

Multiplikasi Tunas dan Induksi Perakaran pada Ubi Kelapa (*Dioscorea alata* L.) dan Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) Secara *In Vitro*

Sri Hutami*, Ragapadmi Purnamaningsih, Ika Mariska, dan Surya Diantina

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: sri_hutami@yahoo.com

Diajukan: 6 Februari 2014; Diterima: 17 Juni 2014

ABSTRACT

Shoot Multiplication and Root Induction on “Ubi Kelapa” (*Dioscorea alata* L.) and “Gembili” (*Dioscorea esculenta* L.) Through *In Vitro* Culture. Sri Hutami, Ragapadmi Purnamaningsih, Ika Mariska, and Surya Diantina.

Dioscorea sp. (yam) is one of the minor tuber crops which grows wildy in the forest and only a few of its species are cultivated and used as main or secondary food. Conservation is needed to preserve plant genetic material. The objective of this research was to obtain methods of plantlets propagation of *D. alata* L. and *D. esculenta* L. through *in vitro* culture. The research was conducted at Tissue Culture Laboratory of ICABIOGRAD in 2012. The research consisted of three stages. First, shoot emergence. In this experiment, young shoots were planted in MS basic medium combined with benzyl adenine (BA) (0, 1, 3, and 5 mg/l) and gibberelic acid (GA) (0 and 5 mg/l). Second, shoot multiplication. Shoots of *Dioscorea* which were planted in the best medium of the first experiment were subcultured in MS medium combined with thidiazuron (0, 0.1, 0.5, 1, 2, and 3 mg/l). Third, root initiation. Shoots of *Dioscorea* which were planted in the best medium of the second experiment were subcultured in MS medium ($\frac{1}{2}$ MS and 1 MS) combined with indole-3-butyric acid (IBA) (0, 1, 3, and 5 mg/l). Result of these experiments showed that shoot emergence of *D. alata* L. and *D. esculenta* L. began at 2 weeks after planting in MS medium. More plantlets of *D. alata* L. and *D. esculenta* L. were obtained by shoot multiplication in MS media. Root initiation of the *Dioscorea* began at 4 weeks after planting in MS media. The addition of IBA (3–5 mg/l) on *D. esculenta* L. could not stimulate rooting but led to the formation of callus at the base of the stem buds.

Keywords: *Dioscorea alata* L., *Dioscorea esculenta* L., shoots multiplication, root induction, *in vitro* culture.

ABSTRAK

Multiplikasi Tunas dan Induksi Perakaran pada Ubi Kelapa (*Dioscorea alata* L.) dan Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) Secara *In Vitro*. Sri Hutami, Ragapadmi Purnamaningsih, Ika Mariska, dan Surya Diantina. *Dioscorea* sp. merupakan salah satu spesies ubi minor yang pada umumnya tumbuh liar di hutan, hanya sebagian kecil

yang dibudidayakan untuk diambil umbinya sebagai bahan pangan. Untuk melestarikan sumber daya genetik tanaman, diperlukan kegiatan konservasi. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan metode perbanyakan planlet ubi kelapa (*D. alata* L.) dan gembili (*D. esculenta* L.) melalui kultur *in vitro*. Penelitian dilaksanakan pada tahun 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan, BB Biogen. Penelitian meliputi tiga tahap. Pertama, induksi pertumbuhan/munculnya tunas. Eksplan berupa tunas muda ubi kelapa dan gembili ditanam pada media dasar MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh *benzyl adenine* (BA) (0, 1, 3, dan 5 mg/l) dan asam giberelin (GA_3) (0 dan 5 mg/l). Kedua, multiplikasi tunas. Tunas *Dioscorea* yang terbentuk pada media terbaik pada penelitian inisiasi tunas, disubkultur pada media multiplikasi menggunakan media dasar MS ditambah *thidiazuron* (0, 0,1, 0,5, 1, 2, dan 3 mg/l). Ketiga, inisiasi dan pertumbuhan akar. Tunas *Dioscorea* yang terbentuk pada media terbaik pada penelitian multiplikasi tunas disubkultur pada media perakaran, yaitu kombinasi dari dua media dasar MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) dengan pemberian *indolebutyric acid* (IBA) (0, 1, 3, dan 5 mg/l). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan/munculnya tunas ubi kelapa dan gembili dimulai pada umur 2 minggu setelah tanam, dengan media terbaik untuk ubi kelapa maupun gembili adalah media MS. Pembentukan planlet ubi kelapa dan gembili juga dapat dilakukan dengan multiplikasi tunas pada media MS. Perakaran ubi kelapa dan gembili diinisiasi pada umur 4 minggu setelah tanam pada media MS. Pemberian IBA (3–5 mg/l) pada gembili tidak dapat memacu perakaran, tetapi menyebabkan terbentuknya kalus pada pangkal biakan.

Kata kunci: *Dioscorea alata* L., *Dioscorea esculenta* L., multiplikasi tunas, perakaran, kultur *in vitro*.

PENDAHULUAN

Beragamnya plasma nutfah dan tanaman *indigenous* yang dimiliki Indonesia merupakan potensi yang sangat berharga dan bermanfaat untuk dikembangkan sebagai pangan potensial. *Dioscorea* sp. merupakan salah satu tanaman *indigenous* yang berpotensi bukan saja sebagai sumber pangan, namun juga sebagai sumber produk steroid dan sumber antioksidan (Fahmi dan Artalina, 2007).

Arnau *et al.* (2010) menyatakan Indonesia merupakan pusat domestikasi dan keragaman genetik

Dioscorea di dunia. Berbagai jenis *Dioscorea* ini berpotensi dalam diversifikasi pangan sebagai tanaman umbi penghasil karbohidrat. Selain berpotensi mengatasi kerawanan pangan, kandungan nutrisi *Dioscorea* juga memiliki banyak keuntungan dibanding dengan beras karena sarat dengan kandungan serat, vitamin, dan mineral tinggi. Selain itu, kandungan glutamin pada *Dioscorea* ditemukan sekitar 0,2 g/100 g sampel dibanding dengan beras yang berkisar 1,3 g/100 g sampel sehingga sangat baik untuk bahan baku pangan bagi penderita autisme. Menurut French (2006), setiap 100 g umbi *Dioscorea* mengandung 320–470 kalori dan 2,0–2,7 g protein.

Aktivitas budi daya *D. alata* dan *D. esculenta* masih sangat rendah. Umumnya umbi digunakan sebagai bibit dalam budi daya *Dioscorea*. Tingginya tingkat kebutuhan bibit diharapkan dapat diatasi dengan metode perbanyak bibit melalui kultur jaringan. Menurut Mikulik (1999), salah satu metode yang dapat melindungi tanaman dari kepunahan adalah dengan mengonservasi dan melakukan multiplikasi tanaman tersebut dengan kultur *in vitro* yang disebut sebagai mikropropagasi. Mikropropagasi tanaman secara *in vitro* merupakan suatu metode perbanyak tanaman yang efisien, bebas penyakit, seragam secara genetik, dalam jumlah banyak secara aseptik (Honda dan Kobayashi, 2004). Tahapan perbanyak bibit melalui kultur *in vitro* pada umumnya dilakukan melalui regenerasi tunas, multiplikasi tunas, dan perakaran sebelum diaklimatisasi. Pada setiap tahap diperlukan nisbah antara zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin yang berbeda (George dan Sherington, 1984; Hobir *et al.*, 1992).

Selain unsur hara makro dan mikro, dalam kultur *in vitro* sitokinin dan auksin berperan dalam pertumbuhan dan morfogenesis. Keseimbangan kedua ZPT tersebut menentukan pola diferensiasi eksplan. Sitokinin (BA atau kinetin) telah terbukti menjadi faktor kritis dalam multiplikasi tunas pada berbagai tanaman obat dan tanaman hias (Balachandran *et al.*, 1990; Mandang, 1993; Mariska dan Gati, 1995).

Di samping sitokinin, penggunaan *thidiazuron* (TDZ) dapat pula memengaruhi pengandaan tunas aksilar. Telah banyak dilaporkan bahwa TDZ mempunyai aktivitas yang menyerupai sitokinin (Nielsen *et al.*, 1993). Lu (1993) menyatakan bahwa senyawa tersebut dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Dalam penelitian ini, penggunaan TDZ diharapkan bersinergi dengan BA sehingga akan lebih memacu pertumbuhan tunas aksilar. Asam giberelin atau *gibberellic acid* (juga disebut *gibberellin* A₃, GA, atau GA₃) merupakan suatu hormon yang ditemukan dalam tanaman yang ber-

fungsi sebagai pemacu pertumbuhan dan pemanjangan sel, serta pemanjangan batang dan daun rumput-rumputan. Dalam kultur jaringan, bila giberelin ditambahkan ke dalam media pada kultur sel dengan kepadatan rendah, akan berpengaruh seperti auksin alami, tetapi bila diberikan pada konsentrasi tinggi (1–8 mg/l), akan memacu pertumbuhan kalus dari sel menjadi tidak terdiferensiasi (Moshkov *et al.*, 2008). Dengan manipulasi pada formulasi media, lingkungan secara fisik serta penggunaan bahan tanaman yang bersifat embrionik, umumnya daya multiplikasi tunas dapat meningkat. Dengan tingkat multiplikasi yang tinggi, efisiensi produksi bibit melalui kultur jaringan dapat ditingkatkan.

Hasil penelitian Adil *et al.* (2003) menyatakan bahwa *D. hispida* aksesori Bogor dan Kuningan responsif terhadap media pertunasan, baik Anderson maupun WPM, dengan penambahan GA₃ 10 mg/l + BA 0,5–2 mg/l + TDZ 0,1 mg/l. Gunawan (1996) menyatakan bahwa media dasar MS dengan penambahan NAA 0,1–1,2 mg/l atau 2,4-D 1–2 mg/l cukup untuk merangsang pembentukan kalus *Dioscorea* spp. untuk peningkatan kandungan diosgeninnya, sedangkan untuk pertumbuhan batang ditambahkan BAP 0,1–1,5 mg/l.

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan metode multiplikasi tunas dan pembentukan planlet dua spesies *Dioscorea* (*D. alata* dan *D. esculenta*) melalui kultur *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada tahun 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelti Biologi Sel dan Jaringan, BB Biogen, Bogor. Penelitian meliputi tiga tahap, yaitu pertumbuhan/munculnya tunas aksilar, multiplikasi tunas, serta inisiasi, dan pertumbuhan akar. Bahan tanaman yang digunakan adalah batang muda yang mempunyai satu mata tunas aksilar dari dua spesies *Dioscorea*, yaitu ubi kelapa (*D. alata* L.) aksesori no. 535 dan gembili (*D. esculenta* L.) aksesori UTBM. Biakan disimpan dalam ruang inkubator dengan suhu 23–25°C dengan intensitas cahaya sebesar 800–1.000 lux selama 16 jam dalam sehari.

Pertumbuhan Tunas Aksilar

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan merendam dalam alkohol 70% selama 5 menit, kloroks 30% selama 20 menit, dan kloroks 20% selama 15 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril tiga kali. Sebagai perlakuan, eksplan ubi kelapa dan eksplan gembili ditanam pada media MS dengan penambahan ZPT BA (0, 1, 3, dan 5 mg/l) dan GA₃ (0 dan 5 mg/l). Untuk setiap perlakuan ditanam seratus eksplan.

Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu setelah tanam (MST) sampai 8 MST. Peubah yang diamati adalah waktu pertumbuhan/munculnya tunas dan jumlah tunas yang terbentuk dari seratus eksplan yang ditanam untuk tiap perlakuan.

Multiplikasi Tunas

Eksplan yang digunakan adalah tunas dengan satu buku yang berasal dari tunas *Dioscorea* sp. yang terbentuk pada media terbaik pada tahap pertama sehingga tunas yang digunakan berasal dari media yang sama. Eksplan disubkultur pada media multiplikasi. Perlakuan berupa media multiplikasi, yaitu media dasar MS ditambah BA terbaik dari percobaan pertama, dikombinasikan dengan TDZ (0, 0,1, 0,5, 1, 2, dan 3 mg/l). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 10 ulangan sehingga terdapat 60 satuan pengamatan. Peubah yang diamati, yaitu tinggi tunas, jumlah daun, jumlah buku, dan jumlah tunas yang terbentuk dari setiap eksplan yang ditanam.

Inisiasi dan Pertumbuhan Akar

Eksplan yang digunakan adalah tunas dengan satu buku dan satu daun yang berasal dari tunas *Dioscorea* sp. yang terbentuk pada media terbaik pada tahap kedua (tunas yang digunakan berasal dari media yang sama). Perlakuan berupa media perakaran, yaitu kombinasi dari dua media dasar MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) dengan pemberian *indolebutyric acid* (IBA) (0, 1, 3, dan 5 mg/l). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 10 ulangan (terdapat 80 satuan pengamatan). Peubah yang diamati, yaitu waktu inisiasi akar, jumlah akar, panjang akar, dan bentuk visual akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

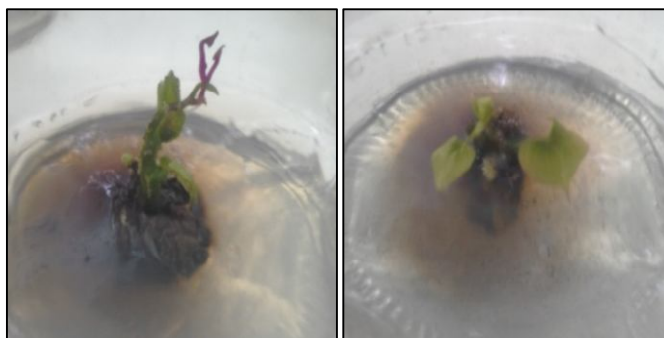
Dalam penelitian ini, hambatan yang sulit dikenalkan adalah tingkat pencokelatan (*browning*) yang sangat tinggi. Beberapa macam tanaman khususnya

tanaman tropika mempunyai kandungan senyawa fenol yang tinggi yang teroksidasi ketika sel dilukai atau terjadinya senesens (George dan Sherrington, 1984). Akibatnya, jaringan yang diisolasi menjadi cokelat atau kehitaman dan gagal tumbuh. Pencokelatan jaringan terjadi karena aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga, seperti polifenol oksidase dan tirosinase, yang dilepaskan atau disintesis dan tersedia pada kondisi oksidatif ketika jaringan dilukai (George dan de Klerk, 2008; Lerch, 1981). Pada penelitian ini, pencokelatan tersebut selanjutnya terakumulasi dalam media sehingga media menjadi cokelat kehitaman pada bagian tengahnya (Gambar 1). Adanya *browning* memengaruhi keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan eksplan karena fenol tersebut bersifat racun bagi jaringan dan menghambat pertumbuhan eksplan (George dan Sherrington, 1984). Kondisi *browning* terjadi hampir pada semua eksplan yang ditanam sehingga penanaman dilakukan berulang kali pada awal penelitian dan memerlukan waktu yang cukup lama.

Pertumbuhan Tunas

Ubi kelapa

Pemunculan atau pertumbuhan tunas pada eksplan ditandai dengan adanya pembengkakan sampai terbentuknya gumpalan kecil yang berwarna hijau muda pada ketiak daun yang selanjutnya menjadi tunas baru. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setelah berulang kali tanam, diperoleh biakan yang steril dan munculnya tunas dimulai pada umur 2 MST, walaupun tidak berbeda nyata dengan kontrol (media MS). Jumlah tunas ubi kelapa tertinggi pada media MS dengan penambahan BA 5 mg/l, yaitu 14 tunas dari 100 eksplan yang ditanam. Pada 4 MST, terjadi penambahan tunas yang tumbuh (tiga tunas), sedangkan pada 6 MST dan 8 MST tidak ada penambahan tunas yang tumbuh sehingga total sampai 8 MST adalah 17 tunas (Tabel 1). Hasil penelitian Balachandran *et al.* (1990) menunjukkan bahwa



Gambar 1. *Browning* pada biakan ubi kelapa dan gembili.

sitokinin (BA atau kinetin) merupakan faktor kritis dalam pembentukan tunas yang terjadi juga pada per-banyakan berbagai tanaman obat dan tanaman hias (Mandang, 1993; Mariska dan Gati, 1995). BA termasuk dalam golongan sitokinin yang bermanfaat untuk per-tumbuhan tunas pada tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro*. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Supriati *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa BAP 5 mg/l mampu memacu pertumbuhan tunas tertinggi pada eksplan illes-iles secara *in vitro*.

Dalam kultur jaringan, respon yang muncul pada tanaman tergantung pada jenis tanaman, bagian tanaman, fase perkembangan, konsentrasi ZPT, interaksi antar hormon, dan berbagai faktor lingkungan (Salisbury dan Ross, 1992). Tunas ubi kelapa dari perlakuan MS + BA 5 mg/l selanjutnya dibiarkan tumbuh membentuk buku-buku baru selama 3 bulan yang selanjutnya dipotong-potong tiap satu buku dengan satu daun untuk ditanam pada media multiplikasi sehingga tunas yang digunakan untuk tahap kedua berasal dari media yang sama.

Gembili

Pertumbuhan tunas pada gembili ditunjukkan dengan munculnya tonjolan bakal tunas. Eksplan gembili sudah mampu berinisiasi pada umur 2 MST. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa hal ini umumnya mulai terjadi hampir di semua media pada

minggu kedua, kecuali pada media BA 5 mg/l + GA₃ 5 mg/l (Tabel 2). Dari Tabel 2 terlihat bahwa jumlah tunas gembili tertinggi pada media MS (kontrol), yaitu pada umur 2 MST dihasilkan 6 tunas dan pada 4 MST bertambah 3 tunas sehingga pada 8 MST total menjadi 9 tunas dari 100 eksplan yang ditanam.

Menurut George *et al.* (2008), media MS dengan kandungan total ion yang tinggi dapat mencukupi kebutuhan unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan biakan *in vitro*. Tunas gembili dari perlakuan MS selanjutnya dibiarkan tumbuh membentuk buku-buku baru selama 3 bulan yang selanjutnya dipotong-potong tiap satu buku dengan satu daun untuk ditanam pada media multiplikasi sehingga tunas yang digunakan untuk tahap ketiga berasal dari media yang sama.

Mutiplikasi Tunas

Ubi kelapa

Multiplikasi tunas ubi kelapa menggunakan media terbaik yang dapat memunculkan tunas, yaitu MS + BA 5 mg/l yang dikombinasikan dengan pemberian TDZ (0, 0,1, 0,5, 1, 2, dan 3 mg/l). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari sepuluh ulangan yang dicoba, tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan, baik pada tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah daun maupun jumlah buku pada umur 8 MST (Tabel 3).

Tabel 1. Jumlah biakan ubi kelapa yang membentuk tunas aksilar pada media MS yang diberi BA dan GA₃.

Perlakuan mg/l	Rerata jumlah tunas aksilar dari 100 eksplan yang ditanam pada setiap perlakuan				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	Total tunas
BA 1	9	4	1	0	14
BA 3	12	4	0	0	16
BA 5	14	3	0	0	17
GA ₃ 5	0	0	0	0	0
BA 1 + GA ₃ 5	6	1	0	0	7
BA 3 + GA ₃ 5	5	1	0	0	6
BA 5 + GA ₃ 5	7	4	0	0	11
Kontrol (MS)	10	2	1	0	13

Jumlah tunas yang tumbuh setelah 2 minggu merupakan pertambahan tunas yang tumbuh pada 4, 6, dan 8 MST.

Tabel 2. Jumlah biakan gembili yang membentuk tunas aksilar pada media MS yang diberi BA dan GA₃.

Perlakuan mg/l	Rerata jumlah tunas aksilar dari 100 eksplan yang ditanam pada setiap perlakuan				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	Total tunas
BA 1	1	1	2	0	4
BA 3	7	2	3	1	3
BA 5	2	3	1	2	8
GA ₃ 5	0	0	0	0	0
BA 1 + GA ₃ 5	0	0	0	0	0
BA 3 + GA ₃ 5	5	0	0	0	5
BA 5 + GA ₃ 5	0	1	0	0	1
Kontrol (MS)	6	3	0	0	9

Jumlah tunas yang tumbuh setelah 2 minggu merupakan pertambahan tunas yang tumbuh pada 4, 6, dan 8 MST.

Proses pembentukan tunas sangat ditentukan oleh kandungan mineral dalam media dasar yang digunakan. Media dasar MS telah banyak dilaporkan efektif digunakan dalam kultur jaringan (Jalaja *et al.*, 2008).

Hasil pengamatan multiplikasi tunas ubi kelapa pada umur 16 MST juga menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan untuk tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah buku rerata per eksplan (Tabel 3). Walaupun jumlah tunas masih sedikit, tiap buku/ruas dapat dipotong dan digunakan kembali sebagai propagul baru untuk selanjutnya dimultiplikasi kembali dan dibiarkan tumbuh selama 3–4 bulan untuk diberi perlakuan induksi perlakuan perakaran.

Gembili

Hasil pengamatan pada umur 6 MST menunjukkan bahwa untuk tinggi tunas dan jumlah tunas tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan, sedangkan untuk jumlah daun dan jumlah buku terdapat perbedaan nyata antar perlakuan (Tabel 4). Jumlah daun dan jumlah buku tertinggi pada 6 MST dicapai oleh perlakuan media MS yang dikombinasikan dengan TDZ 0,1 mg/l. Hal ini sesuai dengan pendapat Lu (1993) yang menyatakan bahwa senyawa TDZ dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar.

Pada pertumbuhan selanjutnya, yaitu umur 12 MST, terjadi perubahan. Media MS saja tanpa TDZ tampak lebih memacu pembentukan daun dan

jumlah buku per tanaman pada kultur gembili (Tabel 4). Hal ini kemungkinan disebabkan karena TDZ akan aktif memacu pertumbuhan apabila bersinergi dengan sitokinin lainnya (Lu, 1993; Nielsen *et al.*, 1993), sehingga apabila diberikan secara tunggal kurang berpengaruh terhadap multiplikasi tunas. Tabel 4 menunjukkan bahwa pada umur 12 MST pertumbuhan gembili tampak meroset pada media MS tanpa TDZ. Namun, dengan rerata jumlah tunas 1,4 dan jumlah buku 9,6, tiap buku/ruas dapat dipotong dan digunakan kembali dalam perbanyakan sebagai propagul untuk selanjutnya dimultiplikasi kembali menjadi 9 biakan baru.

Inisiasi dan Pertumbuhan Akar

Ubi kelapa

Hasil pengamatan perakaran ubi kelapa menunjukkan bahwa pada umur 4 MST biakan sudah mulai berinisiasi membentuk akar pada semua perlakuan, walaupun jumlah dan panjangnya tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa dengan media MS saja biakan sudah mampu membentuk akar karena auksin endogen dalam biakan tersebut sudah cukup untuk menginduksi terbentuknya akar. Demikian pula pada umur 8 MST, meskipun panjang akar tertinggi pada perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + IBA 1 mg/l, tetapi tidak berbeda nyata dengan kontrol. Perakaran ubi kelapa pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 2.

Tabel 3. Pertumbuhan biakan ubi kelapa pada media MS + BA 5 mg/l dengan lima taraf konsentrasi TDZ pada umur 8 MST dan 16 MST.

Perlakuan TDZ (mg/l)	Jumlah tunas aksilar		Tinggi tunas (cm)		Jumlah daun		Jumlah buku	
	8 MST	16 MST	8 MST	16 MST	8 MST	16 MST	8 MST	16 MST
TDZ 0	1,20	1,50	1,80	3,00	5,00	5,50	5,00	5,50
TDZ 0,1	1,25	1,50	1,37	3,07	2,00	3,75	2,00	3,75
TDZ 0,5	1,00	1,00	0,90	2,04	2,20	3,00	2,20	3,00
TDZ 1	1,00	1,20	1,50	2,60	1,50	2,80	1,50	2,80
TDZ 2	1,00	1,33	1,33	2,18	1,57	2,00	1,57	2,00
TDZ 3	1,00	1,33	1,20	2,75	2,00	3,33	2,00	3,33

Tabel 4. Pertumbuhan biakan gembili pada media MS + BA 5 mg/l dengan lima taraf konsentrasi TDZ pada umur 6 MST dan 12 MST.

Perlakuan TDZ (mg/l)	Jumlah tunas aksilar		Tinggi tunas (cm)		Jumlah daun		Jumlah buku	
	6 MST	12 MST	6 MST	12 MST	6 MST	12 MST	6 MST	12 MST
TDZ 0	1,00	1,40	0,86	2,60	5,80 ab	9,60 a	5,80 ab	9,60 a
TDZ 0,1	1,00	1,20	0,86	2,24	6,00 a	7,00 b	6,00 a	7,00 b
TDZ 0,5	1,00	1,00	0,82	2,42	3,20 bc	3,00 b	3,20 bc	3,00 b
TDZ 1	1,00	1,00	0,54	2,16	2,20 cd	2,20 b	2,20 cd	2,20 b
TDZ 2	1,00	1,00	0,50	1,70	2,00 cd	1,75 b	2,00 cd	1,75 b
TDZ 3	1,00	1,00	0,80	2,45	3,20 abc	1,75 b	3,20 abc	1,75 b

Angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

Gembili

Hasil pengamatan perakaran gembili menunjukkan bahwa pada umur 4 MST biakan gembili sudah mulai inisiasi membentuk akar pada media $\frac{1}{2}$ MS dan MS, serta pada $\frac{1}{2}$ MS + IBA 1 mg/l (Tabel 6).

Penambahan IBA pada media MS dengan konsentrasi 3 mg/l dan 5 mg/l justru menyebabkan pembentukan kalus pada pangkal biakan. Hal ini terjadi

kemungkinan karena terlalu tingginya konsentrasi IBA (sebagai auksin) sehingga menyebabkan terbentuknya kalus.

Dalam kultur jaringan tanaman, IBA dan auksin lain digunakan untuk inisiasi pembentukan akar secara *in vitro* dalam proses mikropropagasi (Bridgen *et al.*, 1992). Dalam hubungannya dengan sitokinin, seperti kinetin, auksin seperti IBA dapat digunakan

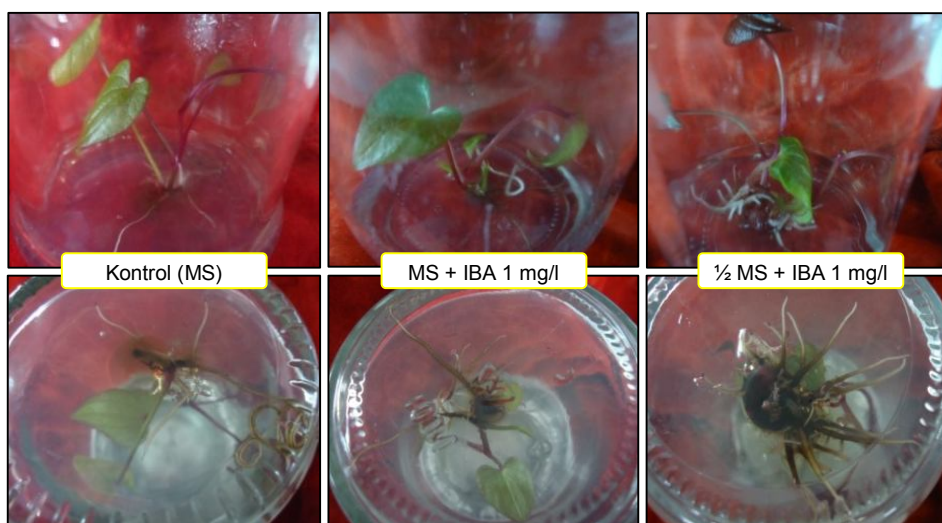
Tabel 5. Jumlah dan panjang akar ubi kelapa pada media MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) dengan tiga taraf konsentrasi IBA pada umur 4 MST dan 8 MST.

Perlakuan (mg/l)	4 MST		8 MST	
	Jumlah akar	Panjang akar (cm)	Jumlah akar	Panjang akar (cm)
$\frac{1}{2}$ MS	2,00	1,22	3,00	5,14 ab
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 1	3,40	1,22	4,40	9,68 a
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 3	0,67	1,11	1,33	0,42 b
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 5	0,50	1,11	1,33	0,67 b
MS + IBA 1	1,50	1,11	1,50	3,57 ab
MS + IBA 3	4,50	1,36	4,50	4,20 ab
MS + IBA 5	2,00	1,36	2,75	2,02 b
Kontrol (MS)	0,60	1,58	1,83	4,90 ab

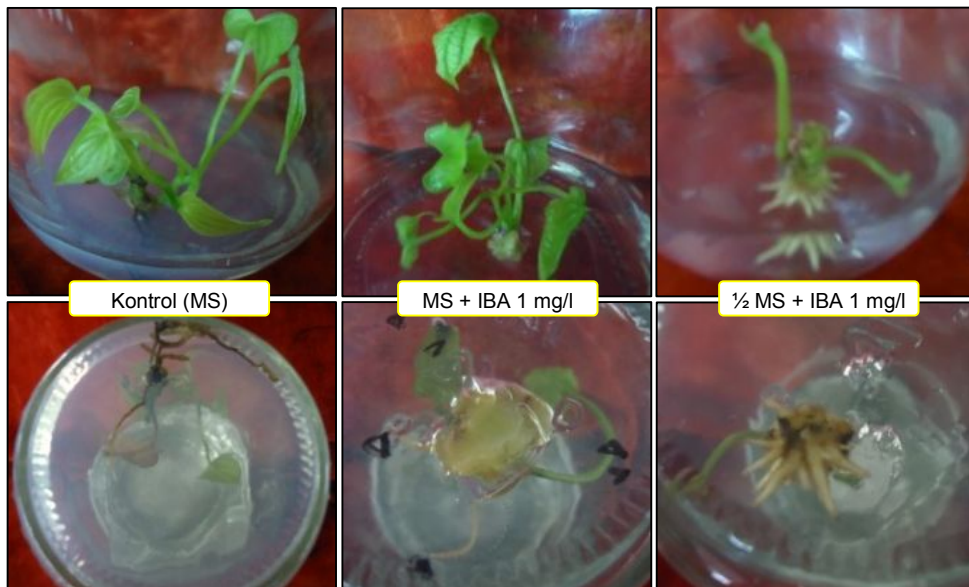
Angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

Tabel 6. Jumlah dan panjang akar gembili pada media MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) dengan tiga taraf konsentrasi IBA pada umur 4 MST dan 8 MST.

Perlakuan (mg/l)	4 MST		8 MST	
	Jumlah akar	Panjang akar (cm)	Jumlah akar	Panjang akar (cm)
$\frac{1}{2}$ MS	0,60	0,78	1,40	1,50
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 1	1,00	0,18	5,80	3,24
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 3	0	0	0,60	0,40
$\frac{1}{2}$ MS + IBA 5	0	0	0	0
MS + IBA 1	0	0	0	0
MS + IBA 3	0 (berkalus)	0	1,67	1,50
MS + IBA 5	0 (berkalus)	0	0,33	0,33
Kontrol (MS)	0,60	1,80	0,80	1,30



Gambar 2. Perakaran ubi kelapa pada media MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) yang diberi IBA 1 mg/l.



Gambar 3. Perakaran gembili pada media MS ($\frac{1}{2}$ MS dan 1 MS) yang diberi IBA 1 mg/l.

untuk menginduksi pembentukan massa sel yang belum terdiferensiasi/kalus. Menurut Zolman *et al.* (2008), perbedaan IBA dengan IAA terletak pada panjang rantai samping yang berisi dua kelompok CH_2 tambahan. IBA dapat dikonversi ke IAA dalam reaksi *peroxisome-dependent*, dan beberapa mutan respon IBA telah terbukti mengandung kerusakan enzim peroksisomal. Penggunaan IAA atau IBA yang berlebihan untuk perkecambahan tipe liar bibit *Arabidopsis thaliana* menghambat pemanjangan hipokotil (Strader *et al.*, 2011).

Pada umur 8 MST, penambahan IBA pada kultur juga tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar dan panjang akar gembili (Tabel 6). Perakaran gembili pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 3.

KESIMPULAN

Metode pembentukan planlet ubi kelapa dan gembili dapat dilakukan melalui kultur *in vitro* dengan menanam eksplan berupa potongan batang muda dengan satu mata tunas aksilar pada media MS. Inisiasi tunas dimulai pada 2 MST, sedangkan inisiasi akar pada 4 MST. Pemberian IBA (3–5 mg/l) hanya menyebabkan munculnya kalus pada pangkal tunas dan tidak dapat memacu munculnya akar pada gembili.

DAFTAR PUSTAKA

- Adil, W.H., Y. Supriati, I. Roostika, dan Hadiatmi. 2003. Peningkatan laju pertumbuhan tunas tanaman gadung (*Dioscorea hispida*) secara *in vitro*. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 22(1):66-70.
- Arnau, G., K. Abraham, M.N. Sheela, H. Chair, A. Sartie, and R. Asiedu. 2010. Chapter 4: Yams. p. 127-148. In J.E. Bradshaw (ed.) Handbook of Plant Breeding 7 (Root and Tuber Crops). Springer Science+Business Media, LLC. New York, USA.
- Balachandran, S.M., S.R. Bhat, and K.P.S. Chandel. 1990. *In vitro* clonal multiplication of turmeric (*Curcuma* spp.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Plant Cell Rep. 8:521-524.
- Bridgen, M.P., Z.H. Masood, and M. Spencer-Barreto. 1992. A laboratory exercise to demonstrate direct and indirect shoot organogenesis from leaves of *Torenia fournieri*. Horttechnology. p. 320-322.
- Fahmi, A. dan S.S. Antarlina. 2007. Ubi alabio: Sumber pangan baru dari lahan rawa. Sinar Tani, Edisi 24-30 Januari 2007, No. 3185 Tahun XXXVII. hlm. 19.
- French, B.R. 2006. Food plants of Papua New Guinea: A compendium. Revised edition. Privately published as an electronic book in pdf format. 38 West St., Burnie. Tasmania 7320, Australia. 424 p
- George, E.F. and G.J. de Klerk. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients. p. 65-113. In E.F. George, M.A. Hall, and G.J. De Klerk (eds.) Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd edition. Vol. 1, The Background. Springer Publisher. Dordrecht, Netherland.

- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Hand Book and Directory of Commercial Laboratories. Eastern Press. Reading, Berks, England. p. 49-548.
- Gunawan, L.W. 1996. Usaha peningkatan kadar diosgenin pada *Dioscorea* spp. dengan cara kultur *in vitro*. <http://web.ipb.ac.id/lppm/lppmipb/penelitian/hasilcari.php?status=buka&id.hasilit=562.527+TJO+u>. [2 Juni 2014].
- Hobir, D. Sukmadjaja, dan I. Mariska. 1992. Aplikasi kultur jaringan dalam produksi bibit pada beberapa tanaman industri. hlm. 51-62. *Dalam* I. Mariska, E. Karmawati, Hobir, N.N. Kristina, S.E. Syati, dan Sudarisman. Prosiding Forum Komunikasi Ilmiah Penelitian Aplikasi Bioteknologi Kultur Jaringan pada Tanaman Industri. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian. Bogor, 29 Februari 1992.
- Honda, H. and T. Kobayashi. 2004. Large-scale micro-propagation system of plant cells. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* 91:105-134.
- Jalaja, N.C., D. Neelamathi, and T.V. Sreenivasan. 2008. Micropropagation for Quality Seed Production in Sugarane in Asia and the Pacific. FAO, APCoAB, and APAARI. p. i-x + 46.
- Lerch, K. 1981. Tyrosinase kinetics: A semi-quantitative model of the mechanism of oxidation of onohydric and dihydric phenolic substrates. p. 143-186. *In* H. Sigel (ed.) *Metal Ions in Biology System*. 13 Marcel Dekker Inc. New York, Basel, USA.
- Lu, C.Y. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cell Dev. Biol.* 29:92-96.
- Mandang, J.P. 1993. Peranan air kelapa dalam kultur jaringan tanaman krisan. Tesis S2, Program Studi Agronomi dan Hortikultura, Sekolah Pascasarjana IPB. 113 hlm.
- Mariska, I. dan E. Gati. 1995. Pemanfaatan kultur jaringan dalam pelestarian dan produksi bibit tumbuhan obat. hlm. 125-132. *Dalam* D. Sitepu, Rosita SMD, Soediarso, Hernani H. Moko, dan Supriadi. Prosiding Forum Konsultasi Strategi dan Koordinasi Pengembangan Agroindustri Tanaman Obat Balitro. Bogor, 28-29 November 1995.
- Mikulik, J. 1999. Propagation of endangered plant species by tissue cultures. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultas Rerum Naturalium. Biologica* 37:27-33.
- Moshkov, I.E., G.V. Novikova, M.A. Hall, and E.F. George. 2008. Plant growth regulator III: Gibberellins, ethylene, abscisic acid, their analogues and inhibitors. p. 227-282. *In* E.F. George, M.A. Hall, and G.J. De Klark (eds.) *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd edition. Vol. 1, The Background. Springer Publisher. Dordrecht, Netherland.
- Nielsen, J.M., K. Brandt, and J. Hansen. 1993. Long term effects of thidiazuron are intermediate between benzyladenine, kinetin or isopentenyl adenine in *Micanthus sinensis*. *Plant Cell Tiss. Org.* 35:173-179.
- Salisbury, F. and C.W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth Publishing Co. Belmont, California, USA. 682 p.
- Strader, L.C., D.L. Wheeler, S.E. Christensen, J.C. Berens, J.D. Cohen, R.A. Rampey, and B. Bartel. 2011. Multiple facets of *Arabidopsis* seedling development require indole-3-butyric acid-derived auxin. *Plant Cell* 23:984-999.
- Supriati, Y., W.H. Adil, D. Sukmajaya, dan I. Mariska. 2002. Peningkatan multiplikasi tunas dan induksi akar tanaman iles-iles melalui kultur *in vitro*. hlm. 222-229. *Dalam* I. Mariska, I.H. Somantri, IM. Samudra, A.D. Ambarwati, J. Prasetyono, dan I.N. Orban. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Pangan.
- Zolman, B.K., N. Martinez, A. Millius, A.R. Adham, and B. Bartel. 2008. Identification and characterization of *Arabidopsis* indole-3-butyric acid response mutants defective in novel peroxisomal enzymes. *Genetics* 180:237-251.
-