengecambahan benih dilakukan secara *in vitro* pada lingkungan yang terkendali.

Penanaman benih dilakukan didalam *Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)* (Gambar

- 4). Sebelum dilakukan penanaman benih di sterilisasi dengan menggunakan larutan Bayclin dengan 3 konsentrasi yaitu 10%;20%;dan 30%. Benih tersebut disterilisasi dengan cara direndam kocok selama  $\pm 15$  menit kemudian dibilas sebanyak 3 kali dengan menggunakan air steril.





Gambar 4. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengecambahan benih secara *in vitro* a). Alat yang digunakan, b). Benih yang akan disterilisasi, c). Air steril, dan d) Bayclin sebagai larutan klorok.

Benih yang telah dilakukan sterilisasi kemudian ditanam pada media Murashige and Skoog tanpa ZPT (MS 0) (Gambar 5). Benih yang telah ditanam dipelihara pada ruang kultur yang terkendali dan diamati perkembangannya setiap hari sampai benih berkecambah.



Gambar 5. Kultur benih ubikayu pada media MS 0 pada 7HST.

- b) Pengecambahan pada botol kultur yang diberi media campuran pasir dan arang sekam dengan kondisi botol tertutup plastik bening.

Benih ditanam pada media campuran pasir dengan sekam bakar yang telah ditempatkan pada botol kultur. Benih sebelum ditanam dilakukan perendaman pada air selama 24 jam. Masing-masing botol kultur diisi 4 benih ubikayu dan kemudian botol ditutup dengan menggunakan plastik bening dan diikat dengan karet (Gambar 6). Benih yang telah ditanam dipelihara pada lingkungan terbuka dan dilakukan penyiraman setiap 2 hari sekali. Benih diamati setiap hari hingga benih berkecambah.



Gambar 6. Kultur benih ubikayu pada botol kultur yang disungkup 7HST.

- c) Pengecambahan pada polybag dengan media campuran tanah dan kompos dalam lingkungan terbuka.

Benih ditanam pada media campuran tanah dan kompos yang telah dimasukkan ke dalam polybag (Gambar 7). Benih yang sudah ditanam dipelihara pada lingkungan terbuka yang terkena sinar matahari secara langsung.



Gambar 7. Benih ubikayu yang ditanam pada polybag pada 7HST.

### 3.1.3.3 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam percobaan ini yaitu daya berkecambah benih.

Variabel ini diamati dengan mengukur persentase benih ubikayu yang berkecambah. Daya berkecambah dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya Berkecambah} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100 \%$$

## 3.2 Percobaan II. Pertumbuhan dan perbanyakan tunas satu buku dari kecambah ubikayu secara *in vitro*.

### 3.2.1 Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan dalam percobaan ini adalah tunas satu buku dari benih ubikayu yang telah berkecambah 2 MST. Kecambah ubikayu yang digunakan yaitu benih yang dikecambahkan pada media campuran tanah dan kompos pada polybag. Kecambah yang digunakan telah memiliki 3-4 buku kemudian dipotong dari bagian tunas utama kemudian diambil cabangnya lalu dilakukan penanaman pada *Laminar Air Flow (LAF)*(Gambar 8).



Gambar 8. Kecambah ubikayu yang akan dilakukan penanaman di *Laminar Air Flow (LAF)*.

### 3.2.2 Metode Penelitian

Percobaan II dilakukan dengan menggunakan rancangan teracak sempurna (RTS) dengan 1 faktor yaitu 4 taraf konsentrasi Benziladenin (BA) (0, 2, 4, dan 6 mg/l) pada media dasar MS. Masing-masing perlakuan diulang 5 kali dengan 3 eksplan per ulangan. Perbedaan antarperlakuan dapat dihitung berdasarkan nilai galat baku nilai tengah (*Standard error of the mean/SE*) dari data setiap perlakuan. Rumus SE yang digunakan sebagai berikut

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

Keterangan:

SE = *standard error of the mean*/galat baku nilai tengah

Xi = nilai pengamatan ke-i

n = jumlah eksplan yang respon

### 3.2.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.2.3.1 Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan, peralatan yang meliputi botol kultur, gunting, *scapel*, pinset, keramik maupun alat-alat gelas lainnya harus dicuci bersih terlebih dahulu.

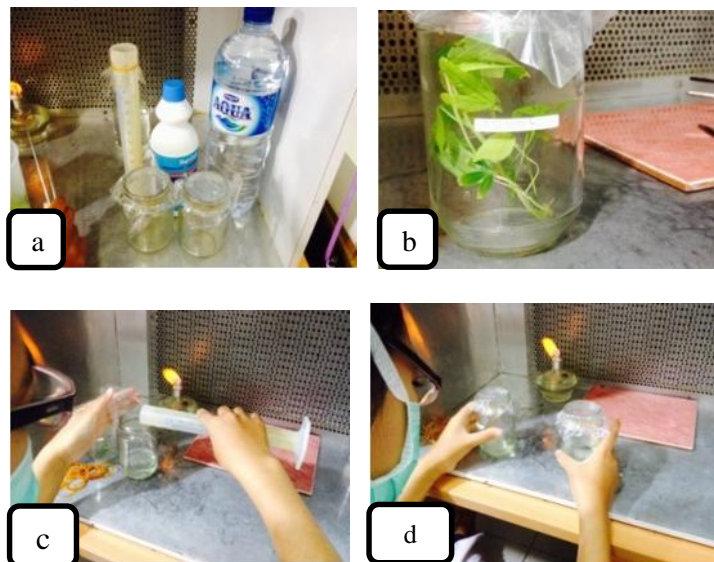
Kemudian alat-alat tersebut disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 30 menit pada temperatur 121 °C dengan tekanan 1,2 kg/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.3.2 Media Prekondisi dan Media Perlakuan

Media prekondisi yang digunakan sebagai media tanam awal eksplan adalah media dasar Murashige and Skoog (MS) yang ditambahkan gula dan agar tanpa penambahan ZPT. Media ini merupakan media prekondisi sebelum eksplan ditanam pada media perlakuan. Penanaman eksplan di media prekondisi dimaksudkan untuk mendapatkan eksplan steril yang lebih seragam dan memperkecil tingkat kontaminasi pada kultur. Pada media perlakuan, ditambahkan beberapa taraf konsentrasi BA (0; 2; 4;6 mg/l) . Media prekondisi dan media perlakuan diatur tingkat keasamannya menjadi 5,8 menggunakan pH meter dengan penambahan KOH 1 N jika pH media kurang dari 5,8 atau penambahan HCl 1 N jika pH media lebih dari 5,8. Sebagai pematat media digunakan agar 8 g/l. Media prekondisi dan media perlakuan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dan tekanan 1,2 kgf/cm<sup>2</sup> selama 7 menit.

### 3.2.3.3 Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian adalah tunas satu buku yang panjangnya 2 cm diambil dari kecambah ubikayu pada metode 3. Permukaan eksplan disterilisasi di dalam *laminar air flow cabinet* dilakukan sterilisasi menggunakan larutan bayclin 20% selama 10 menit dengan penambahan Tween 20 2 tetes/100 ml larutan. Kemudian eksplan dibilas tiga kali dengan menggunakan air steril dan siap ditanam dalam media prekondisi MS 0 (Gambar 9).

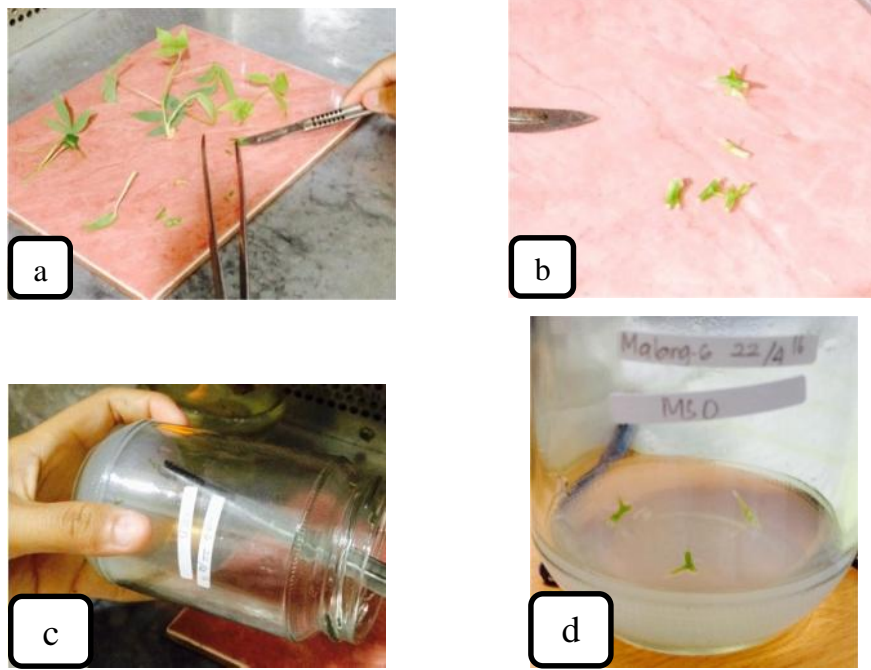


Gambar 9. Proses sterilisasi eksplan sebelum dilakukan penanaman pada media prekondisi MS 0 a). alat dan bahan yang digunakan, b)kecambah yang akan dijadikan eksplan yang akan disterilisasi, c). pemberian larutan bayclin pada eksplan yang akan disterilisasi, dan d).Sterilisasi dengan direndam kocok selama 10 menit.

### 3.2.3.4 Penanaman Eksplan Steril

Penanaman eksplan steril dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) dengan kondisi aseptik (Gambar 10). Setiap botol kultur ditanam 3 eksplan. Sehingga diperoleh 10 botol kultur untuk 2 klon ubikayu. Eksplan yang sudah

ditanam pada media prekondisi selama satu minggu dan tidak terkontaminasi, baik oleh cendawan maupun bakteri dianggap steril dan dapat dipindah ke media perlakuan.



Gambar 10. Penanaman eksplan a). Pemotongan eksplan, b). Eksplan tunas satu buku, c) Penanaman eksplan pada media kultur, d). Eksplan yang telah ditanam dalam media MS 0 dan diisolasi pada ruang kultur.

### 3.2.3.5 Kultur Awal

Eksplan dengan ukuran  $\pm 2$  cm dan memiliki 1 buku ditanam secara horizontal pada media perlakuan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) selama 4 minggu, kemudian dilakukan pengamatan pertama.

### 3.2.3.6 Subkultur

Subkultur dilakukan dengan menanam eksplan tunas 1 buku dengan ukuran 2-3 cm yang berasal dari kultur awal yang berumur 4 minggu. Eksplan ditanam secara horizontal pada media perlakuan yang sama.

### 3.2.3.7 Pemeliharaan

Eksplan yang sudah ditanam diletakkan pada rak dalam ruang kultur dan diberi cahaya dengan menggunakan lampu *flourescent* dengan intensitas 1000 – 4000 lux selama 24 jam terus-menerus setiap hari. Suhu di dalam ruangan diatur menjadi 20 – 25 °C.

### 3.2.3.8 Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain:

1. Panjang tunas (cm)

Variabel ini diukur dengan cara mengukur panjang tunas dari pangkal tunas diatas permukaan eksplan sampai titik tumbuh tanaman. Tunas yang diukur adalah tunas yang memiliki panjang lebih dari 0,5 cm.

2. Jumlah tunas per eksplan

Variabel ini diukur dengan cara menghitung tunas adventif yang terbentuk dari tiap eksplan. Tunas adventif adalah tunas yang terbentuk bukan berasal dari mata tunas yang ada tetapi dari bagian lain tanaman yang awalnya tidak terdapat mata tunas.

3. Persentase kalus pada eksplan

Variabel ini diukur secara visual dan dilakukan skoring pada kalus yang terdapat pada eksplan.



## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perkecambahan ubikayu pada metode 3 memberikan persentase benih yang berkecambah lebih besar yaitu 53% dibandingkan dengan perkecambahan benih pada metode 1 dan metode 2 yaitu hanya 2 % dan 22 %.
2. F1 keturunan malang-6 pada konsentrasi BA ( 2, 4, dan 6 mg/l ) menghasilkan jumlah tunas berturut-turut 1,3; 1,00; dan 1,67. Sedangkan F1 keturunan BL-8 pada konsentrasi BA ( 2, 4, dan 6 mg/l ) menghasilkan jumlah tunas berturut-turut 1,33; 2; dan 1,67.
3. Peningkatan konsentrasi Benziladenin tidak berpengaruh nyata pada pemanjangan tunas yaitu 1,38 - 2,40 cm. Tunas yang dihasilkan lebih pendek dibandingkan tunas yang dikulturkan pada media tanpa ZPT sebesar 3,73.

## 5.2 Saran

Pada media induksi tunas adventif konsentrasi BA lebih ditingkatkan agar ketersediaan BA pada tanaman mencukupi untuk tanaman bermorfogenesis membentuk tunas adventif lebih banyak dibandingkan dengan tunas aksilar dan penanaman tunas satu buku ditanamkan ke dalam media agar menghasilkan tunas adventif yang lebih banyak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ardian, E. Yuliadi. 2009. Pertumbuhan dan Perbanyakan Tunas Mikro Singkong (*Manihot esculenta* CRANTZ) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi Benziladenin. *Jurnal Agrotropika*. 14(1):22 Hlm.
- Akbas, F., C. Isikalan., S. Namli., B.E.Ak. 2009. Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Amygdalus communis* L. cv. Yaltsinki. *African Journal of Biotechnology*., 8 (22) : 6168-6174.
- Armini, A.N. M., Wattimena G.A., dan Gunawan L.W., 1992. Perbanyakan Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- BPS. 2015. *Produksi Singkong Di Indonesia*. [www.bps.go.id](http://www.bps.go.id). Diakses tanggal 8 April 2016.
- Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 2001. *Seed science and Technology 4<sup>th</sup> edition*. Kluwer Academic Publisher. London. 425 p.
- Dewi, R, I. 2008. *Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman*. Makalah. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Bandung. 9 hlm.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. 2014. *Pedoman Teknis Pengelolaan Produksi Ubikayu*. Jakarta. 97 hlm.
- Faye A, Kane, P.D, Sagna M, Sane D (2015). Effect of different hormones on organogenesis *in vitro* of some varieties of cassava (*Manihot esculenta* CRANTZ) grown in Senegal. *African journal of plant science*.9(8):305-312
- George, E.F., P.D. 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Second edition 1993/1996. Exegetics Limited. England. 501 p.

- George, E.F., M.A. Hall, dan G.J De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Netherland: Springer Publishing.
- Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur In vitro dalam Hortikultura*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta. 68 Hlm.
- Hapsoro,D.,Yusnita. 2016. *Kultur Jaringan Untuk Perbanyak Klonal Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*.Aura. Lampung. 122 hal.
- Hardjo, P.H. 1994. Organogenesis Langsung dan Kalogenesis pada Kultur Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) dan *Glycine tomentella* H. dalam Medium MS dan PCL-2 Termodifikasi. *Tesis*, Program Pascasarjana,IPB, Bogor. 65 Pp
- 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.
- Joseph, R.,H. H. Yeoh, C. S Loh. Induced mutations in cassava using somatic embryos and the indentification of mutant plants with altered starch yield and composition. *Plant Cell Reports* 23:91-98.
- Le, B.V., Anh, B.L., Soyong, 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.
- Maryani, Y. dan Zamroni. 2005. Penggandaan Tunas Krisan Melalui Kultur Jaringan. *Ilmu Pertanian* 12 (1) : 51-55 hlm.
- Nassar, N.M. A. 1985. Variation Among Cassava Clones in relation to Seed Germination. *J. Genet.* 45 (2): 394-398.
- Priadi, D dan E. Sudarmonowati. 2006. Pengaruh Komposisi Media dan Ukuran Eksplan Terhadap Pembentukan Kalus Embriogenik Beberapa Genotipe Lokal Ubikayu (*Manihot esculenta* CRANTZ). *J. Biodiversitas*. 7(3):269-272.
- Prihandana, R., E., Hambali, S. Mujdalipah, dan R. Hendrok. 2010. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Agromedia. Jakarta. 194 hal
- Purwono dan H. Purnamawati. 2007. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta. 139 hlm.
- Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. Bogor: IPB Press.

- Sutopo, L. 2002. *Teknologi Benih*. Rajawali. Jakarta.
- Sutopo, L. 1993. *Teknologi Benih*. Rajawali. Jakarta.
- Taylor, N.J., M.V. Masonal, R. Carcamo, T.Ho, C. schopke and C.M. Fauquet. 2001. Production of embryogenic tissues and regeneration of transgenic plants in cassava (*Manihot esculenta* CRANTZ). *Euphytica* 120: 25-34.
- Thro, A.M., W.M. Roca, J. Restrepo, H. Caballero, S. Poats, R. Escobar, G. Mafla and C. Hernandez. 1999. Can *in vitro* biology have farm-level impact for small-scale cassava famers in latin America. *In Vitro Cell Developmental Biology of Plant* 35(5):382-387.
- Utomo, S.D. , Mikhail Erick , Pramono Eko. Pengaruh Perlakuan Fisik dan Kimia Terhadap Kecepatan dan Daya Berkecambah Benih Botani Ubikayu F1 Keturunan Tetua Betina UJ-3. *Jurnal Agrotropika*. 17(2) : 52-57.
- Walpole, Ronald.E. 1997. *Pengantar Statistika* Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Webb, K.J. and Morris, P. (1992) Methodologies of Plant Transformation, In: Gatehouse, A.M.R., Hilder, V.A. and Boulter, D. (ed). *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection*. C A B International. United Kingdom.
- Wong, D.W.S. 2006. *The ABC OF Gene Cloning*. Internasional Thomson Publishing. New York 213 Hlm
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 105 Hlm.
- Yusnita.2010. *Perbanyak In Vitro Tanaman Anggrek*. Universitas Lampung. Bandarlampung. 128 Hlm
- Yusnita, 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. OrasiI Imiah Guru Besar Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung. Aura Publishing. Lampung.
- Zhang, P.,S. Phansiri and J.P. Kaerlas. 2001. Improvement of cassava shoot organogenesis by the use of silver nitrate in vitro. *Tissue and Organ Culture* 67: 47-54.