

**TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH
KONSENTRASI THIDIAZURON (TDZ) PADA PERBANYAKAN DAN
PERTUMBUHAN EKSPAN SATU BUKU UBI KAYU (*Manihot esculenta*
Crantz) SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

DETA IKTARIA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON (TDZ) PADA PERBANYAKAN DAN PERTUMBUHAN TUNAS SATU BUKU UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) SECARA *IN VITRO*

Oleh

DETA IKTARIA

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari teknik perkecambahan benih dan pengaruh konsentrasi thidiazuron (TDZ) pada perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) secara *in vitro*. Untuk mencapai tujuan penelitian tersebut maka dilakukan dua percobaan. Percobaan I yaitu teknik perkecambahan benih menggunakan 4 media tanam (media sekam bakar, sekam bakar+pasir, kompos, kompos+ pasir) dan 4 genotipe ubi kayu F1 keturunan tetua betina (F1 KTB genotipe Malang, Mulyo, SL-36 dan GM-1). Percobaan II perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku secara *in vitro*. Percobaan ini dilakukan menggunakan rancangan acak kelompok lengkap yang disusun secara faktorial (4x4) dengan tiga ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 3 botol kultur berisi 1 eksplan. Faktor pertama adalah konsentrasi TDZ dengan 4 taraf konsentrasi (0; 0,25; 0,50 dan 0,75 mg/l). Faktor kedua adalah 4 genotipe ubi kayu hasil perkecambahan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

teknik perkecambahan dengan media kompos+ pasir menghasilkan persentase benih berkecambah tertinggi yaitu 59% dari ketiga media lain yang dicobakan yaitu media sekam bakar, sekam bakar+kompos, kompos berturut-turut sebesar 49%, 38%, dan 58%. Kultur *in vitro* ubi kayu berumur 6 MSP pada media TDZ 0,50 mg/l menunjukkan jumlah tunas terbaik yaitu 1,33 tunas per eksplan. Sedangkan, kultur *in vitro* ubi kayu pada media TDZ 0 mg/l menunjukkan tinggi tunas, jumlah buku, dan jumlah daun terbaik yaitu berturut-turut sebesar 3,04 cm; 4,4 buku per eksplan dan 3,7 daun per eksplan. Penambahan TDZ 0,75 mg/l pada media perlakuan menunjukkan persentase pembentukan kalus tertinggi sebesar 97%. F1 KTB genotipe Malang dan SL-36 menghasilkan jumlah buku terbaik yaitu berturut-turut sebanyak 2,2 dan 2,5 buku per eksplan, sedangkan untuk tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas tidak dipengaruhi oleh genotipe. Tidak terjadi interaksi antara penggunaan beberapa konsentrasi TDZ pada berbagai genotipe ubi kayu yang dicobakan.

Kata kunci : Buku, genotipe, *in vitro*, media perkecambahan, TDZ, tunas.

**TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN PENGARUH
KONSENTRASI THIDIAZURON (TDZ) PADA PERBANYAKAN DAN
PERTUMBUHAN EKSPLAN SATU BUKU UBI KAYU (*Manihot esculenta*
Crantz) SECARA *IN VITRO***

Oleh

DETA IKTARIA

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **TEKNIK PERKECAMBAHAN BENIH DAN
PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON
(TDZ) PADA PERBANYAKAN DAN
PERTUMBUHAN EKSPAN SATU BUKU
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) SECARA
*IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Deta Iktaria**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414121065

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

I. Komisi Pembimbing



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



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

2. Ketua Jurusan Agroteknologi



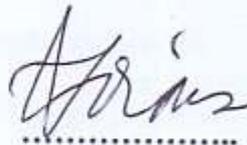
Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

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

Penguji
Bukan Pembimbing : Sri Ramadiana, S.P., M.Si. 

2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Arwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 Juli 2018

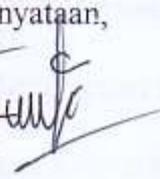
LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**Teknik Perkecambahan Benih dan Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) Pada Perbanyakan dan Pertumbuhan Eksplan Satu Buku Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*) Secara *In Vitro***" adalah karya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiatisme.
2. Pembimbing penulisan skripsi ini berhak mempublikasikan seluruh isi skripsi ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Apabila di kemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya. Saya sanggup dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2018

nyataan,

Deta Iktaria
NPM 1414121065



RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan di Pekon Kenali, Kecamatan Belalau, Kabupaten Lampung Barat pada tanggal 15 Desember 1996. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Bapak Ikrom dan Ibu Roaini. Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Kenali pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Belalau pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) Negeri Unggul Terpadu Lampung Tengah pada tahun 2014.

Penulis diterima sebagai Mahasiswa program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2014 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis berkesempatan menjadi Anggota Persatuan Mahasiswa (PERMA) Agroteknologi Bidang Penelusuran Minat dan Bakat (PMB) Tahun 2015/2016, Anggota Persatuan Mahasiswa (PERMA) Agroteknologi Bidang Penelitian dan Pengembangan (Litbang) Tahun 206/2017. Penulis juga berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar – Dasar Budidaya Tanaman, Teknologi Budidaya Pertanian, Fisiologi Tumbuhan, Bioteknologi Pertanian, dan Biologi Pertanian. Pada tahun 2017, penulis berkesempatan mewakili Jurusan Agroteknologi dalam pemilihan Mahasiswa Berprestasi (Mawapres) tingkat Fakultas Pertanian. Pada tahun 2017, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata

(KKN) di Desa Bandar Putih Tua, Kecamatan Anak Ratu Aji, Kabupaten Lampung Tengah dan pada tahun yang sama penulis juga melaksanakan kegiatan Praktek Umum (PU) di Laboratorium Riset Kultur Jaringan PT. Great Giant Pineapple Terbanggi Besar Lampung Tengah.

*Karya ini saya persembahkan
untuk orang-orang tersayang Bak, Mak
de' Meli, de' Robet dan my beloved boyfriend.*

Amamater tercinta, Universitas Lampung

“Rencanakan apa yang akan kamu kerjakan, dan kerjakan apa yang telah kamu rencanakan. Jika rencana A tidak berhasil, jangan menyerah alphabet masih menyediakan 25 huruf lainnya”

(Deta Iktaria)

“Stay focus and complete the journey”

(Lailah Gifty Akita)

“Success is a journey, not a destination”

(Thomas Dewar)

”Some beautiful paths can’t be discovered without getting lost”

(Erol Ozan)

SANWACANA

Alhamdulillahirobbilalamin, puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kelancaran, rahmat dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi tentu tidak terlepas dari bantuan semua pihak yang telah memberi motivasi, bimbingan, saran, dan dukungan. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Ketua Bidang Agronomi dan Hortikultura.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik atas motivasi selama penulis menyelesaikan studi.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku dosen Pembimbing Utama sekaligus pemberi ide penelitian ini. Terimakasih untuk waktu, nasehat, saran dan bimbingan selama ini kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Bapak Akari Edy, S.P., M.Si., selaku dosen Pembimbing Kedua. Terimakasih atas bimbingan, waktu, dan nasehat bijak selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Sri Ramadiana, S.P.,M.Si., selaku Penguji atas segala saran, masukan, kritikan dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
8. Ibunda Roaini, Ayahanda Ikrom, Adinda Meli Jenisa dan Robet Pratama atas cinta, kasih sayang, nasihat, kepercayaan, dukungan moral dan materiil yang diberikan kepada penulis.
9. Mbak Hayane Adeline Warganegara, S.P., M.Si., Bang Agil, Bang Assad, Bang Husen, Mbak Rahma, Mbak Alif, Bektu Ningsaputri, Adi Noor Prayogi, Bimo Nur Prabowo, Dwi Setiawan, Emi Yunida dan kru Laboratorium yang telah memberi arahan, bantuan saran dan semangat juang.
10. Teman-teman Agroteknologi 2014 (Belgies, Agnes, Kak Desta, Bagus, Alief, Pakcoy, Desta, Andino, Mamal, Meong) dan sahabatku tersayang Dina Marista yang selalu memberikan nasehat, dukungan dan motivasinya.
11. Yayan Amroni yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat bijak dan motivasi sampai saat ini yang juga masih berjuang menyelesaikan studi.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas semua bantuan yang telah diberikan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Amin.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2018

Penulis,

Deta Iktaria

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Kerangka Pemikiran.....	8
1.5 Hipotesis.....	12
II. TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Botani Tanaman Ubi Kayu.....	13
2.2 Manfaat Tanaman Ubi Kayu.....	15
2.3 Perkecambahan Benih Ubi Kayu	16
2.4 Perbanyak Tanaman Ubi Kayu secara konvensional	17
2.5 Perbanyak Tanaman Ubi kayu secara <i>In Vitro</i>	17
2.5.1 Kultur Mata Tunas dan Multiplikasi	20
2.6 Media Kultur	21
2.7 Eksplan.....	22
2.8 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....	23

2.8.1	Thidiazuron (TDZ).....	24
III. BAHAN DAN METODE.....		26
3.1	Percobaan I. Perkecambahan Benih Ubi Kayu	26
3.1.1	Bahan dan Alat.....	26
3.1.2	Metode Penelitian.....	27
3.1.3	Pelaksanaan Penelitian.....	28
	3.1.3.1 <i>Penyiapan Media Tanam</i>	28
	3.1.3.2 <i>Penanaman Benih</i>	28
3.1.4	Variabel Pengamatan	28
3.2	Percobaan II. Pertumbuhan dan Perbanyakkan Eksplan Tunas Satu Buku dari Kecambah Ubi Kayu secara <i>In Vitro</i>	29
3.2.1	Bahan dan Alat.....	29
3.2.2	Metode Penelitian.....	31
3.2.3	Pelaksanaan Penelitian	31
	3.2.3.1 <i>Persiapan Eksplan</i>	31
	3.2.3.2 <i>Sterilisasi Alat</i>	32
	3.2.3.3 <i>Pembuatan Media</i>	33
	3.2.3.4 <i>Sterilisasi Permukaan Eksplan</i>	34
	3.2.3.5 <i>Penanaman Eksplan</i>	35
	3.2.3.6 <i>Subkultur Media Perlakuan</i>	36
	3.2.3.7 <i>Pemeliharaan</i>	37
	3.2.3.8 <i>Aklimatisasi</i>	38
3.2.4	Variabel Pengamatan	38

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Hasil Penelitian	41
4.1.1 Percobaan I. Perkecambahan Benih Ubi Kayu	41
4.1.2 Percobaan II. Pertumbuhan dan Perbanyakkan Eksplan Tunas satu Buku Ubi Kayu secara <i>In Vitro</i>	42
4.1.2.1 Perkembangan Umum Kultur.....	42
4.1.2.2 Persentase Kontaminasi Eksplan	48
4.1.2.3 Persentase Eksplan Membentuk Tunas	49
4.1.2.4 Persentase Eksplan Berkalus	51
4.1.2.5 Persentase Eksplan Berakar.....	54
4.1.3 Rekapitulasi Analisis Ragam	55
4.1.3.1 Tinggi Tunas.....	56
4.1.3.2 Jumlah Buku	57
4.1.3.3 Jumlah Daun	60
4.1.3.4 Jumlah Tunas.....	61
4.1.4 Penampilan Visual Eksplan.....	62
4.1.5 Pemanjangan Tunas dan Akar Pada Media Arang Aktif	65
4.1.6 Aklimatisasi	66
4.2 Pembahasan.....	67
4.2.1 Perkecambahan Benih Ubi Kayu	67
4.2.2 Pertumbuhan dan Perbanyakkan Eksplan Tunas satu Buku Ubi Kayu secara <i>In Vitro</i>	69
V. SIMPULAN DAN SARAN	86
5.1 Simpulan	86
5.2 Saran.....	87

DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN.....	96
Tabel 5-23	97-104
Gambar 38.....	104

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rekapitulasi Hasil Pengamatan Perkecambahan Benih Ubi Kayu pada 4 Media Perkecambahan Berumur 2 MST	42
2. Persentase Tingkat Kontaminasi pada Media Prekondisi 4 MST	48
3. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Pemberian TDZ, Penggunaan Beberapa Genotipe dan Interaksi Dua Faktor pada Semua Variabel Yang Diamati	55
4. Persentase Kultur Hidup Setelah dilakukan Aklimatisasi 2 MSA	67
5. Formulasi Media Murashige and Skoog (MS).....	97
6. Peranan Masing-Masing Unsur Hara dan Vitaminh dalam Media Kultur....	98
7. Persentase Eksplan Bertunas Ubi Kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Umur 1 MSP pada Media Perlakuan (TDZ).....	99
8. Persentase Eksplan Bertunas Ubi Kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Umur 6 MSP pada Media Perlakuan (TDZ).....	99
9. Persentase Eksplan Berkalus Ubi Kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Umur 6 MSP pada Media Perlakuan (TDZ).....	99
10. Persentase Eksplan Berakar Ubi Kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Umur 6 MSP pada Media Perlakuan (TDZ)	99
11. Data hasil pengamatan tinggi tunas tanaman singkong secara <i>in vitro</i> setelah 6 minggu perlakuan (cm)	100
12. Analisis ragam untuk variabel rata-rata tinggi tunas tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	100
13. Uji LSD/BNT untuk variabel rata-rata tinggi tunas tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	101

14. Data hasil pengamatan jumlah buku tanaman singkong secara <i>in vitro</i> setelah 6 minggu perlakuan	101
15. Analisis ragam untuk variabel rata-rata jumlah buku tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	101
16. Uji LSD/BNT untuk variabel rata-rata jumlah buku tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP (Perlakuan TDZ)	102
17. Uji LSD/BNT untuk variabel rata-rata jumlah buku tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP (Penggunaan Genotipe)	102
18. Data hasil pengamatan jumlah daun tanaman singkong secara <i>in vitro</i> setelah 6 minggu perlakuan	102
19. Analisis ragam untuk variabel rata-rata jumlah daun tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	103
20. Uji LSD/BNT untuk variabel rata-rata jumlah daun tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	103
21. Data hasil pengamatan jumlah tunas tanaman singkong secara <i>in vitro</i> setelah 6 minggu perlakuan	103
22. Analisis ragam untuk variabel rata-rata jumlah tunas tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	104
23. Uji LSD/BNT untuk variabel rata-rata jumlah tunas tanaman singkong secara <i>invitro</i> setelah 6 MSP	104

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Rumus molekul TDZ	25
2. (a) Polong Benih Ubi Kayu (b) Benih Ubi Kayu Siap di Tanam	26
3. Media Perkecambahan benih ubi kayu : (a) Kompos (b) Sekam Bakar (c) Kompos + Pasir (d) Sekam Bakar + Pasir	28
4. (a) Ubi Kayu Umur 4 MST di Rumah Kaca sebagai sumber eksplan (b) Eksplan 2-3 buku dari bagian pucuk	30
5. (a) Eksplan ubi kayu yang terdiri dari 2-3 buku (b) Eksplan yang telah dibuang daun dan tangkai daun (c) Eksplan dibilas dengan air mengalir (d) Eksplan di sterilisasi dengan larutan Bayclin dan Tween-20 (e) Eksplan dipotong menjadi satu buku (f) Eksplan tunas satu buku yang siap ditanam	35
6. a) Bahan tanam ubi kayu tunas satu buku yang siap ditanam pada media prekondisi (b) Penanaman eksplan pada media prekondisi	36
7. Subkultur Media Perlakuan (a) Kultur Ubi Kayu berumur 4 MST di Media Prekondisi (b) Penampilan kultur pada media prekondisi (c) Pemotongan eksplan menjadi satu buku (d) Penanaman pada media perlakuan TDZ	36
8. Subkultur ke media AC 2g/l (a) Penampilan kultur pada media perlakuan (b) Eksplan dipotong menjadi 1 buku (c) Eksplan tunas satu buku ditanam pada media AC 2g/l	37
9. Media sekam bakar + kompos untuk aklimatisasi	38
10. Ubi Kayu Berumur 4 MST di Rumah Kaca.....	41

11. Kultur ubi kayu selama : (a) 1 MST pada media prekondisi (MS-0) (b) 4 MST pada media prekondisi (MS-0).....	43
12. Eksplan pada 2 MSP (a) kemunculan tunas pada media TDZ 0 mg/l (b) kemunculan tunas dan kalus pada media TDZ 0,25- 0,75 mg/l (c) kemunculan kalus pada media 0,25 – 0,75 mg/l.....	44
13. Perkembangan kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz pada media perlakuan (a) eksplan berumu 1 MSP (b) ekplan berumur 2 MSP (c) eksplan berumur 4 MSP (d) eksplan berumur 6 MSP	45
14. Perkembangan akar dan kalus kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz pada media perlakuan (a) akar kultur berumur 3 MSP (b) akar kultur berumur 6 MSP (c) kalus berumur 3 MSP (d) kalus berumur 4 MSP (e) kalus berumur 6MSP	46
15. Perkembangan kultur ubi kayu <i>Manihot utilissima</i> Crantz pada media arang aktif 2 g/l (a) eksplan tunas satu buku berasal dari media perlakuan (b) kultur berumur 2 MSS (c) kultur berumur 4 MSS)	47
16. Tahap Aklimatisasi : (a) Kultur ubi kayu siap di aklimatisasi (b) Kultur ubi kayu yang sudah di aklimatisasi (c) Ubi kayu berumur 1 MSA	48
17. Sumber kontaminasi pada media prekondisi : (a) kontaminan berupa cendawan (b) Kontaminan berupa bakteri	49
18. Penampilan visual tunas ubi kayu berumur 1 MSP (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	49
19. Persentase eksplan yang membentuk tunas pada media perlakuan TDZ dengan beberapa konsentrasi (0; 0,25; 0,50 dan 0,75 mg/l) selama 1 MSP.....	50
20. Persentase eksplan yang membentuk tunas pada media perlakuan TDZ dengan beberapa konsentrasi (0; 0,25; 0,50 dan 0,75 mg/l) selama 6 MSP.....	51
21. Persentase benih yang membentuk kalus pada media perlakuan TDZ dengan beberapa konsentrasi (0; 0,25; 0,50 dan 0,75 mg/l)	52
22. Penampilan kalus kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz tampak bawah pada berbagai konsentrasi TDZ selama 4 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l.....	53
23. Penampilan kalus kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz pada berbagai konsentrasi TDZ selama 4 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	53

24. Persentase eksplan ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz yang membentuk akar pada media perlakuan TDZ dengan beberapa konsentrasi (0; 0,25; 0,50 dan 0,75 mg/l).....	54
25. Penampilan akar kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz pada berbagai konsentrasi TDZ selama 4 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	55
26. Pengaruh konsentrasi TDZ terhadap tinggi tunas tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5% = 0,56.....	57
27. Pengaruh konsentrasi TDZ terhadap jumlah buku tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5% = 0,60.....	58
28. Pengaruh penggunaan genotipe ubi kayu terhadap jumlah buku tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5% = 0,60	59
29. Laju peningkatan jumlah buku tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Pada media perlakuan dengan penambahan TDZ pada berbagai taraf konsentrasi	60
30. Pengaruh konsentrasi TDZ terhadap jumlah daun tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5% =0,76.....	61
31. Pengaruh konsentrasi TDZ terhadap jumlah tunas tanaman ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5% =0,21	62
32. Penampilan visual kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Genotipe SL-36 pada berbagai konsentrasi TDZ selama 6 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	63
33. Penampilan visual kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Genotipe Mulyo pada berbagai konsentrasi TDZ selama 6 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	63
34. Penampilan visual kultur ubi kayu <i>Manihot esculenta</i> Crantz Genotipe Malang pada berbagai konsentrasi TDZ selama 6 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l	64

35. Penampilan visual kultur ubi kayu *Manihot esculenta* Crantz Genotipe GM-1 pada berbagai konsentrasi TDZ selama 6 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l64
36. Penampilan visual kultur ubi kayu *Manihot esculenta* Crantz Yang berasal dari berbagai konsentrasi TDZ selama 6 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l.....66
37. Penampilan visual kultur ubi kayu *Manihot esculenta* Crantz siap aklimatisasi berasal dari media MS+AC 2 g/l selama 4 MST (a) TDZ 0 mg/l (b) TDZ 0,25 mg/l (c) TDZ 0,50 mg/l (d) TDZ 0,75 mg/l67
38. Skema Hasil Perbanyakan Buku Ubi Kayu yang Berasal Dari Eksplan Tunas Satu Buku Selama 4,75 bulan.....104

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Energi merupakan salah satu hal yang sangat penting di dunia. Kebutuhan energi saat ini bersumber dari minyak bumi (*fossil fuel*) namun dewasa ini kebutuhan energi bahan bakar dunia terus meningkat sedangkan bahan bakar yang tersedia terbatas. Dengan demikian, banyak negara yang mulai mengembangkan energi terbarukan dan ramah lingkungan dengan menggunakan tanaman sebagai sumber energi alternatif berbahan nabati (bioenergi). Bioenergi yang dimaksud yaitu bioetanol yang dapat dihasilkan dari tanaman berpati, seperti biji-bijian (terutama jagung, gandum, sorgum), dan umbi-umbian (ubi kayu, ubi jalar, kentang) serta tanaman yang menghasilkan gula (tebu, nira, aren, nipah, sorgum manis, dan gula beet) dan bahan berselulosa (jerami, ampas tebu, tongkol jagung, serbuk gergaji) (Balat dkk., 2008). Tanaman tersebut diolah menjadi bioetanol dengan mengubah zat pati menjadi zat gula (hidrolisis) dan mengubah gula (glukosa) menjadi etanol melalui fermentasi (Yogaiswara, 2008).

Sumber bioetanol yang cukup potensial dikembangkan di Indonesia adalah ubi kayu (*Manihot esculenta* Cranz). Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman perdu semusim dari famili *Euphorbiaceae* yang tumbuh di daerah tropika dan subtropika. Ubi kayu adalah tanaman daerah tropik yang dapat

tumbuh di berbagai kondisi tanah, bahkan pada tanah yang tidak subur sekalipun (Priadi dan Sudarmonowati,2004). Prihandana dkk. (2007) memberikan beberapa pertimbangan digunakannya ubi kayu sebagai bahan baku etanol : a) Ubi kayu sudah sejak lama dikenal dan dibudidayakan secara turun-temurun oleh sebagian besar masyarakat Indonesia, b) Ubi kayu telah tersebar di Indonesia di sentra-sentra produksi di 55 kabupaten dan 36 provinsi, c) Ubi kayu merupakan tanaman yang mempunyai tingkat toleransi yang tinggi terhadap tanah dengan kesuburan rendah dan mampu berproduksi baik pada lahan sub-optimal.

Penghasil ubikayu terbesar di Indonesia yaitu Provinsi Lampung, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Jawa Barat. Produksi ubikayu pada tahun 2015 didominasi oleh provinsi Lampung sebesar 7.387.084 ton, Provinsi Jawa Tengah sebesar 3.571.594 ton, selanjutnya Provinsi Jawa Timur sebesar 3.161.573 ton, dan Jawa Barat sebesar 2.000.224 ton (Badan Pusat Statistik, 2016). Di Provinsi Lampung ubi kayu merupakan salah satu komoditas pertanian unggulan. Terdapat banyak sentra pertanian ubi kayu di Lampung diantaranya yaitu di Lampung Timur, Lampung Tengah, Lampung Utara, Tulangbawang, dan Lampung Selatan. Produksi ubi kayu Lampung terbesar yaitu di Kabupaten Lampung Tengah pada tahun 2013 mencapai 3,38 juta ton umbi basah atau setara dengan 40,20 persen dari total produksi ubi kayu Provinsi Lampung (BPS, 2013).

Kebutuhan bahan baku ubi kayu semakin meningkat dari tahun ke tahun dengan adanya diversifikasi industri pengolahan bahan baku ubi kayu menjadi bioetanol, namun luas lahan produksi selalu mengalami penurunan. Hal ini menyebabkan percepatan kenaikan kebutuhan ubi kayu tidak seiring dengan penambahan jumlah

lahan yang dapat ditanami ubi kayu. Untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan melakukan intensifikasi dalam bentuk penggunaan varietas ubi kayu unggul baru yang memiliki produksi dan kadar pati tinggi. Saat ini telah banyak balai penelitian yang merakit varietas ubi kayu baru melalui pemuliaan tanaman. Benih yang dihasilkan dari pemuliaan tanaman ini berupa benih botani. Melalui perbanyakan benih botani inilah merupakan awal munculnya keragaman atau diversifikasi genetik (Poespodarsono, 1992). Namun, beberapa varietas yang telah dirilis oleh pemerintah tidak serta merta diperoleh petani dengan mudah dalam jumlah yang banyak. Hal ini disebabkan oleh jumlah bibit yang dapat disebar dalam waktu relatif singkat sangat terbatas. Bahkan, dibutuhkan waktu yang relatif panjang untuk menyebarkan varietas baru tersebut kepada petani.

Selama ini perbanyakan tanaman ubi kayu dilakukan dengan stek konvensional menggunakan stek batang dengan panjang antara 15-20 cm. Bibit tersebut harus berasal dari bagian tengah batang ubi kayu yang telah berumur 8-12 bulan dengan diameter 2-3 cm (Sundari, 2010). Stek yang dihasilkan dari satu tanaman ubi kayu diperoleh sekitar 10 setek saja setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (BIP, 1995). Sedangkan setek yang dibutuhkan untuk penanaman ubi kayu seluas satu hektar saja berkisar 10.000 hingga 18.000 setek (<http://balitkabi.litbang.deptan.go.id>, 2010).

Dengan demikian, dibutuhkan suatu teknik perbanyakan yang dapat menunjang ketersediaan dan kontinuitas bahan tanam ubi kayu dalam skala yang luas, jumlah yang banyak, dan waktu yang cepat sehingga keunggulan varietas baru tersebut dapat langsung dirasakan oleh petani ubi kayu. Salah satu cara mengatasi

permasalahannya tersebut adalah menggunakan teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* atau kultur jaringan. Teknik ini dapat memberikan peluang untuk melakukan perbanyakan secara massal, menghasilkan bibit yang bebas hama penyakit, jumlah yang banyak, seragam, *true-to-type*, tidak membutuhkan tempat yang luas, dan tidak tergantung musim (Rahayu, 2006).

Teknik perbanyakan secara *in vitro* atau kultur jaringan merupakan teknik menumbuhkan kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh), serta kondisi ruang kultur dengan suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2003).

Sebelum melakukan kultur jaringan untuk suatu tanaman, kegiatan pertama kali yang harus dilakukan adalah pemilihan dan penyiapan tanaman induk sumber eksplan. Tanaman induk yang digunakan dapat berasal dari vegetatif (stek) ataupun generatif (benih). Namun, apabila tanaman induk yang akan digunakan berasal dari pemuliaan tanaman berupa benih maka salah satu faktor yang harus diperhatikan adalah media perkecambahan yang dapat memberikan nutrisi bagi benih sehingga benih dapat berkecambah dan dikondisikan di rumah kaca atau rumah plastik untuk menghasilkan tunas baru yang tumbuh menjadi lebih sehat dan bersih dari kontaminan serta dapat tumbuh baik pada waktu dikulturkan secara *in vitro* (Yusnita, 2003). Pada beberapa benih tertentu, substrat perkecambahan dapat menyebabkan benih menjadi dorman (*enforced dormancy*).

Berdasarkan penelitian Murniati (2006) menunjukkan bahwa media yang optimum untuk perkecambahan benih mengkudu adalah media tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1 (b/b). Hasil yang sama ditunjukkan oleh Ekasari (1994), daya kecambah tertinggi (70,7%) dihasilkan oleh benih tanpa perlakuan yang dikecambahkan pada media media tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1 (b/b). Pengaruh media perkecambahan juga ditunjukkan oleh Tajudi (1991) pada benih *Gmelina arborea*, daya kecambah tertinggi dihasilkan pada media perkecambahan campuran tanah dan pasir 1:1 walaupun masih rendah (46,7%). Berdasarkan beberapa penelitian diatas bahwa dormansi benih dipengaruhi oleh media perkecambahan, sehingga perlu dilakukan penelitian yang ditinjau dari aspek faktor lingkungan perkecambahan terutama substratnya.

Faktor lain penentu keberhasilan perbanyak tanaman melalui kultur jaringan yaitu penggunaan ZPT yang tepat yang akan dicampurkan ke dalam media (Gunawan, 1995). ZPT merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah ($< 1 \mu\text{M}$) dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan (Wattimena, 1989). ZPT yang sering ditambahkan pada media adalah auksin dan sitokinin. ZPT golongan auksin dapat menginisiasi akar dan memacu perkembangan akar cabang pada kultur jaringan (Davies, 2004) sedangkan ZPT golongan sitokinin dapat memecah dormansi sel dan mempunyai peranan dalam morfogenesis dan pembelahan sel (Hartmann dan Kester, 1983). Serta menstimulasi pembentukan tunas (Gaba, 2005).

ZPT yang digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perbanyakan tunas *in vitro* adalah sitokinin. Penambahan sitokinin pada media kultur diharapkan dapat mengatasi masalah rendahnya laju pembelahan sel pada meristem tunas tanaman (Yusnita, 2003). Golongan sitokinin yang sering ditambahkan ke dalam media seperti *Benziladenin* (BA) namun ada golongan sitokinin lain yang dapat digunakan sebagai ZPT untuk memacu pembentukan tunas yaitu *Thidiazuron* (TDZ). TDZ adalah senyawa yang mirip dengan sitokinin yang dapat menginduksi perbanyakan tunas lebih cepat daripada sitokinin jenis lain (Khawar dkk., 2003) dan mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman.

Penggunaan TDZ berpengaruh besar terhadap tanaman berkayu seperti *Azalea*, *Prunus* maupun *Acer* (Pelletier dkk., 2004). Menurut Azwin dkk. (2006) pada tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.), penambahan TDZ 0,25 ppm (0,25 mg/l) memberikan hasil terbaik dan merupakan konsentrasi optimum dalam menghasilkan jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun plantlet gaharu, baik eksplan yang berasal dari tunas aksilar atau tunas adventif. Selain itu, penelitian yang dilakukan Bhagwat dkk. (1996) pada famili Euphorbiaceae dari eksplan nodus membentuk tunas, sedangkan penggunaan TDZ dengan eksplan daun oleh Khurana-Kaul dkk. (2010) pada famili yang sama juga membentuk tunas. Namun, konsentrasi TDZ yang tinggi ataupun rendah belum tentu berpengaruh terhadap perbanyakan dan pertumbuhan tunas ubi kayu secara *in vitro*. Selain itu, keberhasilan kultur jaringan juga ditentukan oleh tahap aklimatisasi. Aklimatisasi adalah pengkondisian plantlet dilingkungan baru yang septik di luat botol, dengan media tanah sehingga bibit siap ditanam di lapang (Yusnita, 2003). Prosedur

pembiakan dengan kultur jaringan baru bisa dikatakan optimal apabila plantlet dapat diaklimatisasi ke kondisi eksternal dengan persentase eksplan hidup yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah, maka dibuat perumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah media yang tepat untuk menghasilkan daya berkecambah tertinggi pada perkecambahan benih ubi kayu?
2. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi TDZ terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh genotipe terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*?
4. Apakah terdapat interaksi antara penggunaan konsentrasi TDZ dan genotipe ubi kayu terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah yang telah dikemukakan, maka disusun tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Mengetahui media perkecambahan yang tepat untuk menghasilkan persentase daya berkecambah tertinggi pada perkecambahan benih ubi kayu.
2. Mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi TDZ pada perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*.

3. Mengetahui pengaruh berbagai genotipe ubi kayu terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*.
4. Mengetahui interaksi antara penggunaan TDZ dan genotipe ubi kayu terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*

1.4 Kerangka Pemikiran

Untuk menjelaskan perumusan masalah dalam penelitian ini, maka disusun kerangka pemikiran sebagai berikut :

Penemuan varietas ubi kayu baru tidak diimbangi dengan teknik perbanyakan tanaman yang efektif sehingga varietas baru yang dihasilkan sulit diperbanyak dalam waktu yang relatif cepat dan keunggulannya membutuhkan waktu yang lama untuk dapat dirasakan oleh petani. Oleh karena itu diperlukan pengembangan teknik perbanyakan yang dapat menghasilkan bahan tanam dalam jumlah yang banyak dan waktu yang singkat. Salah satu teknik perbanyakan tanaman yang dilakukan adalah kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan suatu teknik menumbuhkembangkan jaringan tanaman di dalam tabung transparan (*in vitro*) pada media yang berhara lengkap dan dalam kondisi lingkungan yang terkendali (Yusnita,2003).

Tahapan perbanyakan tanaman secara *in vitro* yang biasa dilakukan yaitu pemilihan tanaman induk dan persiapan sebagai sumber eksplan, tahap inisiasi kultur, tahap multiplikasi tunas, pemanjangan tunas, pengakaran tunas, dan aklimatisasi. Tahap pertama yang harus diperhatikan adalah pemilihan dan penyiapan tanaman induk sumber eksplan. Tanaman induk yang digunakan

dapat berasal dari vegetatif (stek) ataupun generatif (benih). Namun, apabila tanaman induk yang akan digunakan berasal dari pemuliaan tanaman berupa benih maka salah satu faktor yang harus diperhatikan adalah media perkecambahan yang dapat memberikan nutrisi bagi benih sehingga benih dapat berkecambah dan dikondisikan di rumah kaca atau rumah plastik untuk menghasilkan tunas baru yang tumbuh menjadi lebih sehat dan bersih dari kontaminan serta dapat tumbuh baik pada waktu dikulturkan secara *in vitro* (Yusnita, 2003).

Berdasarkan penelitian Murniati (2006) menunjukkan bahwa media perkecambahan yang optimum untuk perkecambahan benih mengkudu adalah media tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1 (b/b). Secara genetik benih mengkudu tidak memiliki sifat dorman, dormansi terjadi karena faktor lingkungan (media perkecambahan). Hasil yang sama ditunjukkan oleh Ekasari (1994), daya kecambah tertinggi (70,7%) dihasilkan oleh benih tanpa perlakuan yang dikecambahkan pada media media tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1 (b/b). Berdasarkan data penelitian tersebut beberapa benih tertentu, substrat perkecambahan dapat menyebabkan benih menjadi dorman (*enforced dormancy*).

Tahap selanjutnya yaitu pembentukan tunas dan multiplikasi tunas merupakan tahapan perbanyakan secara *in vitro* yang menentukan keberhasilan perbanyakan melalui kultur jaringan. Perbanyakan dan pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh hormon pertumbuhan. Setiap tanaman memiliki hormon endogen yang sulit untuk diukur, tetapi apabila pada tanaman tersebut diberikan ZPT tertentu, maka

ZPT tersebut akan mempengaruhi rasio hormon endogen sehingga arah pertumbuhannya akan berubah.

Penggunaan ZPT yang tepat menjadi salah satu faktor yang menentukan keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* salah satunya sitokinin. Peranan ZPT dari golongan sitokinin membantu merangsang pembentukan dan multiplikasi tunas, sedangkan dari golongan auksin pada umumnya mendorong pembentukan akar. Contoh ZPT dari golongan sitokinin untuk merangsang pembentukan tunas adalah benzyadenin (BA), isopentil adenine (2-iP), kinetin dan Thidiazuron (TDZ). ZPT dari golongan auksin untuk merangsang pengakaran pada tunas adalah *indole acetic acid* (IAA), *naphtalene acetic acid* (NAA), *indolebutyric acid* (IBA), dan 2,4 -*dichlorophenoxyacetic* (2,4-D) (Yusnita, 2006).

TDZ merupakan salah satu golongan sitokinin mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman . Menurut Schulze (2007) pemberian TDZ dapat meningkatkan respon morfogenesis dari kalus yang berasal dari berbagai eksplan terhadap frekuensi pembentukan tunas, jumlah tunas per eksplan dan waktu untuk menginduksi tunas lebih cepat dibandingkan dengan sitokinin lainnya. Mekanisme TDZ dalam meningkatkan kerja sitokinin diduga mampu memacu perubahan ribonukleotida yang tidak aktif menjadi yang aktif (Capelle dkk., 1983 dalam Lestari, 2015).

Thomas dan Katterman (1986) menduga bahwa TDZ mempunyai kemampuan memacu sintesis sitokinin endogen atau menghambat perombakan sitokinin.

TDZ banyak digunakan dalam kultur *in vitro* karena mempunyai aktivitas

menyuplai sitokinin dan mampu menginduksi proses pembelahan sel meristem untuk membentuk primordia tunas. Selain mempercepat pertumbuhan tunas pada eksplan, TDZ juga mampu meningkatkan jumlah tunas. Murthy dkk. (1998) menyatakan bahwa penggunaan TDZ pada konsentrasi rendah, sekitar 0-0,5 mg/l, dapat memacu tunas aksilar, sedangkan pada konsentrasi tinggi 0,5 mg/l dalam waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sehingga menurunkan kemampuan regenerasi tunas.

Menurut Azwin dkk. (2006) pada tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.), penambahan TDZ 0,25 ppm (0,25 mg/l) memberikan hasil terbaik dan merupakan konsentrasi optimum dalam menghasilkan jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun plantlet gaharu, baik eksplan yang berasal dari tunas aksilar atau tunas adventif. Hasil penelitian Mula Elo (2010) pada multiplikasi tunas umbi talas dengan media MS yang ditambahkan TDZ 2 mg/l, menghasilkan jumlah tunas 2,47 per eksplan, dengan penambahan sukrosa 30 g dan agar-agar 8 g per liter media. Hasil yang sama dilaporkan oleh Mithila dkk. (2003) bahwa eksplan *African violet* yang dikulturkan dalam TDZ konsentrasi rendah dapat membentuk organ, sedangkan dalam konsentrasi tinggi (5 – 10 μ M) menghasilkan embrio somatik. Selain itu, penelitian yang dilakukan Bhagwat dkk. (1996) pada famili Euphorbiaceae dari eksplan nodus membentuk tunas, sedangkan penggunaan TDZ dengan eksplan daun oleh Khurana-kaul dkk. (2010) pada famili yang sama juga membentuk tunas.

Penggunaan TDZ yang baik dengan konsentrasi rendah dapat mempengaruhi biosintesis endogen sehingga dapat merangsang multiplikasi tunas (Thomas dan

Katerman, 1986). Sehingga perlu diketahui konsentrasi TDZ terbaik dalam merangsang terbentuknya tunas pada eksplan tanaman ubi kayu. Dan perlu diketahui arah pertumbuhan dan perkembangan eksplan tunas satu buku ubi kayu ketika diberi perlakuan TDZ. Keberhasilan kultur jaringan juga ditentukan oleh tahap aklimatisasi. Aklimatisasi adalah pengkondisian plantlet dilingkungan baru yang septik di luar botol, dengan media tanah sehingga bibit siap ditanam di lapang (Yusnita, 2003). Prosedur pembiakan dengan kultur jaringan baru bisa dikatakan optimal apabila plantlet dapat diaklimatisasi ke kondisi eksternal dengan persentase eksplan hidup yang tinggi.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, dapat disimpulkan hipotesis sebagai berikut :

1. Terdapat media terbaik untuk menghasilkan daya berkecambah tertinggi pada perkecambahan benih ubi kayu.
2. Penambahan TDZ pada konsentrasi tertentu akan memberikan respon yang lebih baik terhadap perbanyakan dan pertumbuhan eksplansatu buku ubi kayu secara *in vitro*.
3. Terdapat genotipe yang mampu memberikan respon yang lebih baik pada perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*.
4. Terdapat interaksi antara penggunaan TDZ dan genotipe dalam mempengaruhi perbanyakan dan pertumbuhan eksplan satu buku ubi kayu secara *in vitro*..

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu merupakan tanaman perdu yang berasal dari Benua Amerika, tepatnya Brazil (Lingga dkk., 1986 serta Purwono dan Purnamawati, 2007). Ilmuan yang pertama kali melaporkan hal ini adalah Johann Baptist Emanuel Pohl, seorang ahli botani asal Australia pada tahun 1827 (Allem,2002). Ubi kayu yang juga dikenal sebagai ketela pohon atau singkong, dalam Bahasa Inggris bernama *cassava*, adalah pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Euphorbiaceae*. Ubi kayu dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran.

Klasifikasi botani dari ubi kayu adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Manihot
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz.

Ubi kayu atau ketela pohon (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan sumber karbohidrat yang berasal dari umbi. Ubi kayu merupakan tanaman perdu. Ubi kayu tersebar di beberapa Benua antara lain di Benua Asia yaitu Thailand, Vietnam, India, dan China, di Benua Afrika yaitu di Nigeria, Kongo, Ghana, Mozambik, Angola, dan Uganda, dan di Benua Amerika produksi ubi kayu terbesar yaitu berasal dari Brazil (Gardjito dkk., 2013). Tanaman ini masuk ke Indonesia pada tahun 1852 melalui Kebun Raya Bogor, dan kemudian tersebar ke seluruh wilayah Nusantara pada saat Indonesia kekurangan pangan, yaitu sekitar tahun 1914-1918 (Purwono, 2009).

Ubi kayu merupakan ubi atau akar pohon yang panjang dengan fisik rata-rata bergaris tengah 2-3 cm dan panjang 50-80 cm, tergantung dari jenis ubi kayu yang ditanam. Batang tanaman ubi kayu beruas-ruas, berkayu, dan panjang. Ketinggian mencapai 3 meter atau lebih. Daun ubi kayu mempunyai susunan berurat menjari dengan canggap 5-9 helai. Tanaman ubi kayu memiliki sistem pembungaan berumah satu (*monoecious*) dan proses penyerbukannya bersifat silang. Penyerbukan tersebut menghasilkan buah yang berbentuk agak bulat, di dalamnya berkotak-kotak berisi 3 butir biji (Rukmana, 1997). Bentuk ubi biasanya bulat memanjang, daging ubi mengandung zat pati, berwarna putih gelap atau kuning gelap.

Terdapat dua jenis ubi kayu yaitu ubi kayu sebagai pangan dengan kadar *cyanogenik acid* atau asam sianida (HCN) rendah dan jenis ubi kayu beracun yang mengandung kadar asam sianida tinggi yang biasa digunakan untuk industri. Singkong diklasifikasikan dalam spesies *Manihot esculenta* Crantz dan

merupakan satu-satunya dalam family Euphorbiaceae yang secara luas dibudidayakan untuk produksi pangan (O'Hair, 1995).

Varietas ubi kayu yang sudah tersebar di masyarakat luas saat ini merupakan varietas lokal dan varietas unggulan nasional. Telah diperoleh 28 kombinasi persilangan dan 3 kombinasi silang bebas klon-klon ubi kayu dalam rangka pembentukan varietas unggul ubi kayu yang rendah HCN dan toleran terhadap serangan hama tungau merah (Balitkabi, 2000). Varietas unggul ubi kayu saat ini yang sudah banyak ditanam petani yaitu Adira 1, Adira 2, adira 4, darul Hidayah, Malang 1, Malang 2, Malang 4, Malang 6, UJ-3, dan UJ-5 9(Purwono dan Purnamawati, 2007).

2.2 Manfaat Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu menjadi sumber pangan penting bukan hanya di Indonesia tetapi juga di dunia. Ubi kayu merupakan bahan makanan pokok terpenting kedua di Afrika, ditambah lagi banyak petani berpenghasilan rendah menanam ubi kayu di lahan marjinal dengan biaya murah dan dapat menghidupi lebih dari 300 juta orang di daerah tersebut (Nweke, 2002). Ubi kayu merupakan tanaman pangan non-beras yang memiliki kandungan gizi yang baik berupa karbohidrat sebesar 34,7 gram/100g dan mengandung protein 1,2 gram/100g (Soetanto, 2008)

Saat ini ubi kayu tidak hanya digunakan sebagai sumber pangan saja, tetapi sudah banyak digunakan sebagai sumber energi alternatif pengganti fosil berbahan nabati (bioenergi) (Night Elf, 2008). Ubi kayu juga digunakan sebagai agroindustri tepung *cassava* yang dikembangkan menjadi industri aneka tepung,

industri tapioka rakyat, industri rumah tangga tepung gaplek, gula cair, dan tepung *malto dekstrin*.

2.3 Perkecambahan Benih

Perkecambahan benih secara fisiologis adalah suatu proses 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 mempengaruhi 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 satu rangkaian kompleks dan perubahan-perubahan morfologi, fisiologi, dan biokimia (Copeland and Mc. Donald, 2010).

Menurut Manan (1976) persentase perkecambahan adalah persentase sebenarnya dari jumlah seluruh benih dalam contoh yang berkecambah sehingga dikatakan pengujian. Persentase perkecambahan menunjukkan jumlah kecambah normal yang dapat dihasilkan oleh benih murni pada kondisi lingkungan tertentu dalam waktu yang ditetapkan. Daya kecambah adalah jumlah dari persentase benih yang berkecambah dan persentase benih yang tersisa dan berisi tetapi tidak berkecambah.

Kriteria Perkecambahan berdasarkan pendapat Suriatna (1980), yang menyatakan bahwa untuk menentukan kriteria keberhasilan perkecambahan adalah sebagai berikut :

- a. Perkecambahan dikatakan gagal apabila persentase berkecambah berkisar 0% sampai 9%.
- b. Perkecambahan dikatakan rendah bila persentase berkecambah berkisar antara 10% sampai 39%.
- c. Perkecambahan dikatakan cukup bila persentase berkecambah berkisar antara 40% sampai 60%.
- d. Perkecambahan dikatakan baik bila persentase berkecambah berkisar antara 70% sampai 90%.

2.4 Perbanyakan Tanaman Ubi Kayu Secara Konvensional

Perbanyakan tanaman ubi kayu umumnya dilakukan dengan stek batang, walaupun ubi kayu mampu menghasilkan biji. Perbanyakan vegetatif dengan stek batang berkaitan dengan kesamaan karakter keturunannya dengan induk asal stek. Namun, perbanyakan tanaman melalui stek batang lebih mudah terinfeksi penyakit, selain itu terkendala oleh terbatasnya jumlah bibit. Hal ini disebabkan karena dari satu tanaman singkong hanya diperoleh sekitar 10 stek saja setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (BIP, 1995).

2.5 Perbanyakan Tanaman Ubi Kayu Secara *In vitro*

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan adalah suatu teknik untuk menumbuhkan 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).

Kultur jaringan melibatkan suatu pemisahan komponen-komponen biologis dan tingkat pengendalian yang tinggi dalam memacu proses regenerasi dan perkembangan jaringan. Setiap proses dalam kultur jaringan dimanipulasi melalui seleksi bahan tanam, medium kultur, dan faktor lingkungan, termasuk eliminasi mikroorganisme seperti jamur dan bakteri (Zulkarnain, 2009). Tahap pada kultur jaringan meliputi persiapan eksplan, (George 1996), pemantapan kultur, multiplikasi, pengakaran serta aklimatisasi (Murashige, 1974).

Menurut Yusnita (2003), perbanyakan melalui kultur jaringan dilakukan dalam lima tahapan, yaitu sebagai berikut :

1. Tahap 0, pemilihan dan penyiapan tanaman induk sebagai eksplan. Jenis dan varietas tanaman harus jelas, bebas dari hama dan penyakit serta memperhatikan umur fisiologis dan bagian eksplan yang diambil.
2. Tahap 1, inisiasi kultur atau *culture establishment*. Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik dengan cara sterilisasi. Sterilisasi eksplan dilakukan pada permukaan eksplan dengan menggunakan bahan kimia seperti NaOCl, CaOCl, etanol, dan HgCl₂.
3. Tahap 2, multiplikasi atau perbanyakan propagul. Tahapan ini dilakukan untuk mengkondisikan eksplan pada lingkungan hormonal yang sesuai. Baik diarahkan pada perbanyakan tunas maupun pembentukan embrio. Pada tahap ini juga dilakukan subkultur atau pemindahan tanaman pada media baru hingga jumlah tunas yang diharapkan tercapai.
4. Tahap 3, pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan tanaman ditransfer ke lingkungan eksternal.

Pada tahapan ini pemanjangan tunas dan pengakaran tanaman didorong oleh adanya hormon-hormon tertentu dan proses ini dilakukan secara bertahap.

5. Tahap 4, aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal. Planlet dipindahkan ke media aklimatisasi, prinsipnya ialah memberikan intensitas cahaya rendah dengan kelembaban nisbi tinggi kemudian berangsur-angsur intensitas cahaya dinaikkan dan kelembabannya diturunkan.

Teori dasar kultur jaringan yaitu teori totipotensi sel (*total genetic potential*), artinya setiap sel yang mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang utuh, jika kondisinya sesuai. Selain itu, adanya sifat kompeten, dediferensiasi, dan determinasi. Sifat kompeten adalah setiap sel atau jaringan tanaman mampu memberikan tanggapan terhadap signal lingkungan atau hormonal dalam bentuk pemrograman diri sehingga berakhir dengan terjadinya organ atau embrio. Sifat dediferensiasi merupakan suatu perubahan kembalinya fungsi sel-sel yang tadinya sudah terdiferensiasi menjadi tidak terdiferensiasi. Sifat determinasi adalah dimana setiap sel atau jaringan sudah ditentukan nasibnya, sebagai contoh sel atau jaringan eksplan yang dikulturkan terdeterminasi menjadi organ atau embrio (Yusnita, 2003).

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Keunggulan dari kultur jaringan yaitu bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan

tempat yang luas, bibit yang dihasilkan dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, serta kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional (Dinyunita, 2007).

Menurut Armini dkk. (1992) teknik kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan yaitu dapat diperbanyak setiap saat tanpa mengenal musim karena dilakukan di ruang tertutup, daya multiplikasinya tinggi dari bahan tanaman yang kecil, tanaman yang dihasilkan seragam, dan bebas penyakit.

Berkembangnya teknik kultur jaringan saat ini, kendala dalam multiplikasi tanaman dapat teratasi. Sehingga tujuan awal teknik kultur jaringan yang ingin membuktikan kebenaran teori totipotensi, sekarang berkembang untuk penelitian fisiologi tanaman dan biokimia.

2.5.1 Kultur Mata Tunas dan Multiplikasi

Kultur mata tunas atau disebut dengan *Single Node Culture* merupakan salah satu cara yang dilakukan dalam perbanyakan *in vitro* dengan menggunakan mata tunas aksilar sebagai eksplan. Teknik kultur mata tunas digunakan apabila ada pengaruh apikal dominan pada kultur pucuk sehingga tunas aksilar menjadi dorman. Multiplikasi adalah perbanyakan eksplan yang berasal dari inisiasi kultur mata tunas ataupun kultur kalus dimana eksplan dapat ditanam pada media yang sama tanpa melalui pemindahan ke media baru (Armini dkk., 1992).

Sub kultur merupakan pemindahan kultur ke media yang baru, baik media yang sama maupun media yang berbeda. Subkultur ditujukan untuk memperbanyak dan mempertahankan kultur (George dan Sherrington, 1984). Sub kultur ini

dilakukan apabila unsur hara dan hormon media telah berkurang atau habis untuk merubah pola pertumbuhan dan perkembangan kultur dan bila kultur telah memenuhi wadah atau botol plastik (Pierik, 1987).

2.6 Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Beberapa komposisi media yang digunakan untuk kultur jaringan diantaranya formulasi Heller (1953), Knudson C (1946), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg dkk., B5 (1976), Linsmair dan Skoog-LS (1965), Murashige and Skoog (1962), serta woody plant medium- WPM (1980).

Komponen media kultur yang lengkap berupa air destilata (akuades), atau air bebas ion sebagai pelarut atau solven, hara-hara makro dan mikro, gula (umumnya sukrosa) sebagai sumber energi, vitamin, asam amino, dan bahan organik lain, zat pengatur tumbuh, suplemen berupa bahan-bahan alami jika diperlukan, dan agar-agar atau *gelrite* sebagai pematat media (Yusnita, 2003).

Media kultur dapat berupa media cair (larutan) maupun media padat. Media kultur cair adalah media tanam yang mengandung campuran komponen-komponen zat kimia dengan air suling, sedangkan media kultur padat yaitu media tanam yang berupa media cair yang ditambahkan zat pematat media seperti agar-agar (Wijayani dan Hendaryono, 1994).

2.7 Ekplan

Bahan tanaman yang dikulturkan lazim disebut eksplan. Eksplan juga merupakan faktor penting penentu keberhasilan kultur jaringan. Ekplan adalah bagian tanaman yang digunakan untuk memulai suatu kultur. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif, mempunyai daya regenerasi tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan). Bagian tanaman dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon, tunas pucuk, potongan batang satu buku (*nodal expland*), potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi akar, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

Pemilihan suatu eksplan didasari oleh beberapa faktor yaitu organ yang digunakan, waktu pengambilan eksplan, ukuran eksplan, kualitas tanaman asal eksplan, dan umur ontogenik serta fisiologis tanaman tersebut (Wahyuningsih, 2006). Umur ontogenetik eksplan adalah umur ontogeni tanaman induk sumber eksplan sebagai masa transisi dari fase pertumbuhan juvenil menuju fase dewasa. Fase juvenil adalah periode pembungaan tidak terjadi dan tidak dapat dirangsang dengan perlakuan yang biasa digunakan untuk merangsang pembungaan. Umumnya, eksplan yang diambil dari tanaman induk yang masih juvenil mudah beregenerasi. Daya regenerasi eksplan dari tanaman induk dewasa umumnya lebih rendah dibandingkan dengan eksplan dari tanaman juvenil (Yusnita, 2003). Eksplan yang paling sering digunakan dalam kultur

jaringan adalah meristem atau ujung tunas, setek satu buku, dan embrio (George, 1996).

Ukuran eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan. Eksplan yang berukuran besar berisiko kontaminasi lebih tinggi dibandingkan dengan yang berukuran kecil, tetapi kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya lebih cepat. Sebaliknya, eksplan berukuran kecil (meristem atau tunas pucuk) kemungkinan terkontaminasinya jauh lebih kecil, tetapi tumbuh lebih lambat (Yusnita, 2003).

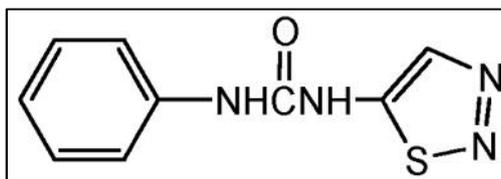
2.8 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

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. Semua hormon adalah ZPT tetapi tidak semua ZPT adalah hormon (Yusnita, 2010). Dalam kultur jaringan, dua golongan ZPT yang biasa digunakan adalah auksin dan sitokinin. Pada pengkulturan untuk menumbuhkan dan menggandakan tunas aksilar atau merangsang tumbuhnya tunas-tunas adventif digunakan ZPT dari golongan sitokinin atau campuran sitokinin dengan auksin rendah. Jenis sitokinin yang sering digunakan yaitu BA atau BAP (*6-benzyladenin/6-benzylaminopurine*), kinetin (*6-furfurylaminopurine*), zeatin (*4-hidroksi-3-memetyl-trans-2-butenylaminopurin*), 2-iP (*2-isopentyl adenin*), dan TDZ (Thidiazuron). Pengkulturan untuk merangsang pembentukan akar pada tunas, biasanya menggunakan ZPT auksin. Jenis auksin yang sering digunakan yaitu IBA dan NAA (Yusnita, 2003).

Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh, antara lain : (1) jenis ZPT yang akan digunakan, (2) konsentrasi ZPT, (3) urutan penggunaan, (4) periode masa induksi dalam kultur tertentu, (5) kelemahan aktifitasnya (Gunawan, 1995).

2.8.1 Thidiazuron (TDZ)

Thidiazuron (TDZ) atau *N-phenyl-N'-1-2-3,-thidiazol-5-ylurea* merupakan sitokinin tipe urea yang memiliki aktivitas lebih kuat dibandingkan tipe purin atau adenin (Huettman dan Preece, 1993 dalam Primawati, 2006). TDZ diperkenalkan pertama kali pada tahun 1976 oleh Schering AG dari Berlin, Jerman. TDZ digunakan sebagai bahan perontok daun pada tanaman kapas (Arndt dkk., 1976 dalam Lestari 2015). BM TDZ yaitu 220, 25 dengan rumus molekul $C_9H_8N_4OS$ dan rumus molekul TDZ dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumus molekul TDZ

TDZ dikategorikan sebagai sitokinin karena menghasilkan respon yang mirip seperti yang dihasilkan oleh sitokinin alami (*endogenous*). Beberapa pemberian perlakuan menggunakan sitokinin juga dapat meningkatkan auksin endogen, etilen dan ABA (Murthy, 1997). Jones (2007) menemukan bahwa fraksi rendah TDZ mampu merangsang embriogenesis pada sel yang kompeten. Menurut George (2008) dalam Lestari, 2015 aktivitas sitokinin endogen merupakan penyebab atau

bertanggung jawab atas sulitnya pembentukan embrio pada beberapa genotipe tanaman.

Murch dkk. (1997) memverifikasi bahwa TDZ menstimulasi perbanyakan yang diakibatkan dari meningkatnya asam absisat, proline dan ion-ion tertentu. Guo (2008) menjelaskan bahwa TDZ berpengaruh dalam meningkatkan akumulasi ion mineral yang menginduksi regenerasi tanaman. TDZ dengan jumlah relatif rendah dapat meningkatkan multiplikasi tunas atau embriogenesis somatik pada beberapa tanaman. Penggunaan TDZ konsentrasi rendah (0,5 mg/l) leboh efektif dalam memacu proliferasi tunas dibanding konsentrasi tinggi (Lestari, 2015).

Menurut Azwin dkk. (2006) pada tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.), penambahan TDZ 0,25 ppm (0,25 mg/l) memberikan hasil terbaik dan merupakan konsentrasi optimum dalam menghasilkan jumlah tunas, panjang tunas, dan jumlah daun plantlet gaharu, baik eksplan yang berasal dari tunas aksilar atau tunas adventif. Hasil penelitian Mula Elo (2010) pada multiplikasi tunas umbi talas dengan media MS yang ditambahkan TDZ 2 mg/l, menghasilkan jumlah tunas 2,47 per eksplan, dengan penambahan sukrosa 30 g dan agar-agar 8 g per liter media.

III. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri atas dua percobaan yaitu perkecambahan benih ubikayu pada beberapa jenis media tanam (percobaan I). Percobaan I dilakukan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian. Selanjutnya, perbanyakkan eksplan satu buku ubikayu secara *in vitro* (Percobaan II) yang dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2017 hingga April 2018.

3.1 Percobaan I. Perkecambahan Benih Ubi Kayu

3.1.1 *Bahan dan Alat*

Bahan tanam yang digunakan yaitu benih ubi kayu F1 Keturunan Tetua Betina (F1 KTB) Malang, Mulyo, SL-36 (Sayur Liwa-36), dan GM-1 (Gedung Meneng-1) yang ditanam di Kecamatan Sekincau. Benih ubi kayu dipanen dalam bentuk polong kering (Gambar 2a), kemudian benih dipisahkan dari polong (Gambar 2b). Benih tersebut sudah disimpan selama 4 bulan. Peralatan yang digunakan pada percobaan ini adalah ember, plastik, karung, dan polibag.



Gambar 2. (a) Polong Benih Ubi Kayu (b) Benih Ubi Kayu Siap di Tanam

3.1.2 Metode Penelitian

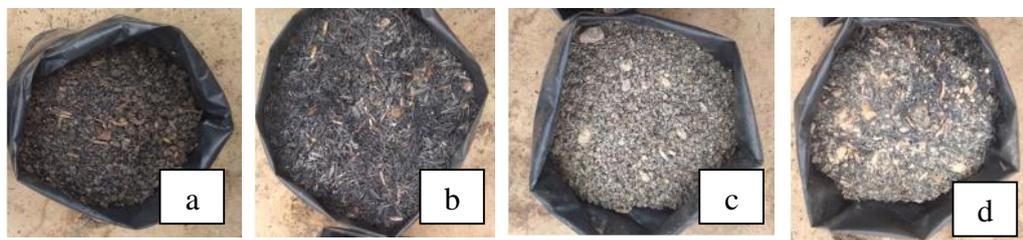
Penelitian ini dilakukan dengan pengecambahan benih dengan menggunakan 4 jenis media tanam yaitu :

1. Metode 1. Menggunakan media Kompos. Benih dikecambahkan pada polibag dengan menggunakan media campuran tanah dan kompos. Benih yang ditanam yaitu benih ubi kayu dari F1 KTB Genotipe Malang, Mulyo, SL-36, dan GM-1. Masing- masing F1 KTB Genotipe ditanam dalam 10 polibag. Masing-masing polibag ditanam 3 benih ubi kayu.
2. Metode 2. Menggunakan media sekam bakar. Benih dikecambahkan pada polibag dengan menggunakan media sekam bakar. Benih yang ditanam yaitu benih ubi kayu dari F1 KTB Genotipe Malang, Mulyo, SL-36, dan GM-1. Masing- masing F1 KTB Genotipe ditanam dalam 10 polibag. Masing- masing polibag ditanam 3 benih ubi kayu.
3. Metode 3. Menggunakan media campuran pasir dan kompos. Benih dikecambahkan pada polibag dengan menggunakan media pasir+kompos perbandingan 1:2. Benih yang ditanam yaitu benih ubi kayu dari F1 KTB Genotipe Malang, Mulyo, SL-36, dan GM-1. Masing- masing F1 KTB Genotipe ditanam dalam 10 polibag. Masing-masing ditanam 3 benih.
4. Metode 4. Menggunakan media campuran pasir dan sekam bakar. Benih dikecambahkan pada polibag dengan menggunakan media pasir+sekam bakar dengan perbandingan 1:2. Benih yang ditanam yaitu benih ubi kayu dari F1 KTB Genotipe Malang, Mulyo, SL-36, dan GM-11. Masing- masing F1 KTB Genotipe ditanam dalam 10 polibag. Masing-masing polibag ditanam 3 benih.

3.1.3 Pelaksanaan Penelitian

3.1.3.1 Penyiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan yaitu media kompos (Gambar 3a), sekam bakar (Gambar 3b), media campuran pasir dan kompos (Gambar 3c), media campuran pasir dan sekam bakar (Gambar 3d). Masing-masing media tanam langsung dimasukkan ke dalam polibag sebanyak $\frac{2}{3}$ bagian dari polibag tersebut.



Gambar 3. Media Perkecambahan benih ubi kayu : (a) Kompos (b) Sekam Bakar (c) Pasir + Kompos (d) Pasir + Sekam Bakar.

3.1.3.2 Penanaman Benih

Benih ubi kayu ditanam langsung di dalam polibag yang telah berisi media tanam. Setiap polibag ditanam 3 benih ubi kayu. Benih yang sudah ditanam dipelihara pada lingkungan rumah kaca, hal ini bertujuan agar penyinaran matahari tidak langsung ke tanaman ubi kayu dan mengurangi serangan hama dan penyakit dibandingkan apabila diletakkan di lingkungan terbuka. Penyiraman dilakukan setiap hari untuk menjaga kelembaban media.

3.1.4 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam percobaan ini adalah daya berkecambah benih. Variabel ini diukur dengan menghitung persentase daya berkecambah benih ubi

kayu dengan rumus sebagai berikut :

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

3.2 Percobaan II. Pertumbuhan dan Perbanyakan Eksplan Tunas Satu Buku Ubi Kayu Secara *In Vitro*

3.2.1 *Bahan dan Alat*

Bahan Tanam yang digunakan adalah ubi kayu yang ditanam pada media kompos, sekam bakar, pasir + kompos, dan pasir + sekam bakar yang terdiri dari 4 genotipe benih ubi kayu F1 keturunan tetua betina yaitu Genotipe Malang, Mulyo, SL-36 dan GM-1 selama ± 1 bulan (4MST). Dalam waktu ± 4 MST benih ubi kayu sudah berkecambah dan tumbuh dengan baik memiliki $\pm 4-6$ buku dan dapat digunakan sebagai eksplan (Gambar 4a) .

Eksplan yang digunakan dalam penelitian adalah bagian tunas ubi kayu sekitar 2-3 buku dari pucuk dengan daun yang sudah membuka sempurna (*fully expanded leaf*) (Gambar 4b). Hal ini disebabkan karena pada buku 2-3 dari pucuk merupakan jaringan muda yang masih tumbuh aktif, yang mempunyai daya regenerasi tinggi dan sel-selnya masih aktif membelah diri, dan relatif bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan) (Yusnita, 2003). Pengambilan eksplan buku dilakukan dengan memotong bagian buku tanaman dengan menggunakan pisau tajam.



Gambar 4. (a) Ubi Kayu Umur 4 MST di Rumah Kaca sebagai sumber eksplan
(b) Eksplan 2-3 buku dari bagian pucuk.

Media kultur yang digunakan yaitu media prekondisi dan media perlakuan yang mengikuti formulasi Murashige and Skoog (MS). Media prekondisi eksplan yang digunakan yaitu media gula dan agar tanpa penambahan Zat Pengatur Pertumbuhan (ZPT). Sedangkan media perlakuan menggunakan media MS yang ditambah beberapa taraf konsentrasi ZPT yaitu Thidiazuron (TDZ). Media pengakaran menggunakan media MS yang ditambahkan arang aktif 2g/l. Sebagai pematat media digunakan agar sebanyak 7 g/l. Bahan pendukung lain yang digunakan yaitu Tween-20, KOH 1 N, HCl 1 N, Larutan pemutih komersial (Natrium Hipoklorit), air steril, aquades dan spritus.

Peralatan yang digunakan pada tahap pembuatan media yaitu timbangan analitik, botol kultur, alat-alat gelas (labu ukur, labu *Erlenmeyer*, pipet, gelas piala dan *beaker glass*), kayu pengaduk, panci, pH meter, kompor, *autoclave*, plastik, karet, kertas label, dan gelas ukur. Alat –alat yang digunakan pada tahap sterilisasi eksplan yaitu botol steril, cawan petri, labu *Erlenmeyer*, pinset, dan gelas ukur. Alat-alat yang digunakan pada tahap penanaman yaitu pembakar bunsen, keramik, pinset, spatula, *blade*, pisau dan *hand sprayer*.

3.2.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok lengkap. Penelitian tersebut dilaksanakan dengan dua faktor, yaitu konsentrasi ZPT berupa TDZ sebanyak empat taraf (0 mg/l; 0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l) dan empat benih F1 KTB Genotipe ubi kayu (Malang, Mulyo, SL-36, dan GM-1). Penelitian ini diperoleh 16 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan terdiri atas tiga ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 3 botol kultur (250 ml) masing-masing terdiri dari satu eksplan. Homogenitas data diuji menggunakan uji Bartlett dan jika terpenuhi dilanjutkan analisis ragam dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.2.3 Pelaksanaan Penelitian

3.2.3.1 Persiapan Eksplan

Eksplan yang akan digunakan adalah eksplan satu buku yang diambil sekitar 2-3 buku dari pucuk dengan daun yang sudah membuka sempurna (*fully expanded leaf*) hasil perkecambahan benih ubi kayu yang ditanam pada media perkecambahan di Rumah Kaca. Benih yang sudah ditanam dipelihara pada lingkungan rumah kaca, hal ini bertujuan agar penyinaran matahari tidak langsung ke tanaman ubi kayu dan mengurangi serangan hama dan penyakit dibandingkan apabila diletakkan di lingkungan terbuka. Penyiraman dilakukan setiap hari untuk menjaga kelembaban media.

3.2.3.2 Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan harus berada dalam kondisi aseptik. Sterilisasi botol sebagai tempat kultur merupakan langkah pertama yang harus dilakukan. Sterilisasi botol dilakukan melalui 2 tahapan. Tahap pertama dilakukan sterilisasi botol hasil kultur sebelumnya menggunakan autoklaf Budenberg selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Selanjutnya sisa media tanam sebelumnya, sisa tanaman, dan label dibersihkan dari dinding botol, kemudian botol direndam selama 1 malam dalam air yang telah ditambahkan detergen 2 g/l dan 100 ml/l desinfektan berupa larutan pemutih komersial. Tahap kedua botol dicuci menggunakan sabun pada seluruh bagiannya hingga bersih lalu dibilas di bawah air mengalir. Botol direndam dalam air panas selama 15 menit, kemudian botol ditiriskan lalu ditutup plastik tahan panas dan diikat karet. Selanjutnya botol tersebut disterilisasi tahap akhir menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

Selain botol kultur, alat-alat yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan perlu disterilisasi. Alat-alat yang digunakan berupa alat diseksi (pinset dan *scalpel*), cawan petri, keramik, botol *schout*, kapas dan gelas ukur. Alat diseksi, cawan petri, dan keramik dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Botol *schout* diisi $\frac{3}{4}$ air sebagai persiapan untuk air steril. Kapas bersih dimasukkan ke dalam botol kultur steril. Gelas ukur diberi penutup pada bagian mulutnya menggunakan aluminium foil. Seluruh alat disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

3.2.3.3 Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan mempersiapkan peralatan gelas dan non gelas yang terlebih dahulu harus dibilas menggunakan aquades. Alat-alat tersebut berupa alat gelas (gelas ukur(10; 100; 250; 2000 ml), gelas beaker (200; 1000; 2000 ml), dan labu ukur (500; 1000 ml)) dan non gelas (*magnetic stirrer*, pinset, spatula, panci enamel).

Terdapat tiga jenis media yang digunakan pada penelitian ini, yaitu media prekondisi, media perlakuan dan media pengakaran. Media prekondisi yang digunakan pada penelitian ini adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS) sebagai media tanam awal eksplan. Media ini ditambahkan gula dan agar tanpa adanya penambahan ZPT. Penanaman eksplan di media prekondisi dimaksudkan untuk mendapatkan eksplan steril yang lebih seragam dan memperkecil tingkat kontaminasi. Pembuatan media prakondisi dilakukan dengan melarutkan garam garam MS kedalam gelas beaker. Setelah homogen, larutan ditera hingga mencapai volume 1 liter dan pH-nya ditetapkan 5,8. Penambahan KOH 1 N jika pH media kurang dari 5,8 atau penambahan HCl 1 N jika pH media lebih dari 5,8. Media dituang kedalam panci dan ditambahkan agar sebagai pematat media sebanyak 7g/l, media dimasak hingga mendidih kemudian dituang pada botol kultur dan diberi label.

Media perlakuan yang digunakan yaitu media dasar MS yang ditambahkan beberapa taraf konsentrasi TDZ (0; 0,25;0,50;0,75 mg/l). Pembuatan larutan stok TDZ 100 mg/l yaitu ditimbang 100 mg TDZ kemudian dilarutkan dengan larutan NaOH 1 N sekitar 3 ml/l, setelah larut ditera hingga mencapai volume 1 liter.

Pada media perlakuan garam garam MS yang sudah larut ditambahkan sukrosa sebanyak 30 g/l. Setelah homogen, ditambahkan TDZ sesuai taraf konsentrasi masing masing. Penambahan KOH 1 N jika pH media kurang dari 5,8 atau penambahan HCl 1 N jika pH media lebih dari 5,8. Media dituang kedalam panci dan ditambahkan agar sebagai pematat media sebanyak 7 g/l, media dimasak hingga mendidih kemudian dituang pada botol kultur dan diberi label.

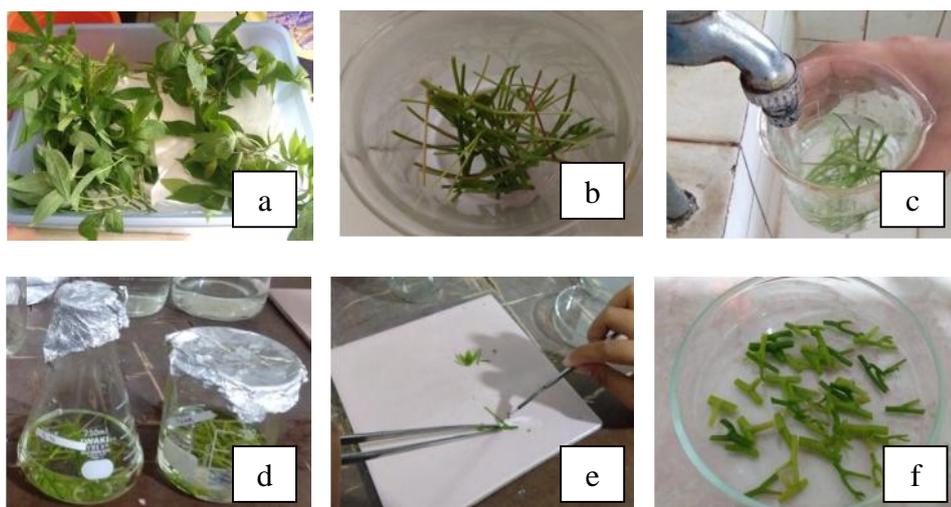
Media pengakaran yang digunakan adalah media dasar MS yang ditambahkan AC 2 g/l (media arang aktif). Pada media pengakaran garam garam MS yang sudah larut ditambahkan sukrosa sebanyak 30 g/l. Setelah homogen, diukur pH media. Penambahan KOH 1 N jika pH media kurang dari 5,8 atau penambahan HCl 1 N jika pH media lebih dari 5,8. Media dituang kedalam panci dan ditambahkan agar sebagai pematat media sebanyak 7 g/l, kemudian ditambahkan arang aktif 2 g/l, media dimasak hingga mendidih kemudian dituang pada botol kultur dan diberi label.

Dalam volume 1 liter media dibutuhkan kurang lebih 30 botol kultur. Kemudian media tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Setelah selesai, media dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan kemudian disimpan dalam ruang penyimpanan media.

3.2.3.4 Sterilisasi Permukaan Eksplan

Eksplan ubi kayu yang terdiri dari 2-3 buku (Gambar 5a), dibuang bagian daun dan disisakan bagian buku (Gambar 5b). Lalu, dibilas dengan air mengalir (Gambar 5c) dan disterilisasi di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) menggunakan

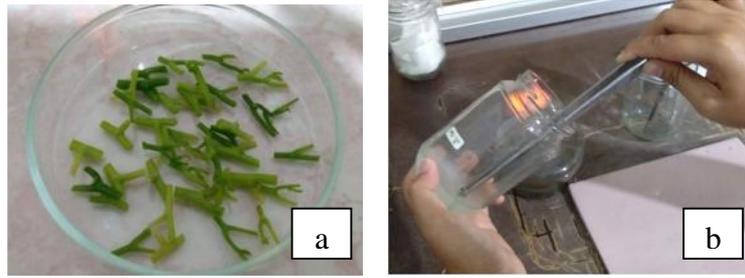
larutan pemutih komersial/ natrium hipoklorit 20% selama 10 menit dengan penambahan Tween-20 2 tetes/100ml larutan (Gambar 5d). Kemudian eksplan dibilas tiga kali menggunakan air steril. Sebelum ditanam, eksplan dipotong – potong menjadi beberapa eksplan satu buku yang memiliki mata tunas (Gambar 5e). Sehingga yang tersisa adalah ekplan satu buku (Gambar 5f).



Gambar 5 . (a) Eksplan ubi kayu yang terdiri dari 2-3 buku (b) Eksplan yang telah dibuang daun dan tangkai daun (c) Eksplan dibilas dengan air mengalir (d) Eksplan di sterilisasi dengan larutan Bayclin dan Tween-20 (e) Ekplan dipotong menjadi satu buku (f) Eksplan tunas satu buku yang siap ditanam.

3.2.3.5 Penanaman Eksplan

Bahan tanam berupa eksplan satu buku (Gambar 6a) dikulturkan terlebih dahulu pada media prekondisi yaitu media yang terdiri dari gula dan agar selama 4 MST. Penanaman eksplan steril dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dengan kondisi aseptik (Gambar 6b). Setiap botol kultur ditanam 2 eksplan berukuran 1-2 cm dengan eksplan satu buku. Masing- masing F1 KTB genotipe terdiri dari 10 botol kultur. Eksplan yang sudah ditanam pada media prekondisi tidak terkontaminasi dan dianggap steril dan dapat dipindah ke media perlakuan.

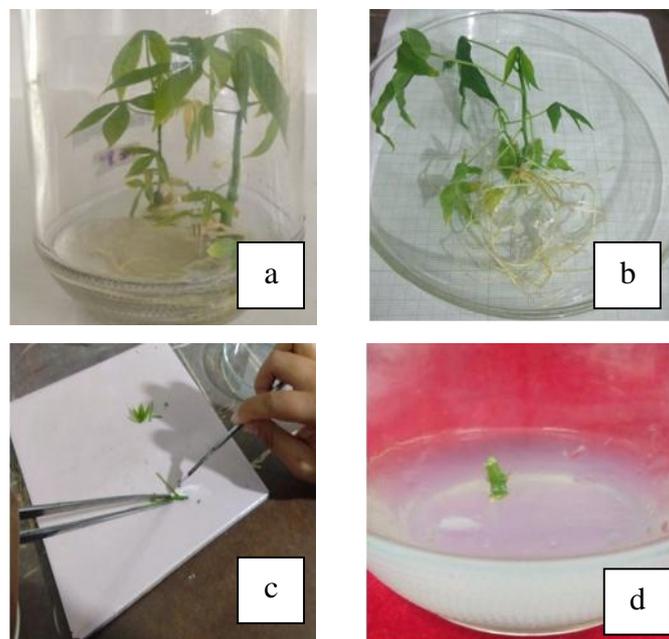


Gambar 6. (a) Bahan tanam ubi kayu tunas satu buku yang siap ditanam pada media prekondisi (b) Penanaman eksplan pada media prekondisi.

3.2.3.6 Subkultur Media Perlakuan

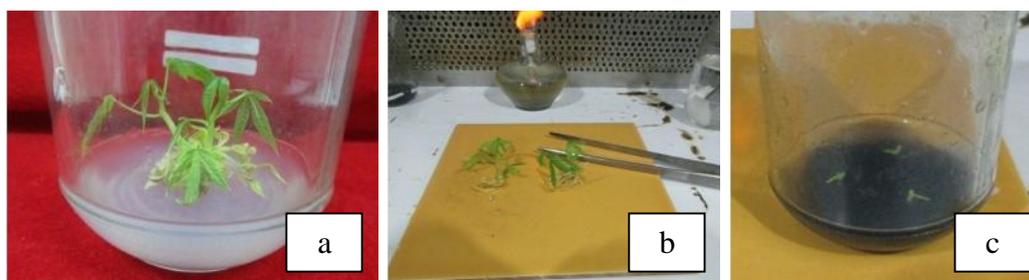
Bahan tanam berasal dari media prekondisi (Gambar 7a, 7b) memiliki 2-3 buku.

Lalu dipotong dengan ukuran ± 2 cm (Gambar 7c) memiliki satu buku ditanam secara vertikal pada media perlakuan TDZ (0; 0,25; 0,5; dan 0,75 mg/l) di dalam LAFC selama 6 MSP (Gambar 7d). Setiap botol ditanam 1 eksplan.



Gambar 7. Subkultur Media Perlakuan (a) Kultur Ubi Kayu berumur 4 MST di Media Prekondisi (b) Penampilan kultur pada media prekondisi (c) Pemotongan eksplan menjadi satu buku (d) Penanaman pada media perlakuan TDZ.

Setelah berumur 6 minggu eksplan yang bertunas dan menunjukkan respon pembentukan buku (Gambar 8a), dilakukan subkultur ke media MS + 2g/l arang aktif. Kultur ubi kayu dipotong-potong menjadi eskplan satu buku kembali dengan ukuran 1-2 cm. Kemudian eksplan ditanam pada media AC 2g/l sebanyak 3 eksplan per botol. Subkultur ini diharapkan terjadi pemanjangan tunas dan pengakaran tanaman agar ubi kayu siap dipindahkan ke lapang untuk proses aklimatisasi. Eksplan ditanam dalam media AC selama 4 MST dengan kriteria sudah membentuk tanaman utuh, yang terdiri dari daun, batang, dan akar.



Gambar 8. Subkultur ke media AC 2g/l (a) Penampilan kultur pada media perlakuan (b) Eksplan dipotong menjadi 1 buku (c) Eksplan tunas satu buku ditanam pada media AC 2g/l

3.2.3.7 Pemeliharaan

Eksplan yang sudah ditanam diletakkan pada rak dalam ruang kultur dan diberi cahaya putih dengan menggunakan lampu *fluorecent* dengan intensitas 1000-4000 lux selama 24 jam terus menerus setiap hari. Suhu di dalam ruangan diatur menjadi $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan menggunakan mesin pendingin (AC).

3.2.3.8 Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan setelah *planlet* berumur 4 MSS pada media MS yang ditambahkan AC 2g/l. Kriteria *planlet* ubi kayu siap aklimatisasi adalah setidaknya memiliki 3-4 daun yang sudah membuka sempurna, batang sudah terlihat kokoh dan sudah memiliki akar. Kultur ubi kayu dikeluarkan dari ruang kultur, kemudian perlahan *planlet* dikeluarkan dari botol, dicuci dengan air mengalir, dicelupkan dalam larutan fungisida 2g/l. Aklimatisasi menggunakan media sekam bakar dan kompos dengan perbandingan 1:2 dan diletakkan di rumah kaca (Gambar 9). *Planlet* diberi sungkup hal ini bertujuan untuk melindungi bibit dari udara luar dan serangan hama penyakit karena bibit hasil kultur jaringan sangat rentan terhadap serangan hama penyakit dan udara luar, setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya maka secara bertahap sungkup di lepaskan.



Gambar 9. Media sekam bakar + kompos untuk aklimatisasi

3.2.4 Variabel Pengamatan

Pengamatan pada media perlakuan dilakukan setiap satu minggu selama 6 MST. Data pengamatan kemudian diolah dan dianalisis untuk kemudian dituangkan dalam penulisan skripsi. Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain :

1. Panjang tunas utama per eksplan

Variabel ini diukur dengan cara mengukur panjang tunas dari pangkal tunas diatas permukaan eksplan sampai titik tumbuh tanaman.

2. Jumlah tunas per eksplan

Variabel ini diukur dengan cara menghitung tunas aksilar yang terbentuk dari setiap eksplan. Dan diamati ada tidaknya tunas adventif yang merupakan tunas yang terbentuk bukan berasal dari mata tunas yang ada tetepi berasal dari bagian lain tanaman yang awalnya tidak terdapat mata tunas.

3. Jumlah buku per eksplan

Variabel ini diukur dengan cara menghitung semua buku yang terdapat pada tunas utama dari setiap eksplan

4. Jumlah daun per eksplan

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah semua daun yang terbentuk pada tunas utama dari setiap eksplan.

5. Persentase (%) eksplan bertunas

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk tunas. Persentase eksplan bertunas dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Persentase eksplan bertunas} = \frac{\text{Jumlah Eksplan Bertunas}}{\text{Jumlah Eksplan Keseluruhan}} \times 100\%$$

6. Persentase (%) eksplan berakar

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah eksplan yang memiliki akar. Persentase eksplan berakar dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Persentase eksplan berakar} = \frac{\text{Jumlah Eksplan Berakar}}{\text{Jumlah Eksplan Keseluruhan}} \times 100\%$$

7. Persentase (%) eksplan berkalus

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus. Persentase eksplan berkalus dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Persentase Berkalus} = \frac{\text{Jumlah Eksplan Berkalus}}{\text{Jumlah Eksplan Keseluruhan}} \times 100\%$$

8. Persentase (%) kontaminasi

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah eksplan yang terkontaminasi baik disebabkan oleh jamur maupun bakteri.

$$\text{Persentase Kontaminasi Jamur} = \frac{\text{Jumlah Eksplan (Jamur)}}{\text{Jumlah Eksplan Keseluruhan}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Kontaminasi Bakteri} = \frac{\text{Jumlah Eksplan (Bakteri)}}{\text{Jumlah Eksplan Keseluruhan}} \times 100\%$$

9. Penampilan visual eksplan

Penampilan visual eksplan diamati dengan mengambil gambar eksplan menggunakan kamera. Variabel pengamatan ini dilakukan sebagai penunjang hasil pengamatan variabel lainnya.

10. Persentase (%) *planlet* hidup saat aklimatisasi

Variabel ini diukur dengan cara menghitung jumlah *planlet* yang tumbuh selama 2 Minggu Setelah Aklimatisasi. Persentase *planlet* hidup saat aklimatisasi dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Persentase Planlet Hidup} = \frac{\text{Planlet hidup}}{\text{Total Planlet diaklimatisasi}} \times 100\%$$

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Teknik perkecambahan dengan media kompos+ pasir menghasilkan persentase daya berkecambah benih tertinggi yaitu 59% dari ketiga media lain yang dicobakan yaitu media sekam bakar, sekam bakar+pasir, kompos berturut-turut sebesar 49%, 38%, dan 58%.
2. Jumlah tunas terbaik kultur *in vitro* ubi kayu berumur 6 MSP dihasilkan pada media dengan penambahan TDZ 0,50 mg/l yaitu 1,33 tunas per eksplan. Sedangkan, Kultur *in vitro* ubi kayu pada media TDZ 0 mg/l menghasilkan tinggi tunas, jumlah buku, dan jumlah daun terbaik yaitu berturut-turut sebesar 3,04 cm; 4,4 buku per eksplan dan 3,7 daun per eksplan. Penambahan TDZ 0,75 mg/l pada media perlakuan menunjukkan persentase pembentukan kalus tertinggi sebesar 97%.
3. F1 KTB genotipe Malang dan SL-36 menghasilkan jumlah buku terbaik yaitu berturut-turut sebanyak 2,2 dan 2,5 buku per eksplan, sedangkan untuk tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas tidak dipengaruhi oleh F1 KTB genotipe.
4. Tidak terjadi interaksi antara penggunaan beberapa konsentrasi TDZ pada berbagai F1 KTB genotipe ubi kayu yang dicobakan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan untuk melakukan penelitian selanjutnya pada teknik perkecambahan benih dilakukan skarifikasi pada benih terlebih dahulu seperti menggosok kulit benih dengan amplas atau dipotong dan merendam dengan air panas untuk melunakkan kulit benih yang keras. Pada percobaan perbanyakan dan pertumbuhan secara *in vitro* menggunakan TDZ dengan konsentrasi yang lebih rendah (0,1 - 0,25 mg/l) atau menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi (0,75 - 1,5 mg/l) yang dilakukan subkultur setiap umur 2 MST. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat melakukan penelitian mengenai embriogenesis ubi kayu. Kemudian, dilakukan subkultur dengan waktu yang lebih singkat yaitu subkultur pada media perlakuan setiap 2 minggu.

Dilihat dari penelitian ini, dengan tanpa penambahan ZPT mampu menghasilkan jumlah buku dan tinggi tunas terbaik, sehingga penulis menyarankan untuk melakukan penelitian dengan memperbanyak buku melalui MS-0 namun langsung dilakukan aklimatisasi. Selanjutnya diharapkan untuk penelitian yang akan datang, setelah diberi perlakuan ZPT, dan eksplan akan diaklimatisasi sebaiknya dilakukan proses *hardening* (fase pengadaptasian *planlet* pada tahap *in vitro* dimana *planlet* ditumbuhkan pada lingkungan tanpa suplai karbohidrat sehingga mulai mengadakan fotosintesis sendiri dan menyangkut perpanjangan tunas dan akar. Serta, diharapkan sebelum dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu sistem pengakaran sudah baik dan terbentuk akar-akar serabut sehingga mampu menyerap unsur hara dan air dari dalam media.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. 1992. Aspek-aspek penting uji perkecambahan benih pohon menurut ACFTSC. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Kehutanan* 8. (2): 5-10.
- Allem, A. C. 2002. The origins and taxonomy of cassava. Di dalam Hillocks RJ Thresh JM, Belloti Ac, editor. *Cassava : Biology , Production and Utilization*. New York ; CABI Publishing. hlm 1-16.
- Armini, N. M., G. A. Wattimena, L. W. Gunawan. 1992. Perbanyak Tanaman Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 309 hlm.
- Azwin, Iskandar, Z.S., dan Supriyanto. 2006. Penggunaan BAP dan TDZ untuk perbanyak tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Jurnal Media Konservasi*. 1 (3): 98-104.
- Badan Informasi Pertanian Irian Jaya. 1995. Budidaya singkoong (*Manihot esculenta* Crantz). Lembar Informasi Pertanian. BIP Irian Jaya 150/95. <http://www.pustaka-deptan.go.id>.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2013. *Lampung Dalam angka 2013*. Bandar Lampung. Diakses pada tanggal 01 November 2017.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2016. *Produksi Ubi Kayu Menurut Provinsi (Ton) 1993-2015*. <http://www.bps.go.id/linkTabelDinamis/view/id/880/> . Diakses pada tanggal 01 November 2017.
- Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. 2010. *Perbanyak stek ub kayu dengan stek mini dan populasi tinggi*. Diakses pada tanggal 01 November 2017. <http://balitkabi.litbang.deptan.go.id>.
- Balat, M., H. balat and C. Oz. 2008. Progress and Processing. *Progressin Energy and Combustion Science*. 34: 551-557.
- Basri, A. H. H. 2016. Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyak tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensia*. 10 (1) : 64-73.

- Bennett, W. F. 1994. Nutrien deficiencies and Toxicities in Crop plant. Lubbock : College of Agricultural Sciences and natural Resurces. Texas tech University.
- Bhagwatt Bm Vieira LGE, Erickson LR. 1996. Stimulation of *in vitro* shoot proliferation from nodal explants of cassava by thidiazuron, benzyladenine dan gibberellic acid. *Plant Cell Tissue. Organ Cult.* 46 (1) : 1-7.
- Brar, S, Mohanjeet, JM Al-Khayri and GL Klingaman. 1995. Effect of thidiazuron and benzylaminopurine on in vitro shoot proliferation of Cornation (*Dianthus caryophyllus* L). *Proceedings Arkansas Academy of Science* 49:30-33.
- Cachita, C.D. and Cracium, C. 1990. Ultrastructural Respon Studies on Some Ornamentals dalam : Ammirato, P.V., Evans, D.A., Sharp, W.R., Bajaj, Y.P.S. Editor. *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol 5. Mc Graw Hill Co. New York (US).
- Copeland, L.O. and M. B. Mc. Donald. 2001. *Seed science and Technology 4th edition* . Kluwer Academic Publisher. London 425 p.
- Dewi, R. I. 2008. *Peranan dan Fungsi Fithohormon bagi Pertumbuhan Tanaman*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Dinyunita. 2007. *Kultur Jariangan Tanaman*. <http://www.dinyunita-kuljar.blogspot.co.id/2007/?m=1>. Diakses pada tanggal 01 November 2017.
- Doods, J. H., dan L. W. Robert. 1983. *Experiment in Plants Tissue Culture*. Cambridge University Press. London.
- Eady, C. C and C. E. lister. 1998. A commparison of four selective agents for use with *Allium cepa* L. Immature Embryos and Immature Embryo Derived Cultures. *Plant Cell Reports*. 18: 117-121.
- Fauzi, A. R. 2010. Induksi Multiplikasi Tunas Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) var. Adira 2 Secara *In Vitro*. (Skripsi). Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 34 hlm.
- Gardjito, M., Djuwadi., Harmayani. 2013. *Pangan Nusantara (Karakteristik dan Prospek Untuk Percepatan Diversifikasi Pangan)*. Kencana Prenada Media Group. Jakarta.
- George, E. F and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd. London. 709p.

- George, E. F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Part 1. The technology Exegetics Ltd. England. 574p.
- George, E. F. 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Second Edition. Exegetics Limited. England. 285-302p.
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman P. A. U. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur In Vitro Dalam Hortikultura*. Penerbit Swadaya. Depok.
- Gunawan, L.W. 1998. *Teknik Kultur In Vitro Tumbuhan*. Laboratorium Kultur In Vitro Tumbuhan, Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 304 hlm.
- Hartmann HT., Kester D.E., Davies, F.T. 1990. *Plant Propagation Principles and Practices*. Prentice-Hall International Inc. New Jersey.
- Helmanto, H., Frisca, D., Danag, W. P. 2015. Pengaruh pupuk kompos bioposka dalam proses perkecambahan dan pertumbuhan biji *Quassia indica*. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 1 (4) : 852-855.
- Hidayah, W.N., JS. Noeriah., SM Sharifah Aminah, SA Sharipah, Ruzaina and P Faedah. 2012. Effect od medium strength and hormones concretation on regeneration of *Pogostemon cablin* using nodes explant. Asian Journal of Biotechnology 4 (1) : 46 – 52.
- Hossain, M.M. 2008. Asymbiotic seed germination and *in vitro seedling* Development of *Epidendrum ibagunse* Kunth. (Orchidaceae). Afric. J. Biotech. 7 (20) : 3614-3619.
- Hutami, S., I. Mariska., M. Kosmiatin., A. V. Novianti, dan D. Soepandie. 2003. Seleksi *in vitro* dan Pengujian Somatik Kedelai toleran A1 dan ph Rendah. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan. 22 (3): 167-175.
- Hutami, S. 2006. Penggunaan arang aktif dalam kultur *in vitro* (the use of activated charcoal in *in vitro* culture). Bogor. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. *Berita Biologi*. 8 (1).
- Karjadi, A. K dan A. Buchori. 2008. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan jaringan meristem kentang kultivar granola. *Jurnal Hortikultura* 18 (40): 380- 384.
- Khawar, K. M., C. S. Sevimay, and E. Yusbasioglu. 2003. *Adventitious shoot regeneration from different explant of wild lentil (Lens Culinaris Subsp Orientalis)*. University of Ankara. Turkey.

- Khurana-kaul V, Kachwahana S, Kothari SL. 2010. Direct shoot regeneration from leaf explants of *Jatropha curcas* in response to thidiazuron and high copper contents in the medium. *Biol. Plantarum*. 54 (2): 369-372.
- Kuswanto, H. 1996, *Dasar-Dasar Teknologi, Produksi dan sertifikasi Benih*. Andi. Yogyakarta.
- Lakitan, B. 1995. *Hortikultura, Teori, Budidaya, dan Pascapanen*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lestari, E. G. 2015. Peran thidiazuron dalam peningkatan kemampuan proliferasi tanaman secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 34 (2) : 51-93.
- Lestari, R.R. 2016. Pengaruh Media Dasar dan Arang Aktif Terhadap Pertumbuhan *Seedling* Angrek *Cattleya* Hibrida *In Vitro*. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 54 hlm.
- Lingga, P., B. Sarwono, F. Rahardi, C. Raharja, J. J. Anfiastini, W. Rini dan W. H. Apriadji. 1986. *Bertanam Ubi-ubian*. Penebar Swadaya. Jakarta. 285 hal.
- Lu, C.Y. 1993. The Use Thidiazuron in Tissue Culture. *In Vitro Cellular and Development Biology Plant* 29: 92-96.
- Magdalena, T. S., L Drozdowska, and M. Szota. 2002. Effect of cytokinins on *in vitro* morphogenesis and ploidy of pepper *Capsicum annum* L. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Agronomy*. Vol 5. Issues 1. [Www. Ejpau.media.pl/series/volume5/issues1/agronomy/art-04.html](http://www.Ejpau.media.pl/series/volume5/issues1/agronomy/art-04.html). 21 Mei 2018.
- Manan, S. 1976. *Silvikultur*. Lembaga kerja Sama Fakultas Kehutanan Institut Mada. Yogyakarta.
- Mithila, J., Hall., J. M. R. Victor, and P. Saxena. 2003. Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentration on leaf and petiole explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl). *Plant Cell Rep*. 21: 48-414.
- Mula Elo, A. 2010. Pertumbuhan *In Vitro* Eksplan Talas (*Colocasia esculenta* L.) var. *antigorium* Pada Berbagai Konsentrasi Thidiazuron. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. *A Revised Medium For Rapped Growth and Bioassay With Tobacco Tissue Culture Physiol Plant* 15:473-497.

- Murthy, B. N.S., S.J. Murch, and P.K Saxena. 1998. Thidiazuron : A Potent Regulator of *In Vitro* Plant Morphogenesis. *In Vitro Cell Dev. Biol-Plant* 34(4) : 267-275.
- Night Elf.2008. Ubi kayu :bahan pangan nomor dua, bahan bakar nomor satu . <http://prapanca21.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 01 November 2017.
- Nisak, K., T. Nurhidayati, dan K. I. Purwani. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Sains dan Seni Pomits*. 1 (1): 1-6.
- Novak, F. J., L. Havel and Dolezel. 1986. *Allium*. In D. A. Sharp W. R. and Ammiranto P. V. (Eds.). *Handbook Plant Cell Culture*. 4:419-456. Mac. Millan N. Y.
- Nweke, Fl., Spencer, SCD., Lynam, KJ. 2002. *The Cassava Transformation. Africa Best Kept Secret*. Michigan State University Press, East Lansing. Michigan.273p.
- O'Hair, S.K. 1995. *Cassava*. <http://www.hort.produce.edu>
- Pelletier, J. N., F.C.B.C. Tran, and S. Lalibert. 2004. *Tips-N-Tricks in Plant Tissue Culture*. University du Qubec Montreal. Canada.
- Pierik, R. I. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Netherlands : Martinus Nijhoff Publisher. 344p.
- Poespodarsono, 1992. *Pemuliaan Ubi Kayu*. Dalam A. Kasno, M. Dahlan dan Hasnam (Eds). *Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman I Perhimpunan Pemuliaan Tanaman Indonesia Komda Jawa Timur*. 27-28 Agustus di Malang, Jawa timur.
- Priadi, D dan Sudarmonowati, E. 2004. *Pengaruh Komposisi Media dan Ukuran Eksplan Terhadap Pembentukan Kalus Embriogenik Terhadap Beberapa Varietas Lokal Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz)*. Diakses tanggal 10 November 2017. [http:// scribd.com](http://scribd.com).
- Prihandana, R. K. Noerwijati, P. G. Adinurani, D. Setyaningsih, S. Setiadi, dan R. Hendroko. 2007. *Bioetanol Ubi Kayu: Bahan Bakar Masa Depan*. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 194 hal.
- Primawati, E. 2006. *Perbanyak Cendana (Santalum album Linn. Secara Kultur In Vitro Dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin (BAP dan Kinetin)*. Skripsi. Insitut Pertanian Bogor.
- Purnamaningsih, R dan Misky, A. 2011. *Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari Artemisia annua L*. Balai

Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Balai Pertanian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.

- Purwono, L dan Purnamawati. 2007. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta. 139 hal.
- Purwono. 2009. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul*. Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Rahayu, N. 2006. Inisiasi in vitro Pucuk Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP dalam Media ½ MS. Skripsi. FMIPA USU. Medan.
- Ramesh, Y, and V Ramassary. 2014. Effect of gelling agents in in vitro multiplication of banana var. Poovan. *Int. j. Advanced Bio. Research* 4 (3): 308-311.
- Rashid, A. 1988. *Cell Physiology and Genetics of Higher Plants* vol. CRS Press inc. Florida. 169 p.
- Rukmana, R. 2007. *Ubi kayu, budidaya dan pasca panen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Rusyadi, Y., Sunarlin, N., I. Mariska, dan Murtado. 2001. Multiple tunas tanaman melinjo melalui kultur *in vitro*. Laporan teknik penelitian Tanaman Industri. Balitbio. Bogor.
- Safaat. 2011. Pengamatan Perkecambah Benih Tembesi (*Samanea saman*) Pada Media Top Soil, Kompos dan Pasir. Skripsi. Politeknik Pertanian Negeri Samarinda.
- Salisbury, B. F. dan Ross, C. W. 1998. *Fisiologi Tumbuhan* Jilid 3. ITB. Bandung. 45 hlm.
- Sanjaya, P. 2011. Pengaruh Beberapa Konsentrasi Nitrogen dan Benziladenin (BA) Pada Perbanyakan dan Pertumbuhan Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Secara In Vitro (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung.
- Sculze, J. 2007. Improvements in Cereal Tissue culture by Thidiazuron A Review. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. 1 (2) 64-79.
- Sismanto. 2009. Studi Perbanyakan Anthurium Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) Secara In Vitro. Thesis Magister Agronomi. Universitas Lampung. 88 hlm.
- Soetanto, N. E. 2008. *Tepung Kasava dan Olahannya*. Kanisius. Yogyakarta. 81 hlm.
- Sudarmonowati, E. 1992. Pengaruh Jenis Eksplan dan Hormon pada Perbanyakan *Eucalyptus urophylla* secara in vitro, p. 341-349. Dalam pusat Penelitian

dan Pengembangan Bioteknologi. Prosiding seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan bioteknologi. LIPI. Bogor.

- Suminar, E., DS Sobarna, A Nuraini, S Mubarok, P Suryatmana, Y Sihombing, dan C Angel. 2016. Regenerasi berbagai jenis eksplan nilam klon sidikalang dan aplikasi *Azotobacter* pada tahap aklimatisasi. *Jurnal Agrikultura* 27 (2): 72-82.
- Sundari, T. 2010. *Pengenalan Varietas Unggul dan Teknik Budidaya Ubi Kayu Malang (ID)*. Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian.
- Suriatna. 1980. Persemaian Untuk Penghijauan. Gema Rimba. Majalah Bulanan Perum Perhutani No. 41-42/IV.
- Suttle, J.C. 1984. Effect of defoliant thidiazuron ion ethylene evolution from mungbean hypocotil segments. *Plant Physiol.* 7 (5) : 902-907.
- Syaputri, G. 2009. Pengaruh Arang Aktif dan Konsentrasi Bubur Pisang Terhadap Pertumbuhan Seedling Anggrek *Dendrobium* Hibrida *In Vitro*. (Skripsi) Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Thomas, J.L dan F. R. Katerman. 1986. Short communication : cytokinin activity induced by thidiazuron. *Plant Physiology.*(86) 681-683.
- Thorpe, T. A. 1982. Carbohydrate Utilization and Metabolism. *In* J.M Bonga and D. J. Durzan (eds). *Tissue Culture in Forestry*. Martinus Nijhoff. London.
- Wahyuningsih, T. 2006. *Pengaruh Beberapa Konsentrasi Benzil Adenin (BA) atau Kinetin Pada Pembentukan Tunas Adventif Sansieviera trifasciata Lorentii In Vitro*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 24 hal.
- Warganegara, H.A. 2009. Pengaruh Jenis Media Dasar dan Arang Aktif Terhadap Pertumbuhan Anthurium Wave of Love *In Vitro*. (Skripsi). Universitas Lampung, Lampung. 56 hlm.
- Wargiono, J., Santoso, dan kartika. 2009. Dinamika Budidaya ubi kayu Dalam ; wargiono J., hermanto, dan Sunihardi. Ubi kayu, Inovasi teknologi dan kebijakan Pengembangan Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Litbang Pertanian.
- Wattimena, GA. LW Gunawan, NW Mattjik, E Syamsudin, NMA Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 309 hlm.
- Widiastoety, D., Santi, dan Solvia. 2012. Pengaruh berbagai konsentrasi arang aktif dalam media kultur *in vitro* terhadap pertumbuhan plantlet *Oncidium*. *J. Hort.* 17 (5): 7-10.

- Wijayani, A dan Hendaryono, S. 1994. *Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Kanisius. Yogyakarta. 59, 67 hlm.
- Yogaiswara. 2008. *Bioetanol dari ubi kayu*. Diakses tanggal 01 November 2017. <http://empatyheart.wordpress.com/2008/01/20/pdf/>.
- Yunita, R. 2004. Multiplikasi Tunas Melinjo (*Gnetum gnemon*) Secara In Vitro. SAGU. 3 (1): 1-8.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. PT. Agromedia Pustaka. Tangerang.
- Yusnita. 2010. *Perbanyak In Vitro Tanaman Anggrek*. Universitas Lampung. Lampung. 128 hlm.
- Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara. Jakarta.