



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERTUMBUHAN TUNAS APIKAL DAN AKSILAR KULTUR
IN VITRO UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) GENOTIPE
UBI KUNING**

SKRIPSI

**INAYATUR ROHMAH
0706263933**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JANUARI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERTUMBUHAN TUNAS APIKAL DAN AKSILAR KULTUR *IN VITRO*
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) GENOTIPE UBI KUNING**

SKRIPSI

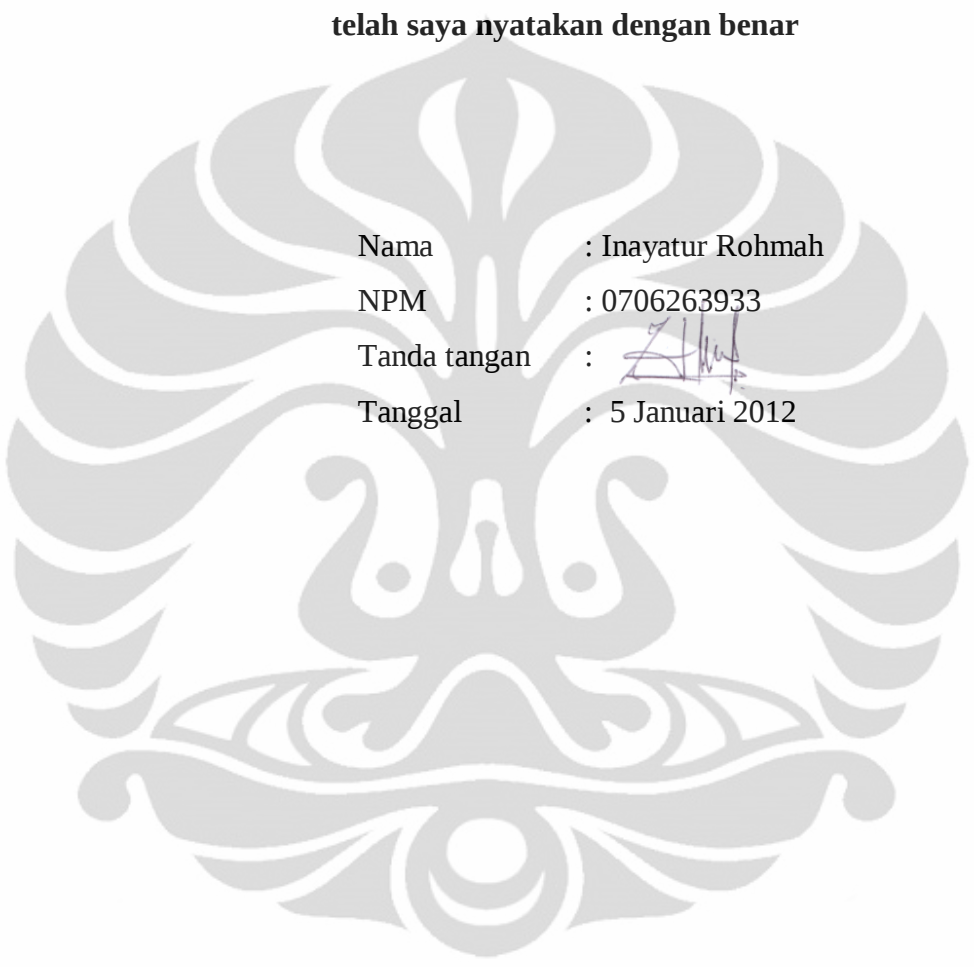
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

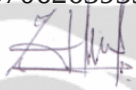
**INAYATUR ROHMAH
0706263933**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JANUARI 2012**

HALAMAN PERNYATAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**



Nama : Inayatur Rohmah
NPM : 0706263933
Tanda tangan : 
Tanggal : 5 Januari 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Inayatur Rohmah
NPM : 0706263933
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul Skripsi : Pertumbuhan tunas apikal dan aksilar kultur *in vitro*
ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe Ubi
Kuning.

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima
sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia**

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Dr. N. Sri Hartati	(.....)
Pembimbing II	: Dr. Nisyawati	(.....)
Penguji I	: Dr. Andi Salamah	(.....)
Penguji II	: Mega Atria, M.Si	(.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 5 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat, curahan kasih sayang dan petunjuk-Nya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam penulis sampaikan kepada junjungan kita, Rasulullah SAW, sang penyelamat dan pemberi petunjuk bagi kemaslahatan umat. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada orang-orang yang telah banyak berjasa selama penulisan skripsi ini, diantaranya:

1. Bapak dan Ibu tersayang, terima kasih atas curahan cinta, kasih sayang, pengertian, bimbingan, nasehat, doa, dan segalanya yang telah diberikan. Semoga ini merupakan langkah awal penulis untuk terus berjuang demi kebanggaan kalian.
2. Dr. N. Sri Hartati dan Dr. Nisyawati selaku pembimbing atas semua bimbingan, kesabaran, dukungan, doa, serta pengorbanan waktu dan pikiran selama penulis menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dr. Andi Salamah dan Mega Atria, M.Si atas kritik dan saran yang diberikan selama penulisan skripsi ini.
4. Dr.rer.nat Mufti P. Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI, Dra. Nining B. Prihantini, M. Sc. selaku Sekertaris Departemen Biologi FMIPA UI, beserta seluruh staf pengajar atas semua ilmu pengetahuan yang diberikan selama perkuliahan.
5. Prof. Dr. Enny Sudarmonowati yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biologi Molekuler 3, LIPI Cibinong
6. Mbak Asri, Bu Rus, dan seluruh staf karyawan Departemen Biologi FMIPA UI atas segala bantuan yang diberikan.
7. Mbak Wina, Mbak Mida, Mbak Hani, Mbak Patmi, Mbak Nina, Mbak Ima, dan Mas Toni selaku staf Laboratorium Biologi Molekuler 3, LIPI Cibinong yang telah banyak membantu penulis dalam melaksanakan penelitian di laboratorium baik waktu, tenaga maupun pikiran, juga kepada Pak Mawi yang telah banyak membantu penulis di lapangan.
8. Adik-adikku, Izza dan Azkiya yang telah memberikan pengertian dan canda selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

9. Tri Wahyudi yang telah memberikan masukan, dorongan moril, dan semangat terus menerus sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
10. Kepada rekan seperjuangan Ikrimah (Iik), Ratnameyda (Nana), Aulia, Adis, Desi, Dwi, Wahyu, dan Rio atas segala bantuan, motivasi, canda, serta kebersamaannya dalam suka dan duka.
11. Kepada sahabat tercinta Heny Emilia, Ika Maylia, Hikmah Yuliasari, Imas, Niscaya Riska Noviana, dan Zee untuk bantuan, pengertian, doa serta semangat yang terus mengiringi selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
12. Kepada semua kawan-kawan di keluarga besar Biologi angkatan 2007 (*Blossom*) atas semua dukungan dan jalinan pertemanan yang diberikan.

Pada akhirnya, penulis meminta maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan, baik yang disengaja maupun tidak yang telah dilakukan. Semoga skripsi yang telah dibuat ini dapat bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Inayatur Rohmah
NPM : 0706263933
Program Studi : S1 Reguler
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pertumbuhan tunas apikal dan aksilar kultur *in vitro* ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe Ubi Kuning.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 5 Januari 2012
Yang menyatakan



(Inayatur Rohmah)

ABSTRAK

Nama : Inayatur Rohmah
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul : Pertumbuhan Tunas Apikal dan Aksilar Kultur *in Vitro* Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Genotipe Ubi Kuning

Telah dilakukan penelitian multiplikasi tunas ubi kayu tinggi beta karoten genotipe Ubi Kuning secara kultur *in vitro* menggunakan dua tipe eksplan, yaitu nodus apikal dan empat nodus aksilar yang ditanam pada medium MS dengan penambahan $0,75 \text{ mg l}^{-1}$ BAP. Penelitian bertujuan untuk mengetahui nodus yang paling responsif terhadap media induksi tunas. Hasil uji Kruskal-Wallis dan analisis variansi (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan nyata ($\alpha=0,05$) antara perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) dengan rata-rata jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun. Hasil uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$) menunjukkan adanya perbedaan nyata di antara perlakuan nodus. Respon pertumbuhan yang paling cepat dan seragam terkait tinggi tunas, hari tumbuh tunas, jumlah daun, dan panjang daun ditunjukkan oleh nodus tengah, yaitu nodus aksilar 2 dan 3.

Kata kunci : BAP, Beta karoten, Kultur *in vitro*, *Manihot esculenta*, Tunas apikal dan aksilar.
xiii+83 hlm : 25 gambar; 3 tabel
Daftar referensi : 64 (1981--2011)

ABSTRACT

Name : Inayatur Rohmah
Program Study : Biology S1 Regular
Title : The Growth of Apical and Axillary Shoot of Cassava
(*Manihot esculenta* Crantz) Ubi Kuning Genotype *in Vitro*
Culture

Research on cassava shoot multiplication of high beta-carotene Ubi Kuning genotype *in vitro* culture has been done using two different types of explant sources i.e., apical and four axillary buds grow on MS medium containing 0,75 mg l⁻¹ BAP. The study aims to determine the most responsive node for shoot multiplication. The Kruskal-Wallis and ANOVA test showed that various of explants (Apical, Axillary 1, Axillary 2, Axillary 3, and Axillary 4) had significant different ($\alpha=0,05$) with average value of shoot number, shoot length, leaf number, and leaf length. The Duncan test showed that there was a significant different ($\alpha=0,05$) between various type of explants. The most rapid growth response that associated with shoot length, leaf number, and leaf length obtained from the 2nd and 3rd axillary buds.

Keywords : Apical and axillary shoot, BAP, Beta caroten, *in vitro* culture, *Manihot esculenta*.
xiii+83 pages : 25 pictures; 3 tables
Bibliography : 64 (1981--2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Deskripsi ubi kayu	4
2.2 Dominansi apikal	6
2.2.1 Hipotesis klasik regulasi auksin	7
2.2.2 Hipotesis transport auksin	9
2.2.3 Fase perkembangan tunas aksilar.....	10
2.2.4 <i>Feed back control</i> (mekanisme arus balik).....	10
2.3 Keseimbangan hormon auksin serta sitokinin.....	11
2.4 Teknik nodus tunggal.....	12
2.5 Kultur tunas apikal dan aksilar	13
2.6 Kultur <i>in vitro</i> ubi kayu.....	14
2.7 Faktor-faktor yang mempengaruhi kultur <i>in vitro</i>	15
2.7.1 Struktur dan kondisi fisiologis eksplan.....	15
2.7.2 Komposisi medium	16
2.7.3 Faktor lingkungan	17
3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Lokasi dan waktu penelitian	19
3.2 Alat	19
3.3 Bahan	19
3.3.1 Eksplan Penelitian.....	19
3.3.2 Bahan kimia dan habis pakai	20
3.4 Cara kerja	20
3.4.1 Pembuatan larutan stok.....	20
3.4.2 Pembuatan medium.....	21
3.4.3 Sterilisasi alat	22
3.4.4 Sterilisasi eksplan.....	22
3.4.5 Inisiasi tunas	23
3.4.6 Penanaman eksplan	24
3.4.7 Pemeliharaan kultur	25
3.4.8 Pengamatan kultur.....	25

3.4.8.1 Parameter kualitatif	25
3.4.8.2 Parameter kuantitatif	25
3.4.9 Analisis data	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Inisiasi tunas.....	27
4.2 Parameter kualitatif.....	29
4.3 Parameter kuantitatif.....	33
4.3.1 Jumlah tunas	35
4.3.2 Hari tumbuh tunas	39
4.3.3 Tinggi tunas	44
4.3.4 Jumlah daun.....	46
4.3.5 Panjang daun	48
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR REFERENSI	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.(1) Ubi Kuning.....	5
Gambar 2.1.(2) Umbi Ubi Kuning.....	6
Gambar 2.2 Mekanisme dominansi apikal.....	7
Gambar 2.2.1 Transport hormon auksin dan sitokinin	8
Gambar 2.2.2 Skema (a) gen MAX dan (b) gen <i>max</i> mutan meregulasi transport auksin	9
Gambar 2.3 Perbedaan respon pertumbuhan terhadap rasio hormon auksin dan sitokinin pada kalus tembakau secara kultur <i>in vitro</i>	12
Gambar 3.4.5 Mekanisme inisiasi tunas ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media MS0.....	24
Gambar 4.1.(1) Tunas ubi kayu genotipe Ubi Kuning hasil inisiasi pada medium MS0.....	27
Gambar 4.1.(2) Nodus tunggal ubi kayu genotipe Ubi Kuning sebagai variabel penelitian	28
Gambar 4.2.(1) Warna daun pada tunas (a) 4 MST, dan (b) 6 MST.	30
Gambar 4.2.(2) Jenis kontaminan pada kultur ubi kayu genotipe Ubi Kuning (a) jamur dan (b) bakteri.	31
Gambar 4.2.(3) Kalus pada eksplan (a) apikal dan (b) aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning.....	33
Gambar 4.3.1(1) Diagram perbandingan jumlah tunas per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.....	36
Gambar 4.3.1.(2) Tunas nodus apikal ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan satu tunas. (→ : tunas)	37

Gambar 4.3.1.(3)	Tunas nodus aksilar 1 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) satu tunas dan (b) dua tunas. (→ : tunas).....	37
Gambar 4.3.1.(4)	Tunas nodus aksilar 2 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas dan (b) tiga tunas. (→ : tunas).....	38
Gambar 4.3.1.(5)	Tunas nodus aksilar 3 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas dan (b) tiga tunas.	38
Gambar 4.3.1.(6)	Tunas nodus aksilar 4 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas, (b) tiga tunas, dan (b) empat tunas. (→ : tunas).....	39
Gambar 4.3.2(1)	Grafik pertumbuhan tunas majemuk eksplan nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	42
Gambar 4.3.2.(2)	Pertumbuhan tunas eksplan nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST.....	43
Gambar 4.3.3.(1)	Cara penghitungan tinggi tunas pada eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning.....	44
Gambar 4.3.3.(2)	Diagram perbandingan tinggi tunas per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.	45
Gambar 4.3.4	Perbandingan jumlah daun per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.....	47
Gambar 4.3.5.(1)	Diagram perbandingan panjang daun per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.	49
Gambar 4.3.5.(2)	Variasi panjang daun pada tunas nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pada akhir 4 MST.	48
Gambar 4.1.(3)	Diagram perbandingan pertumbuhan eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.	50

DAFTAR TABEL

Tabel 3.4.1	Komposisi bahan dasar dan bahan tambahan untuk larutan stok medium Murashige-Skoog (MS) 1962 modifikasi.....	21
Tabel 4.3.(1)	Persentase eksplan bertunas pada kultur <i>in vitro</i> ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.....	34
Tabel 4.3.(2)	Hasil analisis statistik parameter kuantitatif (jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun) eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Metheun handbook of colour</i>	59
Lampiran 2	Respon hari tumbuh tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pad aakhir 4 MST	60
Lampiran 3	Respon hari tumbuh tunas majemuk eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pad aakhir 4 MST	60
Lampiran 4	Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	62
Lampiran 5	Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	64
Lampiran 6	Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST (Hasil transformasi data)	67
Lampiran 7	Uji homogenitas Levene terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST (Hasil transformasi data)	70
Lampiran 8	Uji Kruskal-Wallis terhadap data jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	71
Lampiran 9	Uji ANOVA terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	74
Lampiran 10	Uji Duncan terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST	75
Lampiran 11	Data pengamatan pertumbuhan nodus apikal ubi kayu genotipe Ubi Kuning	79
Lampiran 12	Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 1 ubi kayu genotipe Ubi Kuning	80
Lampiran 13	Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 2 ubi kayu genotipe Ubi Kuning	81
Lampiran 14	Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 3 ubi kayu genotipe Ubi Kuning	82
Lampiran 15	Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 4 ubi kayu genotipe Ubi Kuning	83

BAB 1

PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki banyak manfaat bagi manusia, di antaranya sebagai bahan baku industri pangan (Aduwo *dkk.* 2010: 2; Tribadi *dkk.* 2010: 2) dan sumber energi alternatif dalam bentuk bioetanol (Puteri 2009: 20; Ranola *dkk.* 2009: 147). Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong sedang melakukan perbanyakan bibit dari beberapa genotipe unggul tinggi beta karoten, salah satu diantaranya adalah Ubi Kuning. Beta karoten merupakan prekursor vitamin A. Vitamin A sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan, reproduksi, kesehatan kulit, membran mukosa dan kesehatan mata yaitu berhubungan dengan penglihatan (Ambrosio *dkk.* 2011: 63). Beberapa penelitian dalam bidang kesehatan menunjukkan adanya kasus defisiensi vitamin A yang membahayakan seperti yang ditemukan di Indonesia. Penanganan kasus kekurangan vitamin A yang dilakukan adalah pemberian kapsul vitamin A dosis tinggi (Atmarita 2005: 6&7). Program pemberian kapsul vitamin A dosis tinggi masih diperlukan evaluasi efektifitasnya. Berdasarkan hal tersebut maka akan sangat menguntungkan jika tersedia bahan pangan alami yang memiliki beta karoten tinggi seperti ubi kayu.

Bibit ubi kayu umumnya banyak diperoleh dari perbanyakan vegetatif secara stek dibandingkan dengan perbanyakan generatif. Hal tersebut dikarenakan biji ubi kayu memiliki pertumbuhan yang sangat lambat dan seringkali mengalami dormansi (Beyene 2009: 2). Menurut Konan *dkk.* (1997: 444), melalui perbanyakan vegetatif secara stek, satu tanaman ubi kayu dewasa berumur sekitar 8 bulan dapat menghasilkan sekitar 10--30 bahan tanam setiap tahunnya. Meskipun demikian, penyediaan bibit ubi kayu yang diperbanyak menggunakan stek masih terhambat oleh ketergantungan terhadap musim, ancaman infeksi penyakit (Acedo & Labana 2008: 109), serta turunnya daya tumbuh saat bibit disimpan dalam jangka waktu yang lama (Effendi 2002: 1; Roja 2009: 8).

Strategi untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan menggunakan teknologi modern yang dapat menunjang ketersediaan produksi bibit ubi kayu

secara kontinyu, yaitu melalui teknik mikropropagasi secara kultur *in vitro* (Santana dkk. 2009: 3790). Pembudidayaan ubi kayu melalui teknik kultur *in vitro* memberikan peluang untuk melakukan perbanyakan secara massal dan menghindari resiko bibit terkena penyakit. Selain itu, mikropropagasi ubi kayu melalui kultur *in vitro* juga bermanfaat bagi pemenuhan ketersediaan bibit sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim serta terjaganya kualitas bibit selama masa penyimpanan (George dkk. 2008: 30).

Penelitian kultur *in vitro* ubi kayu telah banyak dilakukan pada berbagai genotipe namun belum dilakukan untuk genotipe Ubi Kuning. Kultur *in vitro* ubi kayu menggunakan teknik nodus tunggal pertama kali dilakukan oleh Mayer & van Staden (1986) menggunakan medium Murashige-Skoog, (1986) (MS) dengan penambahan $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ Benziladenin (BA) dan $0,02 \text{ mg l}^{-1}$ Naftalenasetat (NAA) (Bajaj 1997: 81). Selanjutnya Konan dkk. (1997: 445) menggunakan nodus tunggal dari tunas aksilar yang ditanam pada medium MS untuk mengujikan jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) terbaik untuk multiplikasi tunas ubi kayu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium MS dengan penambahan BAP dapat menghasilkan tunas yang lebih banyak. Terkait dengan penggunaan BAP dalam medium kultur ubi kayu, penelitian Sudarmonowati dkk. (2002: 5) telah mengujikan 2 mg l^{-1} BAP terhadap 12 genotipe berbeda dan multiplikasi tunas tertinggi ditunjukkan oleh Mentega sebesar 3,19. Onuoch & Onwubiku (2007: 1230) serta Fauzi (2010: 25) juga telah mengujikan penggunaan BAP dengan konsentrasi yang bervariasi dalam medium MS pada kultur *in vitro* ubi kayu. Onuoch & Onwubiku (2007: 1230) menyebutkan bahwa multiplikasi tertinggi yang dapat diperoleh adalah 4,71, sedangkan Fauzi (2010: 27) menyebutkan multiplikasi tertinggi yang dapat diperoleh adalah 1,16.

Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, mikropropagasi ubi kayu menggunakan teknik nodus tunggal dilakukan untuk meningkatkan laju multiplikasi tunas per eksplan. Namun demikian, hasil penelitian yang diperoleh hingga saat ini masih berfluktuasi dan laju multiplikasi yang dihasilkan masih rendah. Sudarmonowati dkk. (2002: 7--8) menyatakan bahwa hal tersebut disebabkan oleh tingkat keseragaman eksplan yang masih rendah. Kondisi demikian terjadi karena pada penelitian terdahulu, faktor eksplan belum

digunakan sebagai variabel penelitian. Oleh karena itu, pada penelitian ini, faktor eksplan diseragamkan dan dijadikan variabel penelitian untuk mendapatkan sumber eksplan yang paling responsif, sehingga dapat meningkatkan multiplikasi tunas ubi kayu secara optimal.

Penelitian pendahuluan telah dilakukan untuk memperoleh tunas apikal dan aksilar steril Ubi Kuning sebagai sumber eksplan. Tanaman donor berupa pucuk dengan empat nodus aksilar berumur 4 bulan disterilisasi dan ditumbuhkan dalam medium MS tanpa ZPT (MS0) untuk inisiasi tunas. Tunas steril yang didapatkan rata-rata menghasilkan satu tunas apikal dan empat nodus aksilar pada kultur generasi pertama. Selanjutnya, penelitian lain juga telah dilakukan oleh Laboratorium Molekular Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong. Penelitian tersebut mengujikan medium MS dengan variasi BAP terhadap genotipe Roti dan memberikan hasil terbaik pada konsentrasi $0,75 \text{ mg l}^{-1}$ BAP.

Berdasarkan penelitian pendahuluan, eksplan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah nodus apikal dan empat nodus aksilar dengan panjang internodus 0,5--1,5 cm yang telah diketahui masing-masing letaknya, kemudian diamati pertumbuhannya pada medium MS dengan penambahan $0,75 \text{ mg l}^{-1}$ BAP. Penelitian dilakukan untuk mengetahui nodus yang paling responsif terhadap medium MS dengan penambahan $0,75 \text{ mg l}^{-1}$ BAP dalam meningkatkan multiplikasi tunas Ubi Kuning. Hipotesis penelitian yaitu nodus aksilar ke-3 yang merupakan nodus tengah adalah nodus yang paling responsif terhadap media induksi tunas.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi ubi kayu

Ubi kayu berasal dari daerah Amerika Selatan dan disebarkan oleh suku Indian ke seluruh wilayah Amerika (Oliveira *dkk.* 2010: 148). Tanaman ubi kayu kemudian menyebar ke Afrika Timur dan India pada abad ke XVII. Ubi kayu dikenal dengan berbagai nama seperti Manioc (Amerika Selatan), Yuca (Spanyol), Cassava (Inggris), dan Mandioca (Portugis). Penyebaran ubi kayu di Indonesia dimulai pada tahun 1850 yang dibawa oleh para pedagang Portugis dan tersebar meliputi pulau Jawa, Sumatera, dan Nusa Tenggara (Purwono dan Purnamawati 2007: 55). Di Indonesia, ubi kayu dikenal dengan sebutan kaspe, ubi kayu, singkong, budin, sampeu, dan tapioka. Genotipe ubi kayu unggul yang biasa ditanam antara lain, yaitu Adira 1, Adira 2, Adira 4, Darul Hidayah, Malang 1, Malang 2, Malang 4, Malang 6, UJ 3, dan UJ 5 serta beberapa genotipe lokal, yaitu Mentega, Manggis, Wungu, Mangler, Roti, Odang, Jinggul, Batang seloak, dan Faroka (Purwono dan Purnamawati 2007: 58).

Ubi kayu merupakan perdu menahun yang termasuk famili Euphorbiaceae dan genus *Manihot*. Genus *Manihot* terdiri atas 100 spesies, namun spesies yang diolah secara komersial hanyalah *Manihot esculenta* Crantz (Alves 2002: 67). Setiap bagian dari tanaman ubi kayu dapat dimanfaatkan, namun umbi akar pada ubi kayu merupakan produk utama dari ubi kayu. Daging umbi tersebut terbentuk dari pembesaran sekunder akar adventif (Purwono dan Purnamawati 2007: 58).

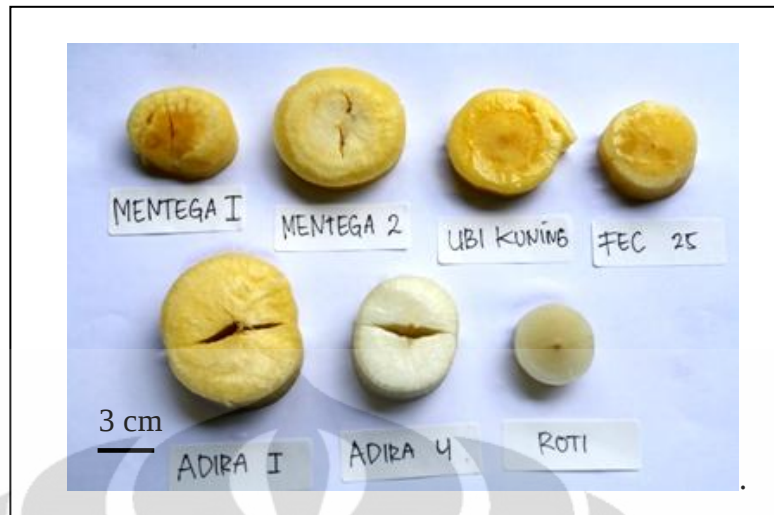
Secara umum, ubi kayu memiliki daun yang menjari, batang berbuku-buku, dan memiliki tinggi sekitar 1--4 meter tergantung usianya (Purwono dan Purnamawati 2007: 58). Batang ubi kayu merupakan sumber utama untuk memperbanyak vegetatif (Ekanayake *dkk.* 1997: 2; Kang & Priadarshan 2007: 367). Stek batang akan mulai bertunas dan berakar dalam waktu satu minggu sejak penanaman (Ekanayake *dkk.* 1997: 2). Batang dewasa berbentuk silinder, berkayu, dan tersusun dari nodus serta internodus. Adapun tipe pertumbuhan dari ubi kayu, yaitu tipe tegak lurus (monopodial) dengan cabang atau tanpa cabang di pucuk dan tipe menyebar (simpodial). Tanaman ubi kayu dengan percabangan

simpodial memiliki cabang utama yang terbagi menjadi dua, tiga, atau empat cabang yang akan menghasilkan cabang sekunder lainnya (Alves 2002: 67).



Gambar 2.1.(1) Ubi Kuning

Ubi Kuning merupakan genotipe ubi kayu tinggi beta karoten yang berasal dari daerah Nusa Tenggara. Batang Ubi Kuning cenderung memiliki diameter kecil, yaitu 1--2 cm dan tinggi sekitar 1 meter saat berumur 8 bulan. Secara umum, tipe percabangan dari Ubi Kuning adalah tegak lurus dengan cabang pada pucuk (Gambar 2.1.(1)). Ciri khas yang dimiliki oleh Ubi Kuning adalah warna umbi yang berwarna kuning terang dibandingkan dengan umbi dari ubi kayu genotipe lain (Gambar 2.1.(2))



Gambar 2.1.(2) Ubi Ubi Kuning

2.2 Dominansi apikal

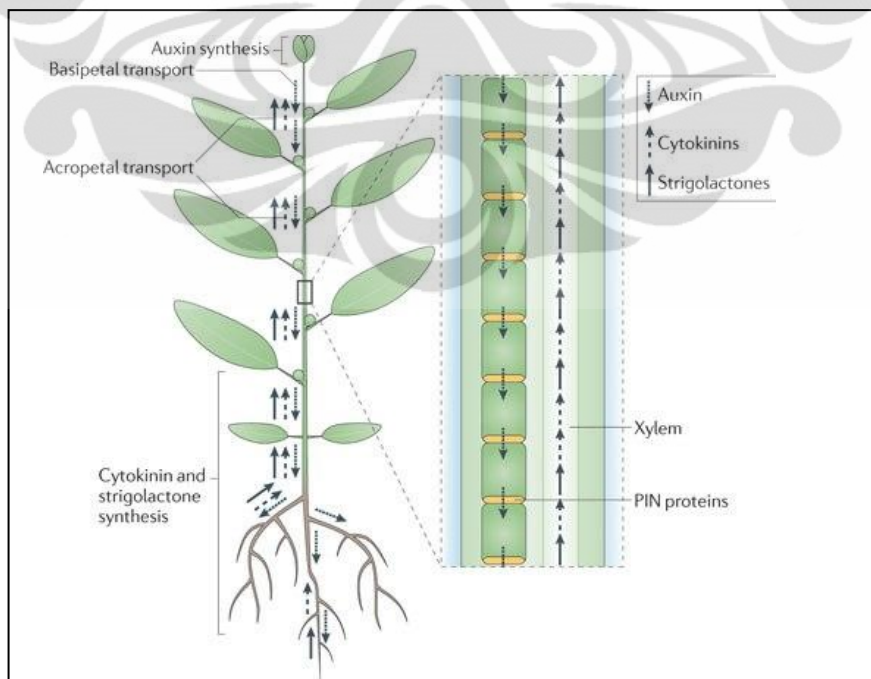
Dominansi apikal merupakan istilah yang menjelaskan tentang mekanisme tunas apikal menghambat pertumbuhan tunas-tunas aksilar. Fenomena dominansi apikal merupakan suatu proses kompleks yang melibatkan banyak faktor, baik faktor genetik, lingkungan, dan hormon (Srivasta 2001: 318). Beberapa spesies menunjukkan dominansi apikal yang kuat, termasuk ubi kayu. Batang ubi kayu dapat tumbuh setinggi 4 meter tanpa atau memiliki sedikit percabangan dalam kondisi alami ataupun kultur *in vitro* (Hillocks *dkk.* 2002: 68). Ubi Kuning merupakan salah satu contoh genotipe ubi kayu yang memiliki dominansi apikal kuat baik di alam maupun dalam kultur *in vitro*.

Menurut Prusinkiewicz *dkk.* (2006: 699), hipotesis tentang mekanisme dominansi apikal didasarkan pada kompetisi nutrisi antara pusat-pusat pertumbuhan. Berdasarkan hipotesis tersebut, nutrisi akan cenderung dibawa menuju tunas apikal yang mengakibatkan defisiensi nutrisi pada tunas aksilar. Selanjutnya Dun *dkk.* (2006: 818) juga menyebutkan hipotesis lain bahwa mekanisme dominansi apikal terjadi karena adanya hipotesis klasik hormon auksin yang meregulasi percabangan, hipotesis transport auksin, dan fase perkembangan dari tunas aksilar yang akan dibahas satu persatu (Gambar 2.2) .

RMS (gen yang mengontrol sintesis strigolakton) yang kemudian transkripsi gen tersebut akan menurun jika dilakukan dekapitasi atau pemotongan tunas pucuk sehingga suplai auksin pada batang berkurang (Dun *dkk.* 2006: 813).

Meningkatnya konsentrasi auksin akan meningkatkan konsentrasi strigolakton yang mengakibatkan terhambatnya tunas aksilar, sehingga dominansi apikal akan terus dipertahankan.

Sebaliknya, sitokinin merupakan faktor yang memicu pertumbuhan tunas aksilar yang keberadaannya juga dipengaruhi oleh keberadaan auksin. Seperti yang telah dinyatakan oleh Dun *dkk.* (2006: 812), perlakuan dekapitasi (pengurangan konsentrasi auksin) pada *P. sativum* mampu meningkatkan konsentrasi sitokinin pada batang utama dan tunas aksilar. Peningkatan konsentrasi sitokinin terjadi pada batang utama diikuti dengan peningkatan konsentrasi sitokinin pada tunas aksilar. Hal tersebut menunjukkan bahwa menurunnya konsentrasi auksin melalui dekapitasi dapat meningkatkan konsentrasi transport sitokinin secara akropetal dari bagian akar menuju batang utama yang kemudian ditransport menuju tunas aksilar sehingga dapat menginduksi pertumbuhan tunas aksilar.



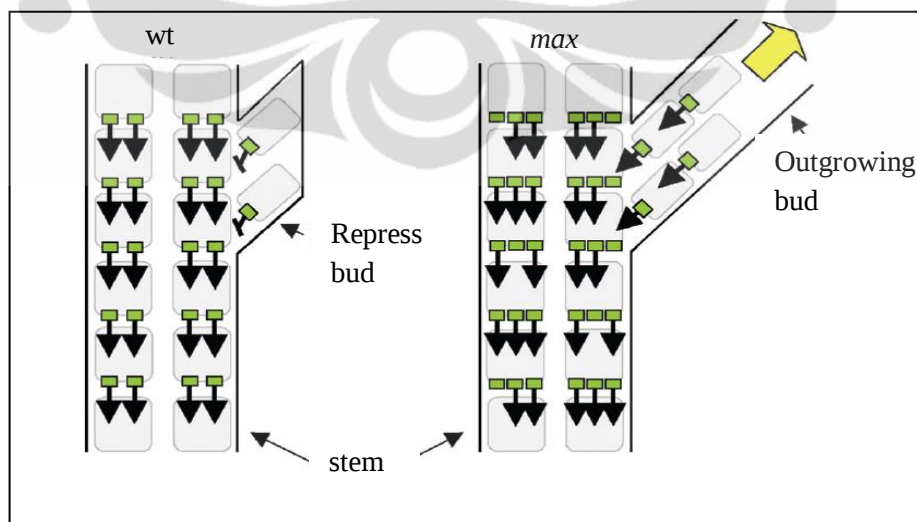
Gambar 2.2.1 Transport hormon auksin dan sitokinin

[Sumber: Domagalska & Leyser 2011: 1]

2.2.2 Hipotesis transport auksin

Hipotesis transport auksin didasarkan pada teori yang menyatakan bahwa pertumbuhan tunas aksilar diregulasi oleh transport auksin dari pucuk ke batang utama secara basipetal. Berdasarkan teori tersebut, transport auksin dari tunas aksilar ke batang utama dibutuhkan untuk menginisiasi pertumbuhan tunas. Auksin akan ditransport menuju batang utama melalui protein yang disebut sebagai PIN protein. Tanaman yang memiliki dominansi apikal kuat, diduga bahwa transport auksin dari apikal menuju batang utama sangat penuh sehingga auksin pada tunas aksilar tidak dapat ditransport menuju batang utama yang mengakibatkan pertumbuhan tunas aksilar terhambat (Dun *dkk.* 2006: 814).

Selanjutnya, Ongaro & Leyser (2007: 70) menyatakan bahwa gen MAX juga meregulasi transport auksin pada batang utama, terutama dalam regulasi jumlah PIN-formed (PIN) protein. Pada kondisi normal (*wild type*), jumlah PIN protein pada batang utama sangat terbatas untuk transportasi auksin dari apikal. Selanjutnya, gen *max* mutan mengakibatkan PIN protein dan faktor lain yang berperan dalam transport auksin menjadi terakumulasi pada batang utama. Kondisi tersebut memungkinkan tunas aksilar melakukan transport auksin dari meristem aksilar menuju batang utama sehingga percabangan dapat terjadi (Gambar 2.2.2) (Ongaro & Leyser 2007: 70--71).



Gambar 2.2.2 Skema (a) gen MAX dan (b) gen *max* mutan meregulasi transport auksin

[Sumber: Ongaro & Leyser 2007: 70]

2.2.3 Fase perkembangan tunas aksilar

Hipotesis fase perkembangan tunas aksilar terkait dengan perkembangan tunas yang mencakup tiga fase, yaitu dormansi, transisi, dan fase pertumbuhan. Fase dormansi merupakan fase dimana tunas aksilar memiliki kemampuan yang sangat rendah untuk menumbuhkan tunas. Fase transisi merupakan fase tunas aksilar yang lebih responsif terhadap sinyal pertumbuhan dibandingkan dengan fase dormansi. Dun *dkk.* (2006: 816) menyebutkan bahwa perbedaan fase perkembangan tunas aksilar disebabkan oleh banyak faktor, diantaranya letak nodus tempat tunas aksilar tumbuh, umur nodus, genotipe, cahaya, suhu, dan fotoperiodisitas. Lebih lanjut George *dkk.* (2008: 378) menyatakan bahwa letak nodus pada tanaman induk mengindikasikan perbedaan umur eksplan sehingga respon pertumbuhan yang dihasilkan akan berbeda.

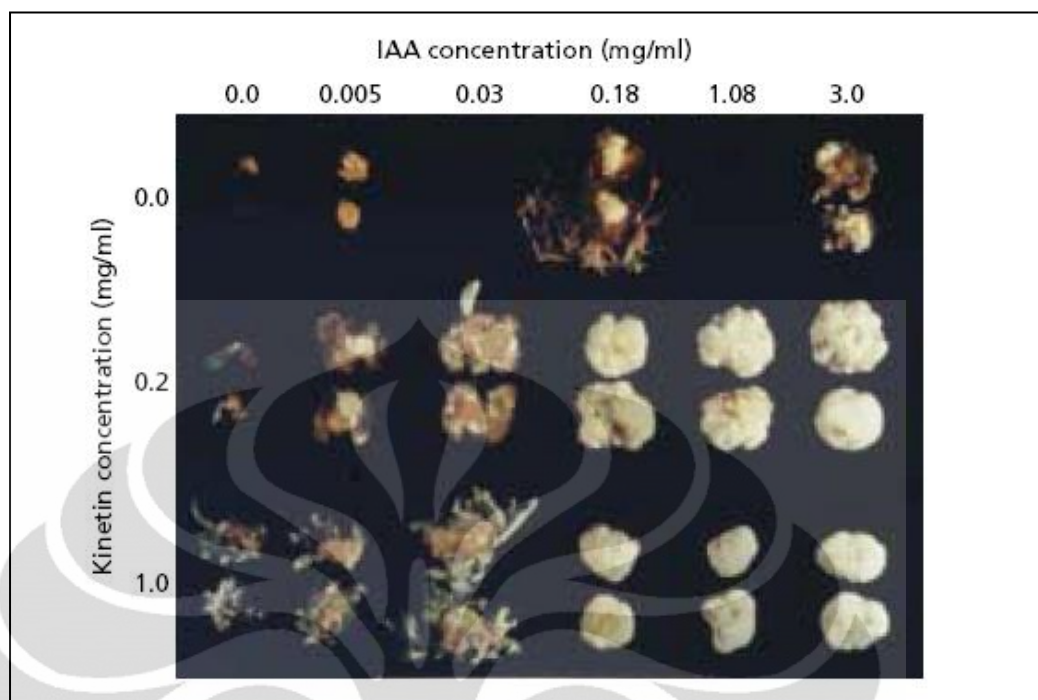
2.2.4 *Feed back control* (mekanisme arus balik)

Mekanisme *feed back control* diperlukan untuk menjaga homeostasis atau keseimbangan pada sistem pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Mekanisme *feed back control* melibatkan auksin, sitokinin, dan faktor SMS (strigolakton). Pertumbuhan tunas aksilar harus diseimbangkan dengan pertumbuhan tunas-tunas lainnya. Tunas aksilar yang tumbuh, telah mampu melakukan transport auksin dari tunas aksilar menuju batang utama. Auksin tersebut kemudian menginduksi sintesis strigolakton untuk menghambat pertumbuhan tunas lainnya. Seperti pada tanaman *P. sativum* yang menunjukkan bahwa setelah percabangan tumbuh, ekspresi gen yang menyintesis strigolakton akan meningkat. Mekanisme *feed back control* juga terjadi pada *Arabidopsis* yang ditunjukkan dengan kembali menurunnya konsentrasi sitokinin dalam xilem setelah terjadi percabangan pada tanaman mutasi gen *max* (Dun *dkk.* 2006: 817).

2.3 Keseimbangan hormon auksin serta sitokinin

Keseimbangan rasio antara hormon auksin serta sitokinin diperlukan untuk pertumbuhan tunas. George *dkk.* (2008: 184) menyatakan bahwa rasio dari auksin dan sitokinin memberikan pengaruh terhadap berbagai fase pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman, terutama dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel. Peran auksin dan sitokinin dalam pertumbuhan ditunjukkan oleh Nagarathna *dkk.* (2010: 87) pada penelitian terhadap *Helianthus annuus*. Pada awal penelitian, pengukuran konsentrasi hormon auksin dan sitokinin dilakukan pada semua nodus aksilar untuk mengetahui translokasi masing-masing hormon tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi auksin akan semakin berkurang pada nodus aksilar yang jauh dari pucuk, sebaliknya konsentrasi sitokinin semakin meningkat pada nodus aksilar yang jauh dari pucuk.

Pada tahap selanjutnya, Nagarathna *dkk.* (2010: 90) melakukan dekapitasi pada tunas apikal *H. annuus*. Hasil penelitian menyebutkan bahwa nodus aksilar yang paling bawah menunjukkan pertumbuhan yang cepat dibanding nodus aksilar lain di atasnya karena konsentrasi auksin yang rendah dan sitokinin yang tinggi pada nodus aksilar bagian bawah. Hal tersebut menunjukkan bahwa keseimbangan antara hormon auksin dan sitokinin diperlukan untuk memacu pertumbuhan tunas. Lebih lanjut Taiz & Zeiger (2002: 504) juga telah menyatakan bahwa rasio keseimbangan antara hormon auksin dan sitokinin di dalam tanaman mampu mempengaruhi pertumbuhan tunas. Konsentrasi auksin yang rendah dengan sitokinin yang tinggi mampu menginduksi pertumbuhan tunas. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi auksin pertumbuhan tunas akan terhambat (Gambar 2.3).



Gambar 2. 3 Perbedaan respon pertumbuhan terhadap rasio hormon auksin dan sitokinin pada kalus tembakau secara kultur *in vitro*.

[Sumber: Taiz & Zeiger 2002: 505]

2.4 Teknik nodus tunggal

Menurut George *dkk.* (2008: 40), teknik nodus tunggal adalah salah satu teknik mikropropagasi secara kultur *in vitro* yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman menggunakan nodus batang tanpa daun sebagai eksplan, dimana pada setiap nodus terdapat calon tunas. Calon tunas tersebut dapat dirangsang untuk tumbuh dengan mematahkan dominansi apikal. Pematangan dominansi apikal dapat dilakukan dengan cara menghilangkan tunas apikal dan pemberian sitokinin eksogen.

Penelitian kultur *in vitro* dengan teknik nodus tunggal telah banyak dilakukan pada berbagai spesies tanaman. Beberapa contoh yaitu pada *Gigantochloa apus* (Prasetyaningtyas 2005: 16), *Saccharum officinarum* (Cheema & Hussain 2004: 256), dan *Tectona grandis* L. (Mendoza de Gyves *dkk.* 2007: 74). Teknik nodus tunggal pada tanaman ubi kayu antara lain telah dilakukan oleh Konan (1997:

445), Sudarmonowati *dkk.* (2002: 4), Onuoch & Onwubiku (2007: 1229), dan Fauzi (2010: 16).

Penelitian teknik nodus tunggal pada tanaman ubi kayu menunjukkan hasil yang fluktuatif. Hal tersebut juga dikemukakan Fauzi (2010: 31) yang menyebutkan bahwa dalam setiap ulangan percobaan, eksplan tidak memberikan respon yang seragam terhadap ZPT yang diberikan dalam hal jumlah tunas yang dihasilkan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh posisi nodus pada tunas aksilar. Berdasarkan pengamatan, Fauzi (2010: 31) menyebutkan bahwa nodus yang paling responsif adalah nodus ke 2--4 dari pucuk. Hal yang serupa juga disebutkan oleh Cheema & Hussain (2004: 258) bahwa perbedaan respon pada eksplan disebabkan karena beberapa hal, antara lain yaitu ukuran eksplan, umur eksplan, jumlah hormon endogen yang dimiliki eksplan, dan posisi eksplan pada tanaman induk.

Terkait dengan posisi eksplan, penelitian teknik nodus tunggal yang memperhatikan posisi eksplan berupa letak nodus pada tanaman telah dilakukan oleh Prasetyaningtyas (2005: 16) pada *G. apus*. Nodus ke-2 dan ke-3 dari anak ranting tanaman *G. apus* ditanam menggunakan medium MS yang ditambahkan dengan 5 mg l⁻¹ kinetin dan 7,5 BAP mg l⁻¹. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nodus ke-3 menunjukkan persentase pertumbuhan tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan nodus ke-2, yaitu 78,9% (Prasetyaningtyas 2005: 24).

2.5 Kultur tunas apikal dan aksilar

Kultur tunas apikal dan aksilar sudah banyak dilakukan pada berbagai jenis tanaman. Anis *dkk.* (2003: 48) mengujikan tunas apikal dan aksilar dari *Morus alba*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas aksilar menghasilkan tunas lebih banyak dan lebih responsif dibandingkan dengan tunas apikal. Hal serupa juga ditegaskan oleh Riyadi & Tahardi (2009: 36) pada mikropopagasi tanaman *Cinchona ledgeriana* Moens dan Zulfiqar (2009: 2336) pada mikropopagasi *Persea americana* M.

Meski demikian, berdasarkan penelitian Zulfiqar (2009: 2338) panjang tunas yang dihasilkan oleh tunas apikal pada mikropopagasi *P. americana* M. lebih

panjang dibandingkan dengan tunas aksilar. Menurut Prusinkiewicz *dkk.* (2006: 699), hal tersebut dikarenakan hormon endogen pada tanaman tersebar dengan jumlah berbeda dalam setiap bagian tanaman. Tunas apikal memiliki kadar hormon auksin yang lebih banyak dibandingkan tunas aksilar, sehingga akan mempengaruhi proses elongasi dari tunas yang dihasilkan.

2.6 Kultur *in vitro* ubi kayu

Penelitian kultur *in vitro* ubi kayu pertama kali dilakukan oleh Kartha *dkk.* (1974) menggunakan eksplan berupa jaringan meristem pada tunas apikal (Bajaj 1997: 80). Selanjutnya, jenis eksplan lain yang digunakan yaitu kotiledon dari embrio somatik (Li *dkk.* 1998: 411), daun muda (Mussio *dkk.* 1998: 206), embrio zigotik (Fregene *dkk.* 1999: 40), dan nodus tunggal (Mayer & van Staden 1986; Konan *dkk.* 1997: 445; Sudarmonowati *dkk.* 2002: 5; Onuoch & Onwubiku 2007: 1230; Fauzi 2010: 27).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, kultur nodus tunggal terkait dengan beberapa faktor, yaitu faktor genotipe (Sudarmonowati *dkk.* 2002: 6), komposisi medium (Priadi *dkk.* 2007: 9), dan zat pengatur tumbuh (Konan *dkk.* 1997: 445; Onuoch & Onwubiku 2007: 1230; Fauzi 2010: 25).

Penelitian mengenai komposisi medium dilakukan oleh Priadi *dkk.* (2007: 97) dengan mengujikan berbagai macam jenis bahan pematat berupa agar dan pati yang dicampurkan ke dalam medium MS. Berdasarkan penelitian tersebut, tunas terbanyak dihasilkan pada medium dengan campuran bahan pematat berupa agar komersil (*Swallow*) 0,8% yang memiliki karakteristik warna medium lebih transparan dibandingkan dengan bahan pematat berupa pati sehingga mempermudah pengamatan.

Penelitian mengenai zat pengatur tumbuh dilakukan oleh Konan *dkk.* (1997: 445) pada kultivar TMS 30555. Empat macam zat pengatur tumbuh yaitu BAP, kinetin, zeatin, dan TDZ (1; 1,5; 2 mg^l⁻¹) diuji untuk memacu pertumbuhan tunas dari eksplan nodus ubi kayu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah tunas per eksplan paling banyak dihasilkan oleh medium MS dengan komposisi BAP sebesar 1 mg^l⁻¹ yang dapat menghasilkan lima tunas per eksplan. Selanjutnya penelitian mengenai ZPT juga dilakukan oleh Onuoch & Onwubiku (2007:

1299). Eksplan nodus tunggal dari kultivar TMS 98/0379 dan TMS 98/0581 diujikan pada medium MS dengan penggunaan variasi BAP tunggal (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25 mg l^{-1}). Hasil pengujian menunjukkan bahwa kultivar ubi kayu TMS 98/0379 memiliki jumlah tunas terbaik pada 0,5 mg l^{-1} BAP.

Fauzi (2010: 21--23) kemudian mengujikan penggunaan BAP tunggal pada medium MS + 0,2 NAA, dengan variasi konsentrasi 0,5; 1; 1,5; dan 3 mg l^{-1} . Genotipe ubi kayu yang digunakan dalam penelitian adalah Adira II. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi 1,5 BAP memberikan hasil terbaik dalam pemunculan tunas yaitu senilai 1,16 rata-rata tunas per eksplan. Meskipun 1,16 merupakan hasil terbaik dari penelitian, hasil tersebut masih menunjukkan laju multiplikasi yang rendah pada ubi kayu.

2.7 Faktor-faktor yang mempengaruhi kultur *in vitro*

2.7.1 Struktur dan kondisi fisiologis eksplan

Struktur dan kondisi fisiologis eksplan sangat mempengaruhi keberhasilan dalam teknik kultur *in vitro*. Eksplan digunakan sebagai sumber material untuk membentuk sel dan jaringan baru secara *in vitro*. Bagian dari tanaman yang dijadikan sebagai eksplan bergantung pada jenis kultur jaringan yang akan diinisiasi, tujuan dari teknik kultur yang akan dilakukan, dan jenis tanaman yang digunakan (George *dkk.* 2008: 2). Perbedaan respon pertumbuhan yang ditunjukkan oleh eksplan nodus tunggal pada kultur *in vitro* ubi kayu seperti yang dikemukakan oleh Fauzi (2010: 28) disebabkan oleh beragamnya jaringan yang menyusun suatu eksplan. Masing-masing jaringan tersebut tersusun oleh sel-sel dengan kondisi fisiologis yang berbeda terkait tahapan dalam pertumbuhan dan perkembangan sel (George *dkk.* 2008: 317).

Menurut Salisbury & Ross (1995: 4) pertumbuhan dan perkembangan pada sel tumbuhan terkait dengan tiga hal, yaitu proses pembelahan sel, pembesaran sel, dan diferensiasi sel. Pembelahan sel terjadi ketika satu sel dewasa membelah menjadi dua sel terpisah yang tidak serupa satu sama lain. Setelah proses pembelahan sel, terdapat masa pertumbuhan sebelum replikasi DNA (G_1), kemudian replikasi DNA (S), diikuti dengan pertumbuhan setelah replikasi (G_2),

dan akhirnya memasuki fase mitosis untuk pembelahan kembali. Fase G_1 merupakan fase yang disebut sebagai *critical point* dikarenakan pada fase tersebut sel menentukan akan melakukan siklus sel atau tidak sebelum melakukan replikasi DNA pada fase S (Taiz & Zeiger 2002: 23). Salah satu dari kedua sel yang dihasilkan dari fase mitosis mungkin tidak melanjutkan daur sel, tapi membesar dan berdiferensiasi yang kemudian disebut sebagai sel kompeten (George dkk. 2008: 357).

2.7.2 Komposisi medium

Medium yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* ubi kayu yaitu medium yang dikembangkan oleh Murashige dan Skoog (MS) (Konan dkk. 1997: 445; Onuoch & Onwubiku 2007: 1230; Fauzi 2010: 25). Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi (Wetter & Constabel 1991: 2; Rustael dkk. 2009: 194; Vilamour 2010: 150). Menurut Bhojwani & Razdan (1996: 38), komposisi medium yang diperlukan untuk mendukung terjadinya pertumbuhan dan perkembangan dalam kultur *in vitro* adalah garam-garam makro dan mikro, vitamin dan asam amino, sumber karbon, bahan pematat, dan ZPT eksogen.

Sumber karbon yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* ubi kayu adalah sukrosa sebanyak 2--3% (Sudarmonowati dkk. 2002: 5; Beyene 2009: 18). Bhojwani & Razdan (1996: 42) juga menjelaskan bahwa sukrosa merupakan karbon yang relatif lebih banyak tersedia dan sifatnya cukup stabil sehingga sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Bahan pematat dijelaskan oleh George dkk. (2008: 153) yang menyatakan bahwa konsentrasi agar yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* adalah 0,5--1,00%, sedangkan konsentrasi agar yang sering digunakan pada kultur nodus ubi kayu adalah 0,7--0,8 % (Konan dkk. 1997: 445; Sudarmonowati dkk. 2002: 6; Beyene 2009: 18).

George dkk. (2008: 175) menjelaskan bahwa zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa kimia sintesis yang memiliki aktivitas fisiologis mirip dengan hormon-hormon yang ada di dalam tubuh tanaman yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat mengubah proses fisiologi tanaman. Salah satu kelompok ZPT yang banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah

sitokinin (Wetter & Constabel 1991:3). Sitokinin merupakan hormon yang berperan dalam pembelahan sel, pematangan apikal dominansi, dan diferensiasi tunas. Oleh karena itu, pematangan dominansi apikal untuk tunas-tunas aksilar membutuhkan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin .

Penggunaan BAP untuk menginduksi multiplikasi tunas telah banyak dilakukan pada berbagai spesies tanaman, misalnya pada *Musa* spp. (Arinaitwe dkk. 2000: 20), *Sinningia speciosa* (Shagufta Naz dkk. 2001: 576) dan *Rosa centifolia* (Baig dkk. 2010: 4569). Contoh pada tanaman ubi kayu yaitu dilakukan oleh Konan dkk. (1997: 445), Sudarmonowati dkk. (2002: 6), Onuoch & Onwubiku (2007: 1230), Beyene (2009: 18), dan Fauzi (2010: 25). Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang efektif untuk meningkatkan multiplikasi tunas dibandingkan jenis sitokinin yang lain (Konan dkk. 1997: 445; Beyene 2009: 18).

2.7.3 Faktor lingkungan

2.7.3.1 Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* berkisar 5,5--5,8 (Davey & Anthony 2010: 5). Nodus *M. alba* dikultur dalam medium MS dengan pH 5,6 untuk induksi tunas (Anis dkk. 2003: 48). Nodus *Ficus religiosa* L. dikultur dalam medium MS dengan pH 5,8 (Hassan dkk. 2009: 72). Sementara itu, ubi kayu genotipe Kullo dan Qulle juga dikultur dalam medium MS dengan pH 5,8. (Beyene 2009: 18).

2.7.3.2 Suhu

Suhu optimum untuk pertumbuhan setiap jenis tanaman dalam kultur *in vitro* berbeda-beda. Suhu yang umum digunakan secara konstan yaitu 25 °C, dengan kisaran antara 17--32 °C. Tanaman tropis dan subtropis seperti ubi kayu, padi, dan *Citrus* membutuhkan suhu sekitar 27 °C dengan kisaran 24--32 °C (George dkk. 2008: 436). Sudarmonowati dkk. (2002: 5) menggunakan suhu 25 ± 1 °C untuk kultur 12 genotipe ubi kayu Indonesia. Onuoch & Onwubiku (2007:

1230) menggunakan suhu 28 °C untuk kultur ubi kayu yang berasal dari Afrika. Sementara itu, Beyene (2009: 19) mengkulturkan ubi kayu Kullo dan Qulle dalam suhu 25 ± 2 °C.

2.7.3.3 Cahaya

Cahaya dapat diberikan secara kontinyu ataupun fotoperiodisitas selama 8--16 jam. Cahaya yang diberikan untuk pertumbuhan tunas pada tanaman ubi kayu biasanya dilakukan secara fotoperiodisitas, yaitu selama 16 jam penyinaran (Konan 1997: 445; Sudarmonowati dkk. 2002: 5; & Onuoch & Onwubiku 2007: 1230). Meski demikian, pencahayaan secara kontinyu juga dapat dilakukan untuk menginduksi pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* misalnya pada kultur *Phaseolus vulgaris* L. (Mohamed dkk. 1992: 233), *Lawsonia inermis* (Rout dkk. 2001: 957), dan *Saccharum officinarum* (Cheema & Hussain 2004: 258). Selanjutnya, pencahayaan kontinyu pada kultur *L. inermis* ternyata memberikan hasil multiplikasi tunas yang lebih baik dibandingkan fotoperiodisitas selama 8--16 jam (Rout dkk. 2007: 957).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong, Jawa Barat pada bulan April--November 2011.

3.2 Alat

Botol kultur, timbangan [Precisa 315-M], spatula, *heat stirrer* [Thermolyne] autoklaf, *beaker glass* 500 ml [IWAX] dan 1 l [IWAX], botol kaca 500 ml dan 1 l [Schott Duran], pengukur pH [Cyberscan pH 310], pipet, Botol kultur, pinset [Yamaco Stainless], cawan petri [Pirex], Bunsen, baki, gunting, baki, oven [Emco], autoklaf [Everlight], *Laminar Flow Cabinet* (LFC), pinset [Yamaco Stainless], cawan petri [Pirex], timbangan, kuas dan *shakker* [IKA-Schuttler MTS 4], kamera digital 12,5 MP [Canon], dan laptop [BenQ].

3.3 Bahan

3.3.1 Eksplan Penelitian

Eksplan yang digunakan adalah nodus apikal dan empat nodus aksilar dari tunas steril Ubi Kuning dengan panjang internodus 0,5--1,5 cm berumur 4 minggu. Tanaman donor untuk menghasilkan tunas steril didapatkan dari kebun plasma nutfah Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong.

3.3.2 Bahan kimia dan habis pakai

NH_4NO_3 [Merck], KNO_3 [Merck], $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [Merck], KH_2PO_4 [Merck], KI [Merck], $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [Merck], tritiplek [Merck], $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [Merck], asam nikotinat [Merck], piridoksin [Merck], tiamin HCl [Merck], HCl, glisin [Merck], BAP [Merck], KOH [Merck], *Myo-inositol* [Waco], Sukrosa [Merck], Agar [Merck], akuades, HgCl_2 0,1% [Merck], Alkohol 70%, Fungisida [Dithane M-45], aluminium foil, plastik, karet, *clin pack*, sabun cuci [*sunlight*], kertas koran, milimeter blok dan tissue.

3. 4 Cara kerja

3.4.1 Pembuatan larutan stok

Bahan medium dasar Murashige-Skoog (1962) disediakan dalam bentuk larutan stok makro, mikro, vitamin dan asam amino, NaFeEDTA, serta BAP (Tabel 3.4.1). Larutan stok makro dibuat menjadi 20 kali lipat, stok mikro dan NaFeEDTA serta vitamin dan asam amino menjadi 50 kali lipat. Larutan stok makro dilarutkan dalam akuades sampai volume 1 liter, sehingga untuk membuat 1 liter medium dibutuhkan 50 ml larutan stok makro. Larutan stok mikro dilarutkan dalam akuades sampai volume 200 ml, sehingga untuk membuat 1 liter medium dibutuhkan 2 ml larutan stok mikro. Larutan stok NaFeEDTA serta vitamin dan asam amino dilarutkan dalam akuades sampai volume 500 ml, sehingga untuk membuat 1 liter medium dibutuhkan 10 ml larutan stok NaFeEDTA serta vitamin dan asam amino. Larutan stok BAP dibuat dengan konsentrasi 100 ppm (100mg l^{-1}) dan dibutuhkan 7,5 ml larutan stok BAP untuk membuat 1 liter medium.

Tabel 3.4.1 Komposisi bahan dasar dan bahan tambahan untuk larutan stok medium Murashige-Skoog (MS) 1962 modifikasi

Nama larutan stok	Komposisi	Konsentrasi (mg l ⁻¹)	Stok (X lipat)	Dilarutkan akuades hingga (ml)	Volume yang dipipet (ml) untuk 1 liter medium
Makro	NH ₄ NO ₃ KNO ₃ CaCl ₂ . 2H ₂ O MgSO ₄ .7H ₂ O KH ₂ PO ₄	1650 1900 440 370 170	20	1000	50
Mikro	KI H ₃ BO ₃ MnSO ₄ .H ₂ O ZnSO ₄ .7H ₂ O Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O CuSO ₄ .5H ₂ O CoCl ₂ .6H ₂ O	0,83 6,2 22,3 8,6 0,25 0,025 0,025	100	200	2
NaFeEDTA	Tritiplek FeSO ₄ .7H ₂ O	37,3 27,8	50	500	10
Vit. & asam amino	Asam nikotinat Piridoksin Tiamin HCL Glisin	0,5 0,5 0,1 2	50	500	10
BAP	BAP	0,75	13,3	100	7,5

3.4.2 Pembuatan medium

Medium yang digunakan merupakan medium Murashige-Skoog (MS) yang dibuat dengan cara sebagai berikut. Akuades dimasukkan ke dalam botol *schott* ukuran 1 liter sekitar 50 ml. Selanjutnya larutan stok makro sebanyak 50 ml, 2 ml stok mikro, 10 ml vitamin, dan 10 ml NaFeEDTA dimasukkan ke dalam botol *schott* untuk membuat 1 liter medium. Larutan stok BAP ditambahkan sebanyak 7,5 ml untuk membuat medium perlakuan. Campuran larutan tersebut kemudian diaduk menggunakan *stirrer* hingga homogen.

Langkah selanjutnya yaitu 40 gr sukrosa dan 100 mg *myo-inositol* dimasukkan ke dalam botol *schott* dan diaduk hingga larut (Karkonen *dkk.* 2011: 3). Larutan medium MS dalam botol *schott* kemudian diukur kadar pHnya menggunakan pH meter digital. pH yang digunakan untuk medium MS adalah 5,84 (Iliev *dkk.* 2010: 5). KOH ditambahkan dalam larutan jika pH larutan terlalu asam, sedangkan HCl ditambahkan dalam larutan jika pH larutan terlalu basa (Tang & Newton 2007: 17). Akuades ditambahkan kembali hingga volume larutan medium mencapai 1 liter. Sebelum dipanaskan menggunakan *hot plate*, 8 gr agar kemudian dicampurkan ke dalam larutan medium MS. Medium MS kemudian dibiarkan di atas *hot plate* hingga mendidih.

Medium MS yang telah mendidih kemudian dipindahkan ke dalam botol kultur sebelum medium tersebut dingin dan membeku. Botol kultur berisi medium MS ditutup rapat menggunakan plastik dan karet. Botol kultur diberi label kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Bhojwani & Razdan 1996: 28). Setelah proses sterilisasi selesai, medium diletakkan di meja datar untuk proses pembekuan dan disimpan di dalam rak kultur penyimpanan medium.

3.4.3 Sterilisasi alat

Cawan petri, pinset, kuas, gelas ukur, skalpel, dan gunting disterilisasi menggunakan oven bersuhu 150 °C selama 1 jam. Bagian dalam dan luar LFC disterilkan dengan cara menyemprotkan alkohol 70%. LFC lalu disterilkan kembali dengan cara menyalakan lampu ultra violet (UV) selama 1 jam sebelum penggunaan.

3.4.4 Sterilisasi eksplan

Sterilisasi eksplan dibagi menjadi dua tahap, yaitu penanganan eksplan yang dilakukan di luar dan di dalam LFC. Pada tahap pertama, sterilisasi eksplan dilakukan di luar LFC. Seluruh daun dan tunas terminal maupun aksilar dibuang dari batang, kemudian eksplan diolesi sabun cair *sunlight* menggunakan kuas

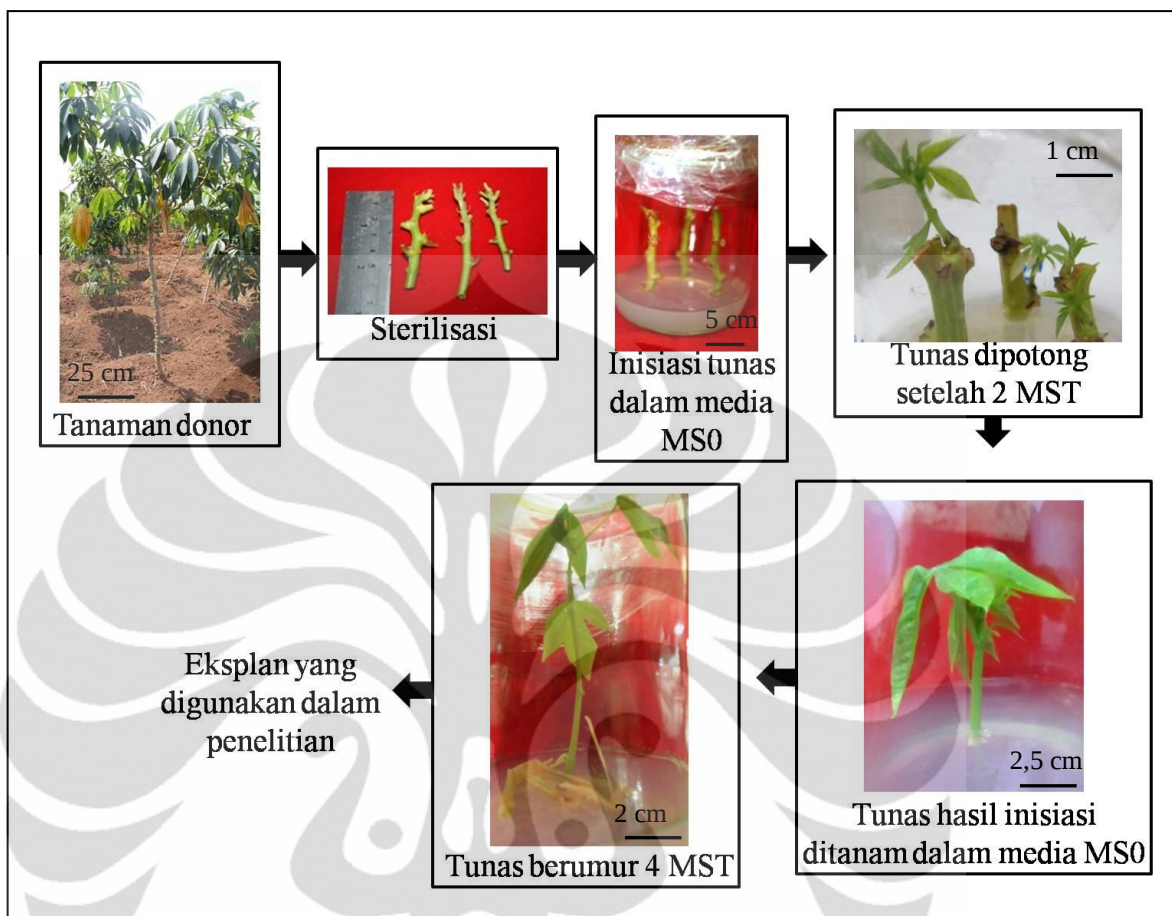
steril. Selanjutnya eksplan dibilas menggunakan air mengalir selama kurang lebih 15 menit (Karkonen *dkk.* 2011: 3).

Sterilisasi eksplan di dalam LFC adalah sebagai berikut:

1. Eksplan yang telah dibilas kemudian dimasukkan ke dalam larutan dithane dan dikocok menggunakan *shaker*. Larutan dithane dibuat dengan cara melarutkan 4 gram dithane dalam setiap 100 ml akuades. Lama pengocokan sekitar 30 menit.
2. Larutan dithane dituang ke dalam botol penampungan dan eksplan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
3. Eksplan direndam menggunakan alkohol 70% steril selama 3 menit (Iliev *dkk* 2010: 4; Karkonen *dkk.* 2011: 3).
4. Alkohol 70% dituang ke dalam botol penampungan dan eksplan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
5. Eksplan direndam menggunakan HgCl_2 0,1% selama 1 menit (Iliev *dkk* 2010: 4) kemudian dibilas kembali menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.

3.4.5 Inisiasi tunas

Inisiasi tunas dilakukan untuk mendapatkan eksplan yang steril dari tanaman donor sebelum masuk ke tahap perlakuan. Pucuk ubi kayu dengan empat tunas aksilar yang telah di sterilisasi kemudian di tanam ke dalam medium MS tanpa zat pengatur tumbuh (MS0). Untuk menghindari kontaminasi, tunas yang tumbuh pada nodus ketiga dari tanaman donor dipotong dan ditanam dalam medium MS0 sampai berumur 4 minggu sebelum masuk ke tahap perlakuan (Gambar 3.4.5).



Gambar 3.4.5 Mekanisme inisiasi tunas ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media MS0

3.4.6 Penanaman eksplan

Eksplan yang digunakan adalah nodus apikal dan empat nodus aksilar ubi kayu steril hasil inisiasi yang berumur 4 minggu. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara mengambil tunas dari dalam botol kultur dengan pinset lalu diletakkan pada cawan petri. Tunas apikal dan aksilar kemudian dipotong menggunakan skalpel sepanjang satu nodus (0,5--1,5 cm) serta ditandai berdasarkan letak nodusnya. Bagian mulut botol dilewatkan pada api bunsen terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Eksplan ditanam pada media induksi tunas (MS + BAP $0,75 \text{ mg l}^{-1}$) dengan pinset steril dalam posisi

tegak. Sebelum ditutup, mulut botol dilewatkan pada bunsen kembali kemudian botol ditutup dan diberi label sesuai jenis eksplan serta tanggal penanamannya.

3.4.7 Pemeliharaan kultur

Kultur diletakkan pada rak-rak di ruang kultur. Suhu ruang kultur yang digunakan yaitu 25 ± 1 °C. Di dalam rak kultur dipasang lampu TL 20 watt sebanyak 2 buah. Kultur diberi penyinaran kontinyu dan disemprot dengan alkohol 70% setiap dua hari sekali untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

3.4.8 Pengamatan kultur

Parameter yang diamati meliputi parameter kualitatif seperti warna tunas, kontaminasi, kalus, perakaran serta parameter kuantitatif untuk mengetahui data-data pertumbuhan tunas.

3.4.8.1 Parameter kualitatif

Parameter kualitatif berupa morfologi dari tunas yang tumbuh, berupa warna tunas, pencokelatan, kontaminasi, keberadaan akar dan kalus, serta ada tidaknya varigasi pada daun. Pengamatan dilakukan secara visual. Warna diukur berdasarkan standar warna *Methuen Handbook of Colour* (Kornerup & Wanscher 1981: 1--30) (Lampiran 1) dan morfologi tunas dibahas secara deskriptif serta didukung dengan gambar (foto).

3.4.8.2 Parameter kuantitatif

Untuk mengetahui pertumbuhan tunas, dilakukan penghitungan dan pengukuran beberapa parameter pengamatan, yaitu persentase eksplan yang tumbuh tunas, jumlah tunas per eksplan, hari tumbuh tunas, panjang tunas, jumlah daun, dan panjang daun. Cara penghitungan dan pengukuran adalah sebagai berikut:

1. Jumlah eksplan yang menunjukkan pertumbuhan tunas pada akhir 4 minggu setelah tanam (MST) dan tidak terkontaminasi dicatat untuk mendapatkan persentase eksplan yang tumbuh. Jumlah eksplan yang tumbuh tunas tersebut dibagi dengan jumlah eksplan awal dan dikalikan dengan 100%.
2. Pengamatan visual setiap hari dan penghitungan jumlah tunas serta daun pada akhir 4 MST. Pengamatan visual setiap hari dilakukan untuk melakukan pencatatan apabila pada hari tersebut terlihat pertumbuhan tunas.
3. Panjang tunas dan daun didapatkan dengan pengukuran tunas dan daun pada akhir 4 MST. Pengukuran panjang tunas dimulai dari pangkal nodus sampai ujung tunas, sedangkan panjang daun diukur dengan pengukuran panjang daun yang sudah terbuka sempurna.

3.4.9 Analisis data

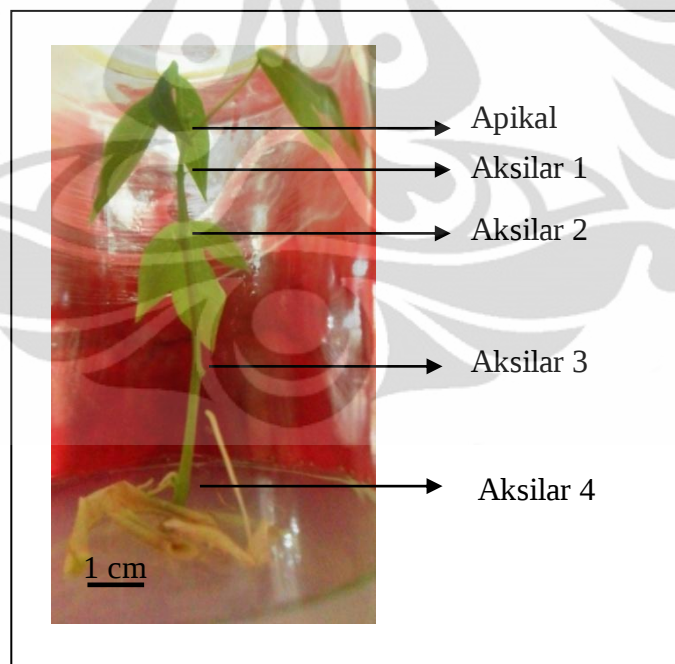
Analisis kualitatif meliputi data visual yang dianalisis menggunakan metode deskriptif. Data kuantitatif dianalisis dengan menghitung nilai rata-rata dan standar deviasi dari jumlah tunas dan daun beserta tinggi tunas dan panjang daun per eksplan yang tidak terkontaminasi selama 4 minggu. Selanjutnya, nilai rata-rata dan standar deviasi diuji normalitas dan homogenitasnya. Data yang normal dan homogen dilakukan uji analisis variansi (ANOVA) ($\alpha = 0,05$). Data yang tidak normal maupun tidak homogen dilakukan transformasi dan dilakukan pengujian kembali. Data hasil transformasi yang tetap tidak normal dan tidak homogen kemudian dilakukan uji Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$). Hasil uji ANOVA dan Kruskal-Wallis menunjukkan adanya beda nyata pada perlakuan berupa nodus apikal dan empat nodus aksilar. Selanjutnya, dilakukan uji Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) untuk melihat adanya perbedaan pada setiap perlakuan.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

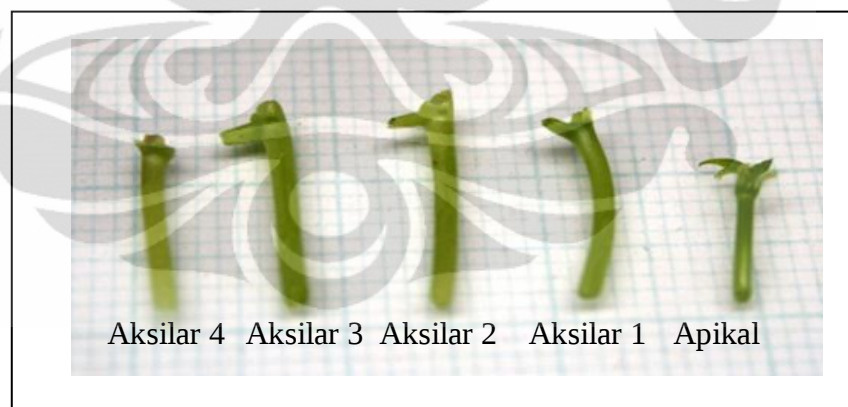
4.1 Inisiasi tunas

Penelitian diawali dengan inisiasi tunas steril Ubi Kuning untuk memperoleh eksplan penelitian. Periode inisiasi tunas pada Ubi Kuning adalah 6-7 minggu. Tunas mulai muncul pada hari ke-4 setelah penanaman dan tunas dipisahkan dari tanaman donor setelah berumur 2 minggu. Tunas tersebut kemudian ditanam kembali pada medium MS0 hingga berumur 4 minggu (Gambar 4.1.(1)). Selanjutnya, sepuluh nodus tunggal dari masing-masing nodus apikal dan aksilar hasil inisiasi tersebut ditanam dalam medium induksi tunas (medium MS dengan penambahan $0,75 \text{ mg l}^{-1}$ BAP) dan diamati pertumbuhannya selama 4 MST. (Gambar 4.1.(2)).



Gambar 4.1.(1) Tunas ubi kayu genotipe Ubi Kuning hasil inisiasi pada medium MS0

Inisiasi tunas merupakan hal yang perlu dilakukan dalam kultur *in vitro* terutama jika tujuannya adalah perbanyak tunas. Inisiasi tunas dapat dilakukan pada media dasar dengan hormon ataupun tanpa hormon. Pada kultur nodus tunggal dari tanaman *S. Officinarum*, inisiasi tunas dilakukan menggunakan media MS dengan penambahan BAP ($0,2--1,5 \text{ mg l}^{-1}$) dan Kinetin ($0,1 \text{ mg l}^{-1}$) (Cheema & Husain 2004: 257), sedangkan inisiasi tunas *F. religiosa* dilakukan pada media MS tanpa penambahan ZPT (Hassan dkk. 2009: 72). Untuk tanaman ubi kayu, inisiasi tunas biasa dilakukan pada media MS tanpa penambahan ZPT (Sudarmonowati dkk. 2002: 6; Fauzi 2010: 21). Tunas hasil inisiasi merupakan tunas muda yang nodusnya tersusun dari sel-sel yang lebih aktif membelah dibandingkan dengan tanaman donor sehingga lebih peka terhadap rangsangan ZPT (George dkk. 2008: 413). Selain itu, eksplan hasil inisiasi akan mempermudah proses multiplikasi tunas dibandingkan multiplikasi langsung dari tanaman donor, karena kondisi eksplan yang sudah steril dan sudah teradaptasi dengan lingkungan dalam kultur *in vitro*.



Gambar 4.1.(2) Nodus tunggal ubi kayu genotipe Ubi Kuning sebagai variabel penelitian

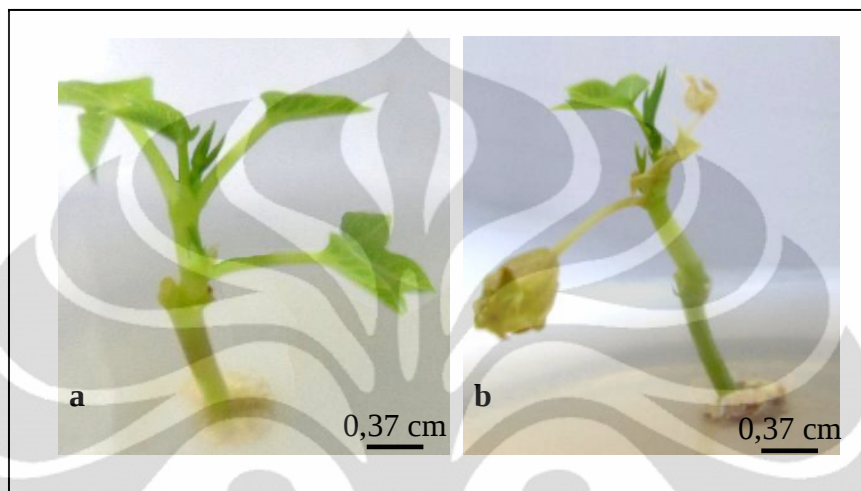
4.2 Parameter kualitatif

Data kualitatif pertumbuhan tunas apikal dan aksilar diperlukan untuk mendukung data kuantitatif dalam menentukan eksplan yang sebaiknya digunakan dalam kultur *in vitro* Ubi Kuning. Secara kualitatif, tunas yang tumbuh pada 4 MST berwarna hijau muda dan tumbuh dengan baik, sedangkan warna daun yang ada pada tunas adalah hijau dengan gradasi warna mulai dari hijau tua pada daun yang paling dewasa sampai hijau muda yang terdapat pada daun paling muda. Pengamatan kualitatif dilanjutkan untuk melihat proses perubahan warna baik pada daun ataupun pada tunas. Berdasarkan hasil pengamatan, daun pada tunas mulai menguning pada 5 dan 6 MST (Gambar 4.2.(1)). Penuaan daun atau yang disebut sebagai *senescence* merupakan suatu regulasi normal yang terjadi pada tanaman dan dikontrol oleh genetik. Karakteristik utama yang nampak pada proses penuaan daun adalah perubahan warna daun yang terjadi akibat berkurangnya klorofil.

Salisbury & Ross (1995: 93--94) menyatakan bahwa *senescence* dapat terinduksi akibat terjadinya persaingan dalam memperebutkan hara. Tunas majemuk yang tumbuh menyebabkan kebutuhan nutrisi semakin besar, sedangkan suplai nutrisi pada medium kultur semakin berkurang. Hal tersebut kemudian membuat daun kekurangan suplai nutrisi sehingga metabolisme yang terjadi pada daun semakin melambat. Selain akibat kurangnya suplai nutrisi, *senescence* juga terinduksi karena berkurangnya suplai hormon sitokinin. Sitokinin berperan untuk membantu proses pembelahan sel dan perkembangan daun melalui induksi sintesis klorofil. Sitokinin ditransport dari bagian akar melalui xilem bersama unsur hara menuju tunas. Transport sitokinin menuju tunas menyebabkan suplai sitokinin pada daun menjadi berkurang dan mengakibatkan dimulainya proses penuaan (Salisbury & Ross 1995: 93--94).

Selain sitokinin, hormon lain yang mempengaruhi proses *senescence* adalah asam absisat (ABA) dan etilen. Taiz & Zeiger (2002: 548) menyatakan bahwa ABA memiliki peran dalam proses *senescence* dengan cara menginduksi pembentukan etilen dan zona absisi. Pada tahap selanjutnya selama proses *senescence*, etilen banyak menginduksi sintesis serta sekresi enzim hidrolitik yang berperan dalam pemecahan protein seluler, karbohidrat, dan asam nukleat pada

daun. Komponen gula, nukleosida, dan asam amino kemudian diangkut kembali ke bagian tubuh utama tanaman melalui floem dan akan digunakan untuk menyuplai kebutuhan nutrisi untuk sintesis daun yang baru pada tunas (Taiz & Zeiger 2002: 371).

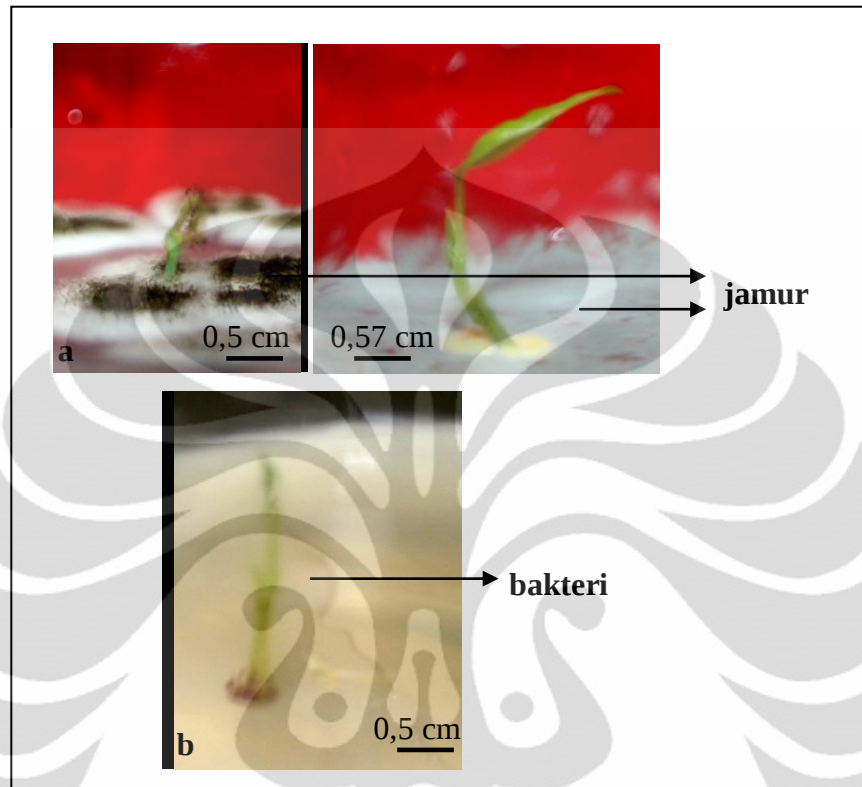


Gambar 4.2.(1) Warna daun pada tunas (a) 4 MST, dan (b) 6 MST.

Kontaminasi eksplan terjadi pada awal 2 MST. Berdasarkan pengamatan, kontaminasi terjadi pada tiga eksplan, yaitu kontaminasi bakteri pada nodus aksilar 2 serta kontaminasi jamur pada satu nodus apikal dan nodus aksilar 2 (Gambar 4.2.(2)). Meskipun eksplan yang digunakan merupakan eksplan steril, namun kontaminasi dapat terjadi akibat kontaminasi medium, botol kultur atau alat-alat transfer yang kurang steril, lingkungan kerja, serta pelaksanaan yang kurang aseptis. Selain itu, kemungkinan juga terdapat kontaminan endogen yang berada pada jaringan tanaman (Habiba *dkk.* 2002: 118).

Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur terlihat jelas pada media. Media dan eksplan terlihat diselimuti oleh hifa berbentuk kapas berwarna putih, dan spora yang berwarna hitam. Kontaminasi oleh bakteri terlihat di sekeliling eksplan dengan adanya lendir berwarna kuning. Perbedaan sumber kontaminasi juga dapat dilihat berdasarkan letak kontaminasi muncul. Berdasarkan penelitian, kontaminasi jamur merupakan kontaminasi yang berasal dari media dikarenakan jamur tumbuh tersebar di seluruh permukaan media, sedangkan kontaminasi

bakteri merupakan kontaminasi yang berasal dari jaringan di dalam eksplan karena kontaminasi hanya terjadi disekitar eksplan.



Gambar 4.2.(2) Jenis kontaminan pada kultur ubi kayu genotipe Ubi Kuning (a) jamur dan (b) bakteri.

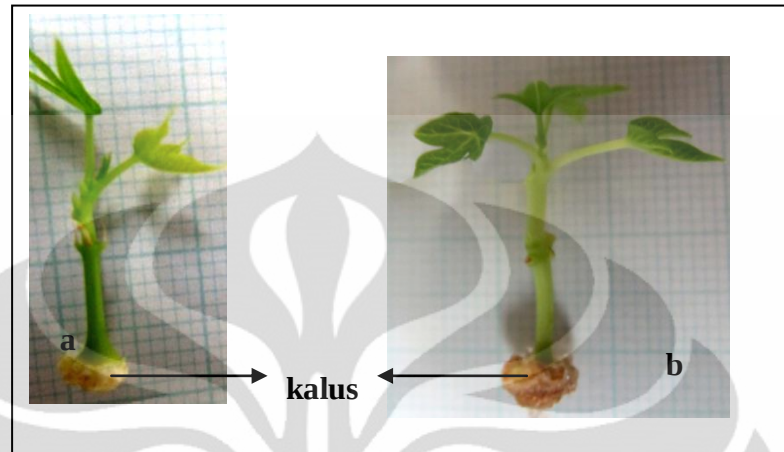
Parameter kualitatif lain yang dapat diamati dari penelitian adalah keberadaan kalus pada semua tipe eksplan, baik apikal maupun aksilar. Kalus merupakan sekumpulan sel yang tidak berbentuk (*amorphus*). Berdasarkan pengamatan, kalus mulai muncul pada bagian basal eksplan bekas pemotongan pada akhir 1 MST. Hal tersebut sesuai dengan teori yang diungkapkan oleh George *dkk.* (2008: 403) bahwa pertumbuhan kalus merupakan respon tanaman terhadap luka yang ditimbulkan pada saat pemotongan eksplan. Tanaman tersebut memiliki kemampuan untuk memperbaiki kembali organ yang dilukai dengan membentuk kalus. Kalus yang terbentuk pada kultur Ubi Kuning menunjukkan struktur dan warna yang seragam, baik pada nodus apikal maupun aksilar. Seluruh kalus yang terbentuk berstruktur remah dan berwarna putih kekuningan

sampai kecoklatan (Gambar 4.2.(3)). Perubahan warna kalus menjadi cokelat biasanya terjadi karena akumulasi polifenol oksidase yang disintesis oleh tanaman ketika jaringan dilukai (Esyanti & Muspiah 2006: 163).

Meski demikian, pembentukan kalus yang terjadi pada eksplan menunjukkan peningkatan jumlah pada minggu-minggu berikutnya. Hasil tersebut berbeda dengan yang dilakukan oleh Rani & Rana (2010: 388--89) pada multiplikasi tunas *Tylophora indica* menggunakan medium MS dengan penambahan eksogen tunggal berupa 2 mg^l⁻¹ BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada kalus yang terbentuk pada bagian basal eksplan selama 4 MST. Tidak tumbuhnya kalus disebabkan sudah tercapainya titik keseimbangan antara auksin dan sitokinin di dalam tanaman, sehingga pertumbuhan terkonsentrasi pada pembentukan tunas, bukan pembentukan kalus. Seperti yang dinyatakan oleh Taiz & Zeiger (2002: 505), bahwa pertumbuhan tunas akan terjadi jika sitokinin berada dalam konsentrasi yang tinggi dan auksin dalam konsentrasi rendah. Sebaliknya, pertumbuhan kalus akan terbentuk jika konsentrasi sitokinin masih rendah dan konsentrasi auksin tinggi. Dengan demikian, kemungkinan pada penelitian ini, konsentrasi sitokinin dalam eksplan masih rendah sehingga konsentrasi sitokinin eksogen masih perlu ditingkatkan kembali untuk meningkatkan multiplikasi tunas dan mengurangi pertumbuhan kalus yang bisa menghambat pertumbuhan tunas.

Pembentukan akar tidak terjadi pada semua nodus, baik nodus aksilar maupun apikal. Fenomena tersebut juga terjadi pada penelitian Fauzi (2010: 24) yang menggunakan ubi kayu genotipe Adira II dalam medium MS dengan penambahan BAP dan NAA. Penelitian menunjukkan bahwa eksplan yang mampu menumbuhkan akar hanyalah eksplan yang ditanam dalam medium MS₀, sedangkan eksplan pada medium lain menumbuhkan kalus. Hal serupa juga dinyatakan oleh Konan (1997: 448) pada penelitian ubi kayu asal Afrika menggunakan ZPT BAP, bahwa planlet ubi kayu yang mampu menumbuhkan akar hanya pada medium MS yang tidak ditambahkan ZPT apapun. Berdasarkan hal tersebut maka kemungkinan penambahan sitokinin BAP pada medium kultur menjadi salah satu penyebab terhambatnya pertumbuhan akar. Seperti yang telah dijelaskan oleh George *dkk.* (2008: 214) bahwa penambahan sitokinin secara

umum dapat menghambat pembentukan akar dengan cara menghambat kerja auksin endogen tanaman yang berperan dalam pembentukan akar.



Gambar 4.2.(3) Kalus pada eksplan (a) apikal dan (b) aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning

4.3 Parameter kuantitatif

Tidak semua eksplan pada penelitian mampu menumbuhkan tunas. Pada awal penelitian, jumlah nodus masing-masing eksplan sebanyak sepuluh nodus. Kontaminasi yang terjadi pada nodus apikal dan aksilar membuat jumlah eksplan pada akhir pengamatan tidak sama. Semua nodus aksilar yang tidak terkontaminasi mampu menghasilkan tunas, sedangkan pada nodus apikal terdapat dua eksplan yang tidak menghasilkan tunas dan mati pada awal 3 MST (Tabel 4.3.(1)).

Hasil data kuantitatif dalam penelitian ini adalah jumlah tunas, hari tumbuh tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun. Untuk melihat perbedaan antar perlakuan nodus dari data tersebut, dilakukan uji statistik terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun. Tahapan uji statistik yang dilakukan yaitu diawali dengan uji normalitas dan homogenitas data. Data tinggi tunas memenuhi syarat data normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA. Data jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang daun tidak memenuhi syarat data normal dan homogen sehingga pengolahan data

menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji ANOVA dan Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan nyata pada rata-rata perlakuan nodus sehingga uji statistik dilanjutkan kembali menggunakan uji Duncan untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan nodus (Tabel 4.3.(2)). Berdasarkan tabel tersebut dapat terlihat bahwa terdapat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan yang akan dibahas pada masing-masing parameter pertumbuhan.

Tabel 4.3.(1) Persentase eksplan bertunas pada kultur *in vitro* ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

perlakuan	jumlah nodus	eksplan bertunas	
		jumlah	(%)
Apikal	9	7	78
Aksilar 1	10	10	100
Aksilar 2	8	8	100
Aksilar 3	10	10	100
Aksilar 4	10	10	100

Keterangan:

$$\text{Persentase eksplan bertunas} = \frac{\text{nodus tumbuh tunas}}{\text{jumlah nodus}} \times 100\%$$

Tabel 4.3.(2) Hasil analisis statistik parameter kuantitatif (jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun) eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

Perlakuan	Jumlah tunas ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	Tinggi tunas (cm) ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	Jumlah Daun ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	Panjang daun (cm) ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
Apikal	0,78 $\pm$ 0,44 a	0,50 $\pm$ 0,10 a	1,33 $\pm$ 0,87 a	0,88 $\pm$ 0,52 a
Aksilar 1	1,60 $\pm$ 0,52 b	0,70 $\pm$ 0,24 ab	3,30 $\pm$ 0,67 bc	1,28 $\pm$ 0,19 b
Aksilar 2	2,38 $\pm$ 0,52 c	0,88 $\pm$ 0,23 bc	3,62 $\pm$ 0,52 c	1,39 $\pm$ 0,33 b
Aksilar 3	2,70 $\pm$ 0,48 cd	1,10 $\pm$ 0,22 c	3,80 $\pm$ 0,63 c	1,45 $\pm$ 0,22 b
Aksilar 4	3,00 $\pm$ 0,67 d	0,65 $\pm$ 0,28 ab	2,80 $\pm$ 0,79 b	0,82 $\pm$ 0,66 a

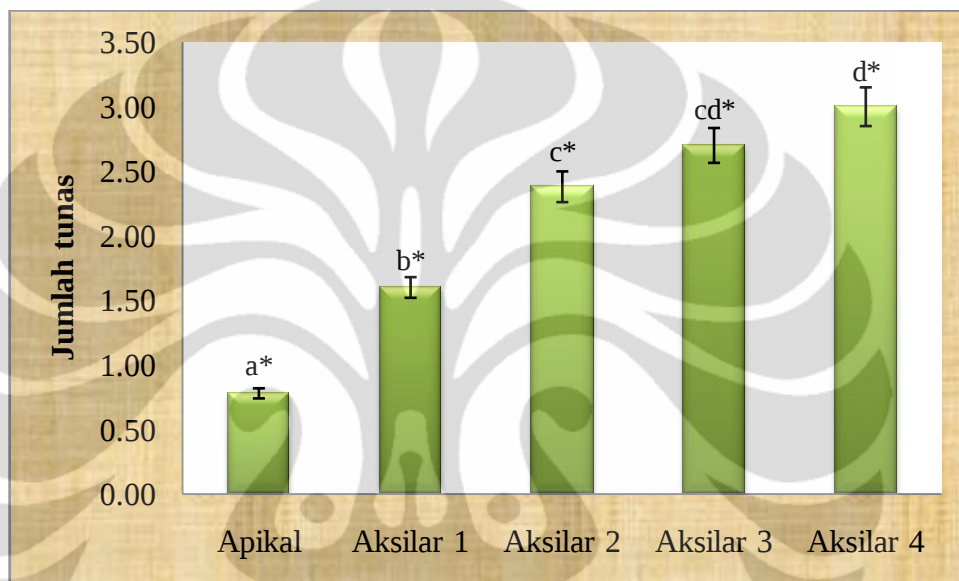
*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha=0,05$)

4.3.1 Jumlah tunas

Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data jumlah tunas per eksplan Ubi Kuning pada nodus apikal dan empat nodus aksilar berbeda nyata. Pengujian lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada jumlah tunas antara nodus apikal dan empat nodus aksilar (Tabel 4.3.(2)). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa, nodus yang paling banyak menghasilkan tunas adalah nodus aksilar 4 dengan rata-rata jumlah tunas per eksplan sebesar 3,00 meskipun tidak berbeda nyata dengan nodus aksilar 3 dengan jumlah tunas sebesar 2,70. Rata-rata jumlah tunas per eksplan masih rendah jika dibandingkan penelitian Sudarmonowati (2002: 6) dengan jumlah rata-rata tunas per eksplan mencapai 3,19 tunas pada ubi kayu genotipe Mentega 2. Perbedaan tersebut kemungkinan karena konsentrasi BAP yang digunakan pada penelitian Sudarmonowati lebih tinggi, yaitu 2 mg l^{-1} BAP sehingga lebih banyak tunas yang terbentuk. Pada nodus aksilar 1, rata-rata jumlah tunas menurun, yaitu sebesar 1,60 dan mencapai 0,78 tunas per eksplan pada nodus apikal.

Jumlah tunas per eksplan terus mengalami kenaikan dari nodus apikal sampai nodus aksilar 4 (Gambar 4.3.(1)). Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin jauh nodus dari pucuk, penambahan sitokinin BAP pada medium mampu lebih aktif menginduksi pembentukan tunas. Semakin aktif kinerja BAP disebabkan oleh konsentrasi auksin yang semakin rendah pada nodus aksilar 4. Seperti yang dinyatakan oleh Beck (2010: 89) bahwa sistem transport auxin secara basipetal menyebabkan terjadinya gradien konsentrasi auksin yang berbeda-beda pada nodus apikal dan nodus aksilar yang akan semakin rendah konsentrasinya saat nodus semakin jauh dari pucuk. Selanjutnya, menurut Nagarathna *dkk.* (2010: 87) keberadaan auksin yang tinggi akan menghambat kerja sitokinin yang berperan dalam proses percabangan, terutama pada bagian apikal. Hal tersebut yang menjadi alasan jumlah tunas majemuk dari nodus apikal lebih sedikit dibandingkan pada nodus aksilar. Meskipun rata-rata tunas per eksplan nodus aksilar 4 memiliki jumlah yang paling besar, berdasarkan nilai standar deviasi, nodus aksilar 4 memiliki nilai standar deviasi yang paling tinggi (0,67) dibandingkan nodus aksilar yang lain. Standar deviasi memberikan gambaran penyimpangan tiap nilai hasil pengamatan terhadap rata-rata suatu distribusi.

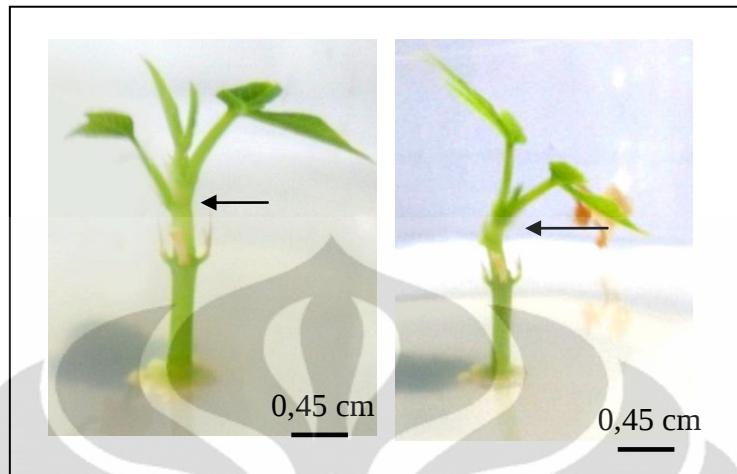
Semakin kecil suatu standar deviasi, maka tingkat penyimpangan semakin rendah, dan tingkat keseragaman semakin tinggi. Hal tersebut berarti bahwa meskipun nodus aksilar 4 mampu menghasilkan tunas yang lebih banyak, jumlah tunas yang dihasilkan masih belum seragam jika dibandingkan nodus apikal dan aksilar yang lain. Berdasarkan hal tersebut maka analisis beberapa faktor pertumbuhan lain seperti tinggi tunas, waktu tumbuh tunas, jumlah dan panjang daun perlu diamati.



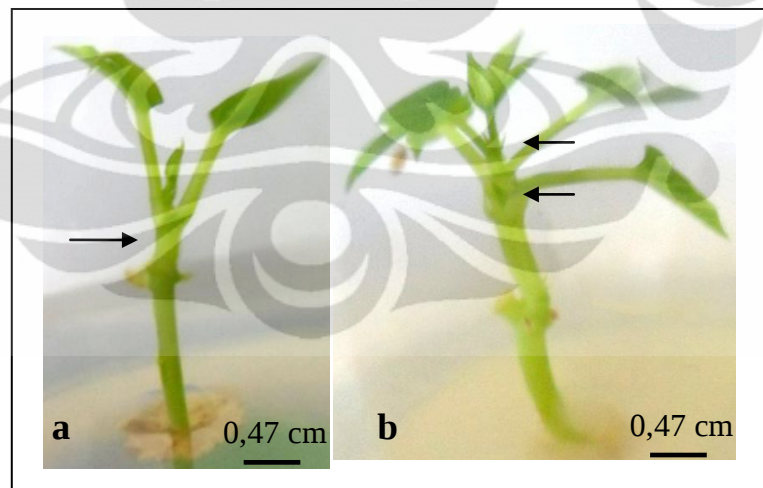
*Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Gambar 4.3.(1) Diagram perbandingan jumlah tunas per eksplan ubi kayugenotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

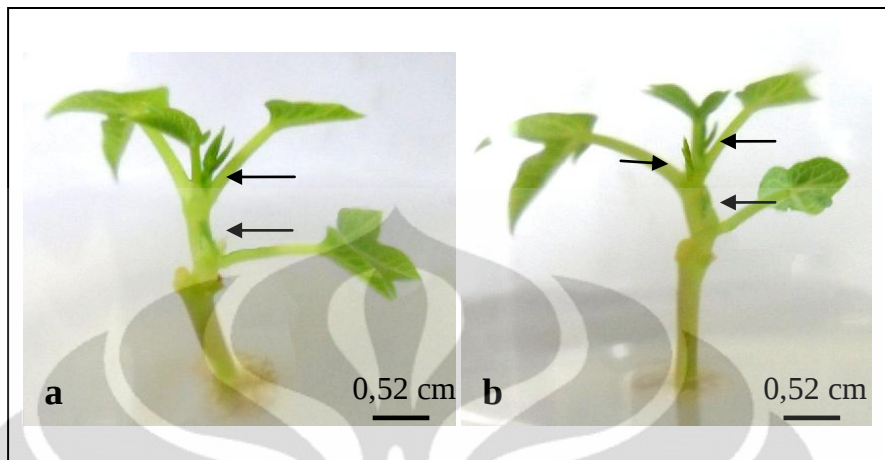
Jumlah maksimal tunas yang dapat diinduksi pada setiap nodus berbeda-beda. Pada nodus apikal, jumlah tunas maksimal yang diperoleh adalah 1 tunas dengan peluang 100% (7 dari 7 eksplan) (Gambar 4.3.(2)). Jumlah tunas maksimal per eksplan yang diperoleh nodus aksilar 1 adalah 2 tunas dengan peluang 60% (6 dari 10 eksplan) (Gambar 4.3.(3)). Selanjutnya, jumlah maksimal tunas sebanyak 3 tunas terdapat pada nodus aksilar 2 dengan peluang 37,5 % (3 dari 8 eksplan) (Gambar 4.3.(4)) dan nodus aksilar 3 dengan peluang 70% (7 dari 10 eksplan) (Gambar 4.3.(5)). Jumlah tunas maksimal sebanyak 4 tunas hanya terdapat pada nodus aksilar 4 dengan peluang tumbuh tunas sebesar 20 % (2 dari 10 eksplan) (Gambar 4.3.(6)).



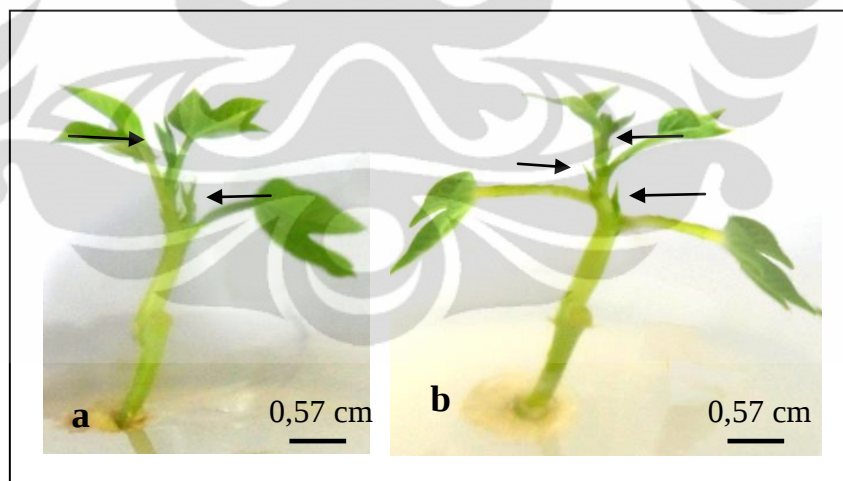
Gambar 4.3.(2) Tunas nodus apikal ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan satu tunas. (→ : tunas)



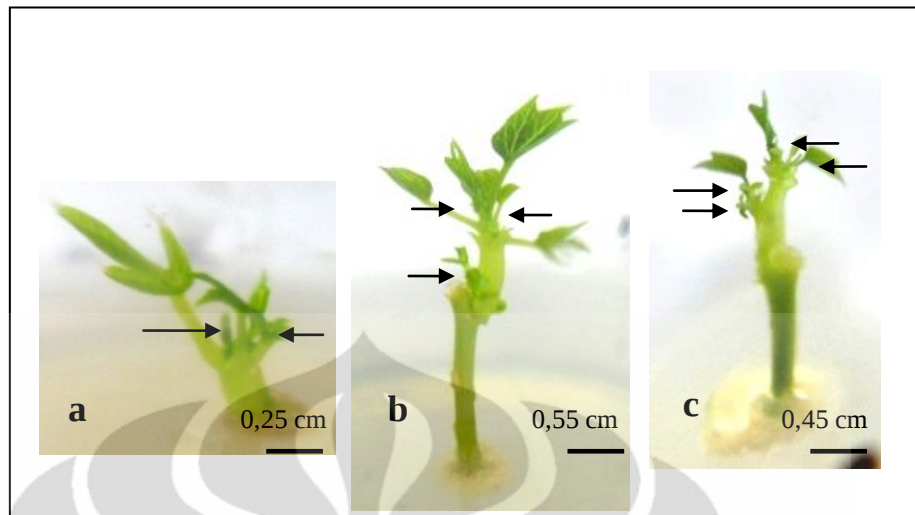
Gambar 4.3.(3) Tunas nodus aksilar 1 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) satu tunas dan (b) dua tunas. (→ : tunas)



Gambar 4.3.(4) Tunas nodus aksilar 2 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas dan (b) tiga tunas. (→ : tunas)



Gambar 4.3.(5) Tunas nodus aksilar 3 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas dan (b) tiga tunas. (→ : tunas)



Gambar 4.3.(6) Tunas nodus aksilar 4 ubi kayu genotipe Ubi Kuning dengan (a) dua tunas, (b) tiga tunas, dan (c) empat tunas. (→ : tunas)

Meskipun tunas per eksplan yang berhasil diinduksi relatif seragam, namun jumlah maksimal tunas per eksplan masih rendah (4 tunas per eksplan) jika dibandingkan dengan penelitian Fauzi (2010: 31) yang mampu menginduksi pertumbuhan maksimal 5 tunas per eksplan. Perbedaan jumlah maksimal tunas yang dihasilkan dari penelitian Fauzi kemungkinan disebabkan faktor genotipe dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Fauzi melakukan penelitian menggunakan ubi kayu genotipe Adira II yang ditanam pada medium MS + 3 mg l⁻¹ BAP. Penggunaan BAP yang tinggi memungkinkan terinduksinya tunas majemuk yang lebih banyak. Oleh karena itu, diperlukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan konsentrasi BAP yang lebih baik dengan tetap memperhatikan keseragaman eksplan.

4.3.2 Hari tumbuh tunas

Grafik yang menunjukkan waktu munculnya tunas pada nodus apikal dan aksilar dapat dilihat pada Gambar 4.3.2.(1). Pertumbuhan tunas mulai tampak pada 1 MST di semua nodus aksilar, sedangkan pertumbuhan tunas apikal baru terlihat pada awal 2 MST. Berdasarkan data pengamatan, nodus yang paling cepat pertumbuhannya adalah nodus aksilar 2 dan 3, dimana tunas pertama sudah

mulai tumbuh pada hari ke-2 setelah penanaman. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Fauzi (2010: 30&31) yang menyatakan bahwa kemampuan eksplan ubi kayu memunculkan tunas pertama tercepat yaitu pada hari ke-2 setelah penanaman.

Fenomena lain terjadi pada nodus aksilar 1 dan 4. Nodus-nodus tersebut termasuk nodus aksilar yang paling lama tumbuh tunasnya jika dibandingkan nodus aksilar lain. Pada nodus aksilar 1, tunas tercepat tumbuh pada hari ke-4 setelah penanaman sedangkan pada nodus aksilar 4 terjadi pada hari ke-5 setelah penanaman (Lampiran 2).

Cepatnya respon pertumbuhan yang terjadi pada nodus aksilar 3 dibandingkan nodus apikal dan aksilar lain kemungkinan terkait dengan penambahan sitokinin sintetik berupa BAP, sehingga konsentrasi sitokinin pada nodus aksilar 3 lebih tinggi dan mencapai titik keseimbangan hormon auksin dan sitokinin di dalam tanaman. Keseimbangan rasio hormon endogen dan eksogen yang kemungkinan lebih baik pada nodus aksilar 3 menyebabkan tunas-tunas yang terdapat pada nodus aksilar 3 lebih cepat terinduksi dibandingkan tunas lain. Keseimbangan antara hormon sitokinin dan auksin sangat diperlukan untuk memacu terjadinya pertumbuhan tunas, dimana konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibutuhkan untuk pertumbuhan tunas majemuk (George *dkk.* 2008: 219). Sebaliknya, respon pertumbuhan tunas yang paling lambat terjadi pada nodus apikal. Kondisi tersebut disebabkan konsentrasi auksin endogen yang cukup tinggi pada nodus apikal dibandingkan nodus aksilar. Hal tersebut sesuai dengan yang dinyatakan oleh George *dkk.* (2008: 219) bahwa keberadaan hormon auksin yang tinggi dapat menghambat kinerja sitokinin sehingga mengakibatkan proses pertumbuhan terhambat.

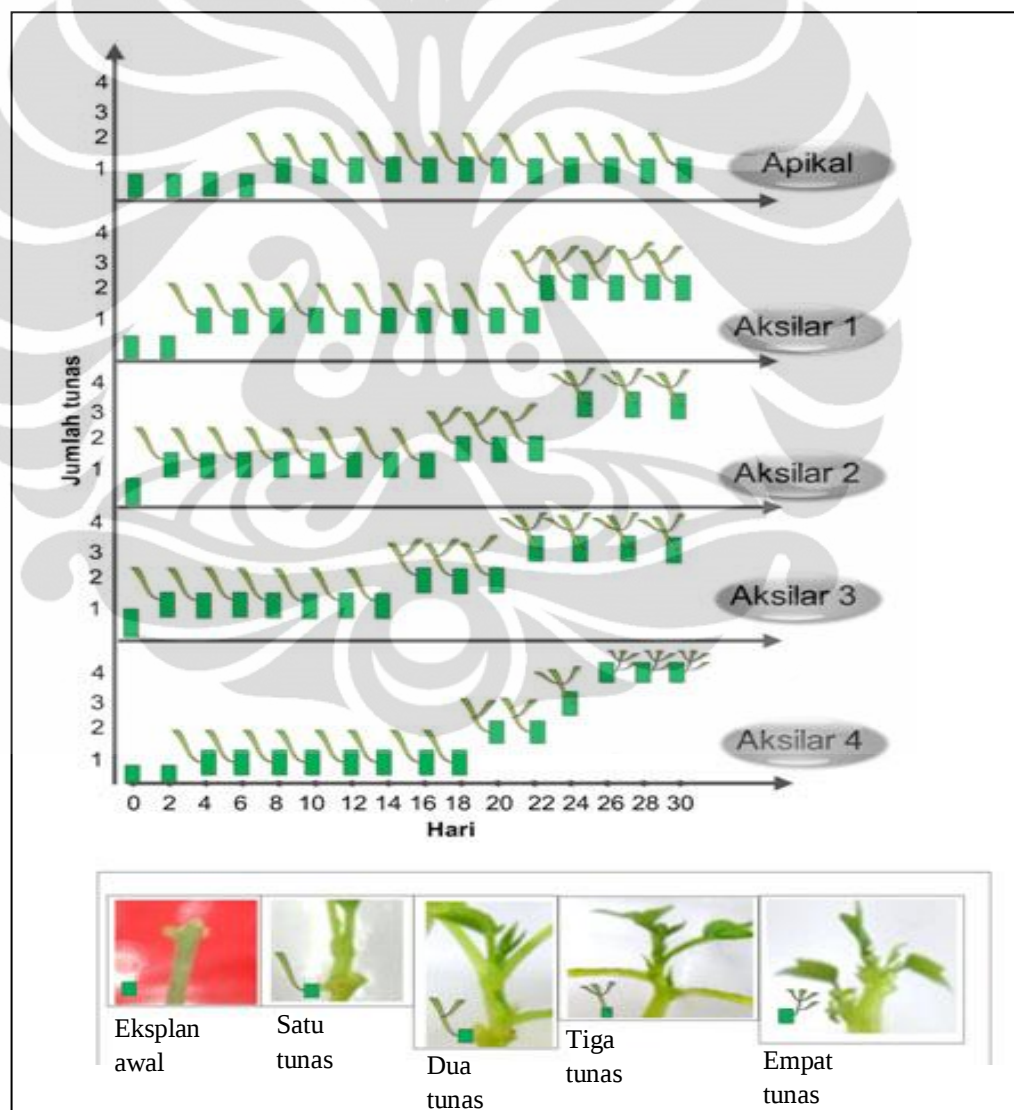
Selain keseimbangan rasio auksin dan sitokinin, perbedaan hari tumbuh tunas juga mungkin disebabkan oleh perbedaan posisi nodus yang mengindikasikan perbedaan fase perkembangan dari eksplan (Dun *dkk.* 2006: 816). Nodus aksilar 3 merupakan nodus tengah yang kemungkinan berada dalam fase pertumbuhan aktif sehingga sel-selnya memiliki responsivitas yang lebih tinggi terhadap sinyal pertumbuhan. Sebaliknya, nodus aksilar 4 yang memiliki hari tumbuh tunas lebih lama disebabkan karena fase perkembangan tunas yang

telah memasuki masa dormansi sehingga membutuhkan waktu inisiasi untuk membentuk tunas (Dun *dkk.* 2006: 816). Hal tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian yang diperoleh oleh Fauzi (2010: 31), bahwa posisi nodus yang paling responsif untuk tumbuh cepat pada kultur ubi kayu adalah nodus ke- 2--4. Hasil tersebut diperkuat oleh Sudarmonowati *dkk.* (2002: 8) dan George *dkk.* (2008: 378) yang menyatakan bahwa eksplan berupa nodus tengah merupakan eksplan yang paling baik untuk induksi tunas pada teknik nodus tunggal.

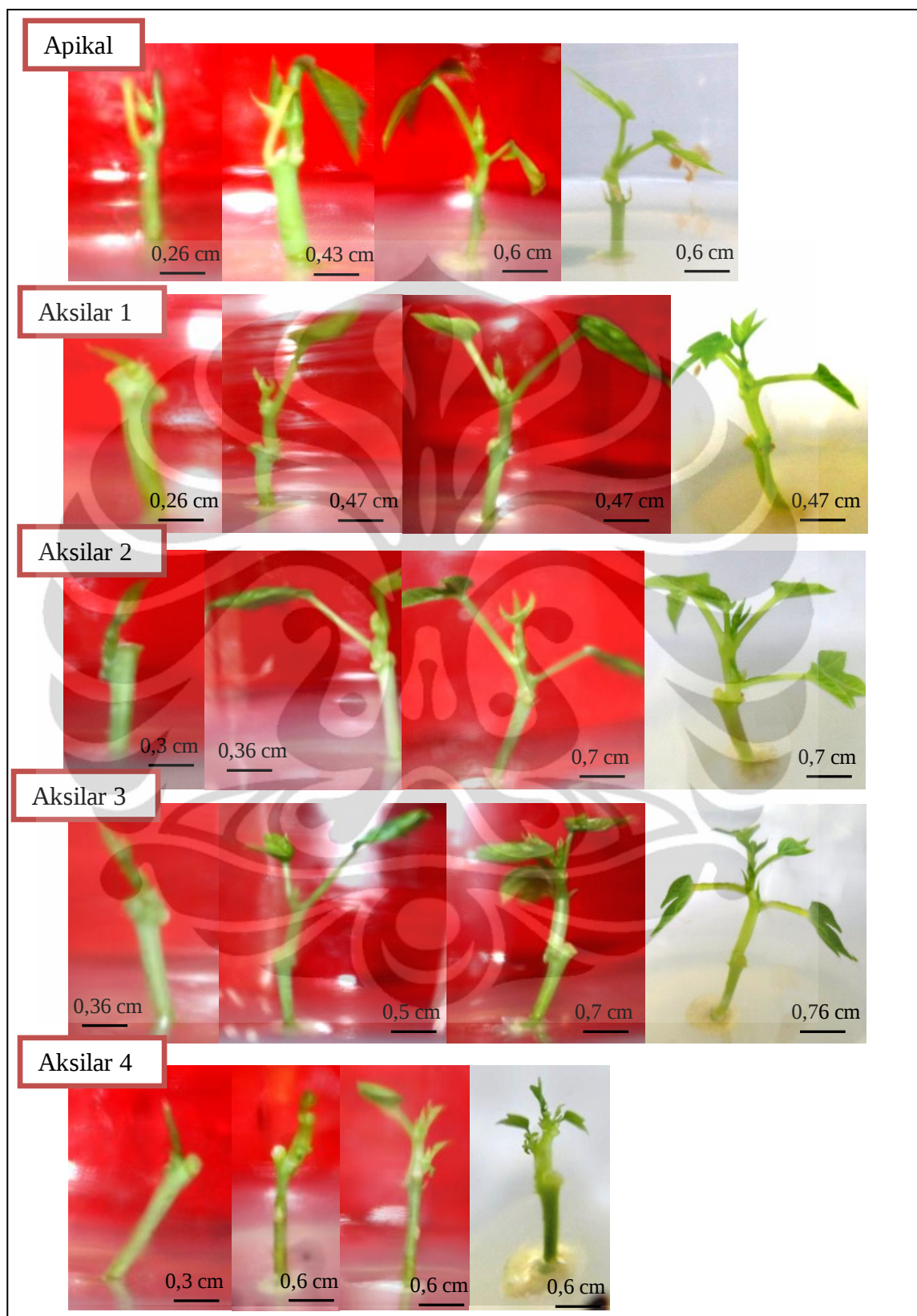
Pertumbuhan tunas majemuk hanya terjadi pada nodus aksilar, sedangkan nodus apikal hanya mampu membentuk tunas tunggal yang baru muncul setelah 2 MST. Keadaan tersebut disebabkan kondisi eksplan pada nodus apikal yang membutuhkan waktu lebih lama untuk proses inisiasi tunas. Tidak terbentuknya tunas majemuk pada nodus apikal terkait dengan adanya fenomena dominansi apikal. Nodus apikal akan cenderung tetap mempertahankan pertumbuhan tunas apikal yang terus memanjang ke atas (Salisbury & Ross 1995: 46) dibandingkan dengan pembentukan tunas samping meskipun telah diberikan sitokinin eksogen.

Selanjutnya, pembentukan tunas majemuk pada nodus aksilar rata-rata terjadi pada 3 MST, meski terdapat pembentukan tunas yang paling cepat pada nodus aksilar 3, yaitu pada 2 MST yang membentuk dua tunas. Pertumbuhan tunas majemuk tersebut sesuai dengan hasil penelitian Sudarmonowati *dkk.* (2002: 8) yang menyatakan bahwa pertumbuhan tunas majemuk tercepat mulai muncul pada 2 MST. Tunas majemuk ketiga pada nodus aksilar 3 mulai tumbuh pada awal 3 MST. Pertumbuhan tunas majemuk pada nodus aksilar 2 tidak jauh berbeda dengan nodus aksilar 4 dimana pertumbuhan majemuk dua tunas terjadi pada 3 MST. Meski demikian, terdapat dua nodus aksilar 4 yang mampu menumbuhkan tunas majemuk ketiga sekaligus pada 3 MST dan pertumbuhan tunas majemuk pada nodus aksilar 4 terus bertambah hingga mencapai maksimal empat tunas pada 4 MST. Pertumbuhan tunas majemuk pada nodus aksilar 1 membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan nodus aksilar yang lain. Hal tersebut ditunjukkan dengan pertumbuhan tunas majemuk kedua yang baru muncul pada 4 MST (Lampiran 3). Pertumbuhan tunas pada nodus apikal dan aksilar selama 4 MST dapat dilihat pada Gambar 4.3.2.(2)

Pembentukan tunas majemuk yang baru muncul pada 3 MST memiliki jarak yang cukup jauh dibandingkan pembentukan tunas pertama yang muncul pada 1 MST. Waktu yang cukup lama dari pembentukan tunas majemuk tersebut dikarenakan tunas pertama yang muncul pada 1 MST memerlukan waktu untuk melakukan pertumbuhan hingga mencapai ukuran tertentu sebelum akhirnya melanjutkan proses diferensiasi dengan membentuk tunas majemuk. Hal tersebut sesuai dengan teori yang dinyatakan oleh Salisbury & Ross (1995: 4) bahwa sel yang sudah melakukan pembelahan, akan tumbuh sampai pada massa dan volume tertentu sebelum akhirnya terspesialisasi atau terdiferensiasi.



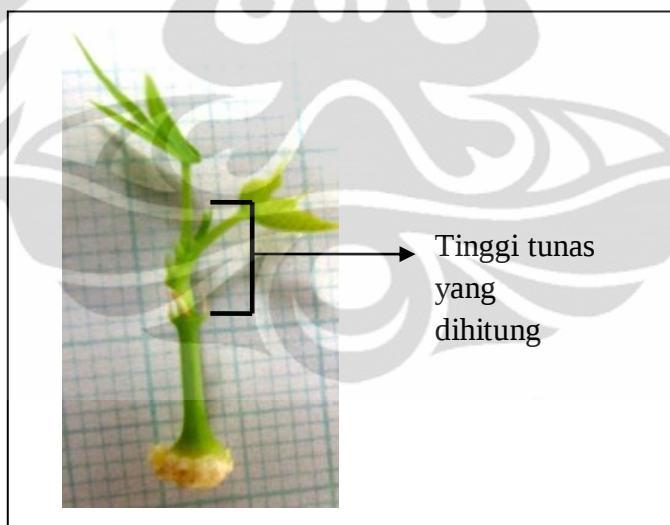
Gambar 4.3.2(1) Grafik pertumbuhan tunas majemuk eksplan nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST.



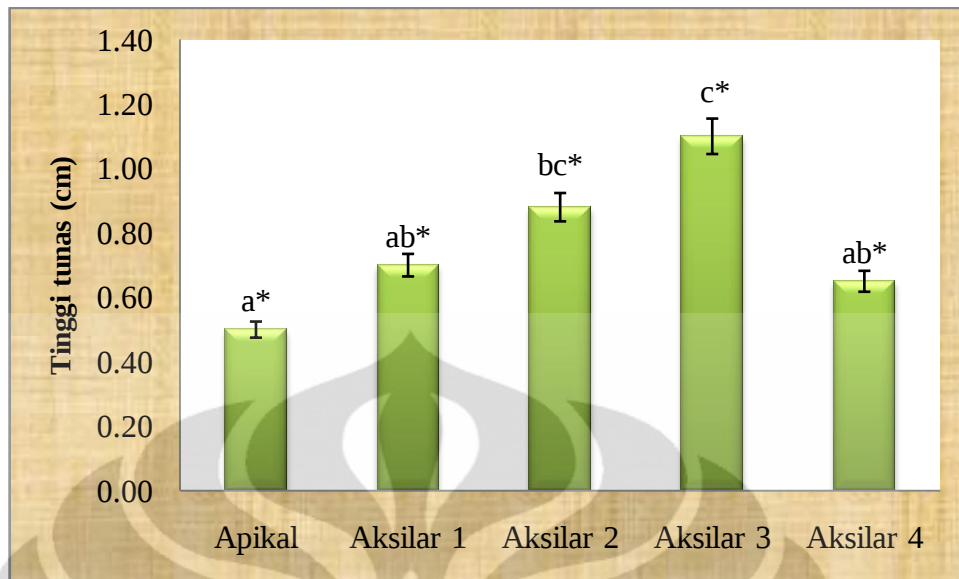
Gambar 4.3.2.(2) Pertumbuhan tunas eksplan nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST.

4.3.3 Tinggi tunas

Tinggi tunas apikal dan aksilar yang tumbuh pada 4 MST juga merupakan salah satu parameter kuantitatif yang diukur. Tinggi tunas diukur dari pangkal sampai pucuk tunas menggunakan milimeterblok (Gambar 4.3.3.(1)). Hasil uji ANOVA terhadap data tinggi tunas per eksplan Ubi Kuning pada nodus apikal dan empat nodus aksilar berbeda nyata. Pengujian lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada tinggi tunas antara nodus apikal dan empat nodus aksilar (Tabel 4.3.(2)). Rata-rata tinggi tunas terbesar ditunjukkan oleh tunas majemuk yang berasal dari nodus aksilar 3 sebesar 1,10 cm namun tidak berbeda nyata dengan nodus aksilar 2 dengan rata-rata tinggi tunas sebesar 0,88 cm. Rata-rata tinggi tunas terkecil ditunjukkan oleh nodus apikal sebesar 0,50 cm. Diagram perbandingan nilai rata-rata tinggi tunas pada tunas apikal dan aksilar dapat dilihat pada Gambar 4.3.3.(2).



Gambar 4.3.3.(1) Cara penghitungan tinggi tunas pada eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning



Gambar 4.3.3.(2) Diagram perbandingan tinggi tunas per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

Tingginya laju pertambahan panjang tunas (tinggi tunas) pada nodus aksilar 2 dan 3 dapat disebabkan karena sel-sel nodus yang lebih responsif terhadap sinyal pertumbuhan dibandingkan dengan nodus apikal dan aksilar lain. Berbeda halnya dengan nodus aksilar 1 dimana tinggi tunas semakin menurun pada posisi nodus yang semakin dekat dengan pucuk. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena umur nodus yang lebih muda dibandingkan dengan nodus aksilar 3, sehingga sel-sel yang menyusun nodus tersebut memiliki pertumbuhan tinggi yang lambat. Nutrisi yang diserap oleh jaringan di dalam nodus aksilar 1 dimaksimalkan terlebih dahulu untuk mematangkan sel-sel dalam nodus. Sebaliknya, rendahnya tinggi tunas yang terjadi pada nodus aksilar 4 disebabkan karena sel-sel yang menyusun nodus aksilar 4 kemungkinan sudah lebih dewasa dan telah memasuki masa dormansi sehingga laju pertumbuhannya tidak sebaik nodus aksilar lainnya.

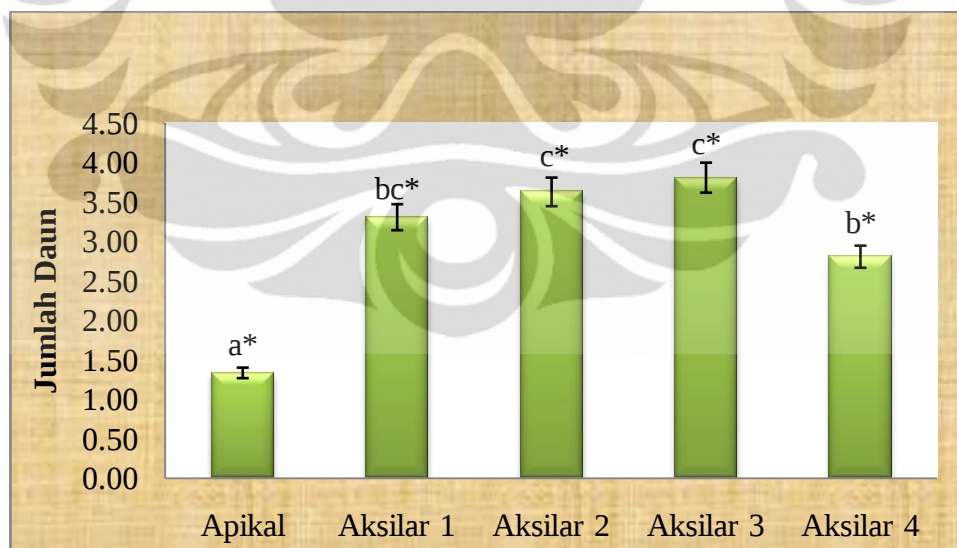
Rata-rata tinggi tunas terendah dimiliki oleh nodus apikal. Hasil tersebut berbeda dengan yang dilaporkan oleh Zulfiqar *dkk.* (2009: 2338) bahwa tunas yang dihasilkan nodus apikal pada *P. americana* lebih tinggi dibandingkan dengan nodus aksilar lain dikarenakan konsentrasi hormon auksin endogen pada apikal yang lebih tinggi. Seperti yang dinyatakan oleh George *dkk.* (2010: 176)

bahwa hormon auksin memiliki peran dalam kontrol elongasi sel. Kondisi yang berbeda tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu konsentrasi BAP yang diberikan terlalu tinggi sehingga keseimbangan hormon auksin dan sitokinin tidak tercapai, justru menghambat pertumbuhan tunas baik jumlah maupun tinggi tunas. Selain itu, kemungkinan sel-sel meristem yang menyusun nodus apikal masih relatif terlalu muda, sehingga respon yang diberikan untuk pertumbuhan belum optimal. Hal tersebut ditegaskan oleh George *dkk.* (2010: 365) bahwa dalam kultur *in vitro*, sel-sel meristem yang terlalu muda masih membutuhkan waktu inisiasi untuk membuat sel-sel tersebut kompeten terhadap sinyal pertumbuhan yang diberikan dari luar.

4.3.4 Jumlah daun

Pembentukan daun relatif cepat, yaitu pada awal 2 MST. Daun yang dihitung merupakan daun yang telah terbuka penuh dan yang masih menempel pada tunas. Tidak semua eksplan tumbuh daun. Hanya eksplan yang bertunas yang menumbuhkan daun. Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data jumlah daun per eksplan Ubi Kuning pada nodus apikal dan empat nodus aksilar berbeda nyata. Pengujian lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada jumlah daun antara nodus apikal dan empat nodus aksilar (Tabel 4.3.(2)). Berdasarkan tabel tersebut, jumlah rata-rata daun per eksplan paling banyak ditunjukkan pada nodus aksilar 3 meskipun tidak berbeda nyata dengan nodus aksilar 1 dan 2. Rata-rata jumlah daun per eksplan tertinggi pada nodus aksilar 3 dengan rata-rata jumlah daun per eksplan sebesar 3,80 lebih besar dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Onuoch & Onwubiku (2007: 1230) yang menghasilkan jumlah rata-rata daun per eksplan sebesar 3,43 dan Fauzi (2010: 33) dengan jumlah rata-rata 2,27. Nodus aksilar 1 dan 4 menunjukkan pertumbuhan jumlah daun yang tidak berbeda nyata yaitu sebesar 3,30 dan 2,80. Pertumbuhan jumlah daun paling sedikit ditunjukkan oleh nodus apikal, yaitu sebesar 1,33 daun per eksplan. Berdasarkan data yang diperoleh, rata-rata jumlah daun semakin meningkat dari nodus apikal sampai nodus aksilar 3. Selanjutnya, produksi jumlah daun per eksplan mengalami penurunan pada

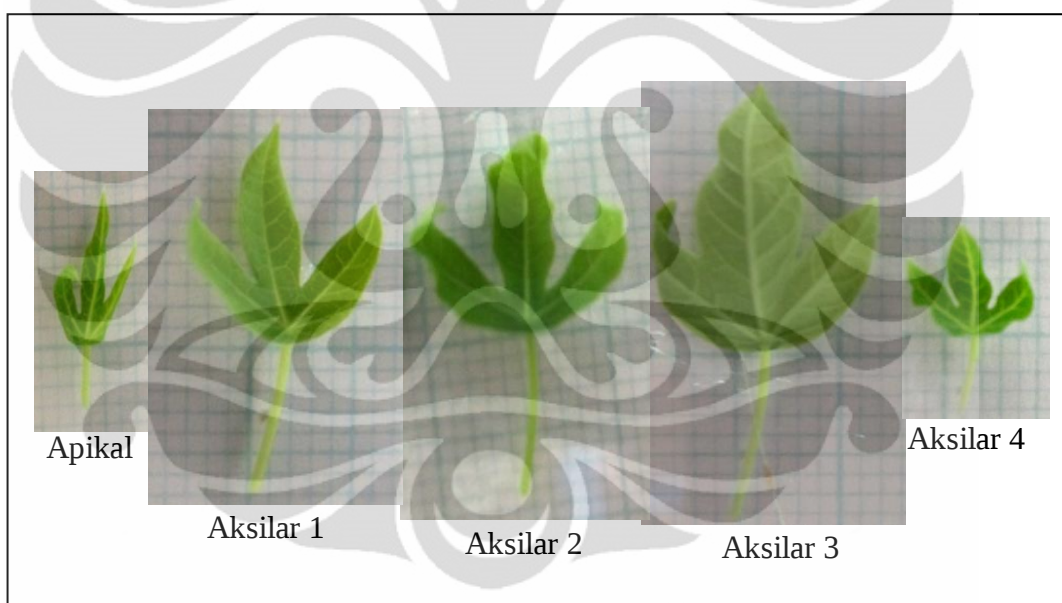
nodus aksilar 4 (Gambar 4.3.4). Banyaknya jumlah daun per eksplan pada tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan tunas yang baik. Hal tersebut dikarenakan daun merupakan organ utama tumbuhan melakukan proses fotosintesis untuk menghasilkan energi (Beck 2010: 324). Seperti yang telah dinyatakan oleh Shani *dkk.* (2010: 3206) bahwa pembentukan daun merupakan proses yang fleksibel tergantung pada genetik, hormonal, dan lingkungan. Hal tersebut terkait dengan pemberian sitokinin eksogen berupa BAP pada medium. Selanjutnya pembentukan daun terkait pemberian sitokinin eksogen dijelaskan oleh Polanska *dkk.* (2006: 637) yang menyatakan bahwa sitokinin memiliki peran dalam perkembangan kloroplas dari proplastid dengan cara merangsang sintesis klorofil. Pemberian sitokinin dengan konsentrasi yang sama pada semua eksplan ternyata memberikan respon yang berbeda. Hal tersebut berarti bahwa respon yang dihasilkan tidak hanya tergantung pada konsentrasi ZPT eksogen yang diberikan, namun juga kondisi fisiologis eksplan yang berbeda-beda terkait konsentrasi hormon endogen yang ada di dalam eksplan (Onuoch & Onwubiku 2007: 1231).



Gambar 4.3.4 Perbandingan jumlah daun per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

4.3.5 Panjang daun

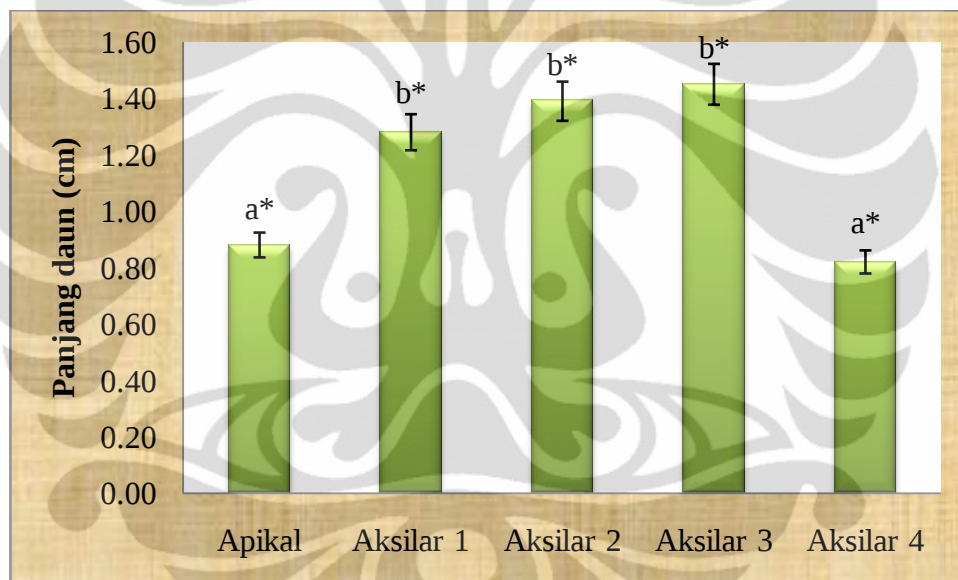
Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data panjang daun per eksplan Ubi Kuning pada nodus apikal dan empat nodus aksilar berbeda nyata. Pengujian lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada panjang daun antara nodus apikal dan empat nodus aksilar (Tabel 4.3.(2)). Panjang daun dihitung berdasarkan panjang lamina dan petiolus pada daun. Berdasarkan tabel tersebut, rata-rata panjang daun terbesar ditunjukkan oleh nodus aksilar 3 (1,45 cm) namun tidak berbeda nyata dengan nodus aksilar 1 (1,28 cm) dan 2 (1,39 cm), sedangkan rata-rata panjang daun terkecil ditunjukkan oleh nodus aksilar 4 (0,82 cm) dan nodus apikal (0,88 cm) (Gambar 4.3.5.(1)).



Gambar 4. 3.5.(1) Variasi panjang daun pada tunas nodus apikal dan aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pada akhir 4 MST.

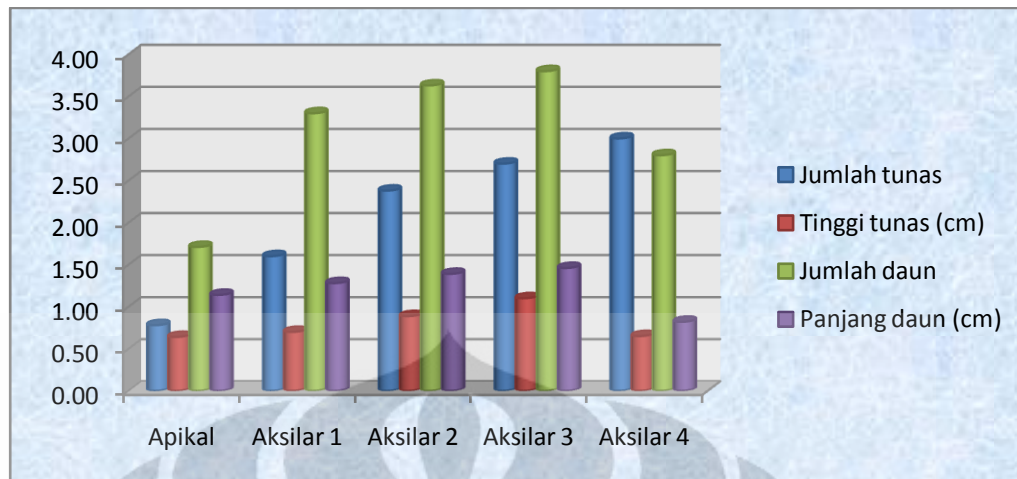
Panjang daun memiliki hubungan dengan jumlah daun pada eksplan. Panjang daun berdasarkan diagram meningkat dari nodus apikal sampai nodus aksilar 3 kemudian menurun pada nodus aksilar 4 (Gambar 4.3.5.(2)). Hal tersebut juga ditunjukkan oleh diagram jumlah daun pada pembahasan sebelumnya. Dengan demikian, pembentukan daun yang lebih banyak pada nodus

aksilar 3 juga menghasilkan daun yang lebih panjang dibandingkan dengan nodus apikal dan aksilar lainnya. Hal tersebut dipengaruhi oleh keseimbangan antara hormon auksin dan sitokinin yang lebih baik pada nodus aksilar 3 sehingga pertumbuhan daun sangat baik dan menghasilkan rata-rata panjang daun terbesar. Sebaliknya, pada nodus aksilar 4, rata-rata panjang daun menurun kemungkinan dikarenakan konsentrasi sitokinin yang diberikan terlalu tinggi sedangkan konsentrasi auksin endogen yang dimiliki sangat rendah akibat letak nodus aksilar 4 yang sangat jauh dari pucuk. Selain itu, nodus aksilar 4 yang sel-selnya berusia lebih tua dibanding nodus apikal dan aksilar lain membuat kapasitas regenerasi dan pembelahan sel cenderung menurun.



Gambar 4.3.5.(2) Diagram perbandingan panjang daun per eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

Panjang daun pada setiap eksplannya bervariasi. Semakin jauh daun dari pucuk, panjang daun akan semakin besar. Hal tersebut dikarenakan daun yang paling jauh dari pucuk merupakan daun yang sudah dewasa, sedangkan daun pada pucuk merupakan daun muda yang masih akan terus tumbuh untuk mencapai panjang maksimal tertentu (Taiz & Zeiger 2002: 362).



Gambar 4.1.(3) Diagram perbandingan pertumbuhan eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas selama 4 MST.

Gambar 4.1.(3) merupakan diagram perbandingan pertumbuhan kuantitatif berdasarkan jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah dan panjang daun. Diagram tersebut menunjukkan bahwa semua nodus baik apikal maupun aksilar memiliki daya regenerasi yang cukup baik. Daya regenerasi yang baik tersebut disebabkan karena adanya proses inisiasi tunas untuk mendapatkan tunas steril dengan sifat sel-selnya yang *juvenil* (muda). Hal tersebut dinyatakan oleh George dkk. (2008: 405) bahwa untuk memperbanyak secara *in vitro*, eksplan yang berasal dari tanaman *juvenil* akan memberikan respon pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan eksplan yang berasal dari bagian tanaman yang sudah *mature* (dewasa).

Berdasarkan diagram tersebut dapat dilihat pula bahwa nodus aksilar 4 memiliki rata-rata jumlah tunas per eksplan yang paling tinggi namun tidak berbeda nyata dengan nodus aksilar 2 dan 3. Jika dibandingkan dengan parameter kuantitatif lain, respon pertumbuhan berupa tinggi tunas, waktu tumbuh tunas, jumlah dan panjang daun pada nodus aksilar 4 sangat rendah dibandingkan dengan nodus aksilar 2 dan 3, yang memiliki respon pertumbuhan paling cepat. Pada nodus aksilar 3, tunas yang dihasilkan sekitar 2--3 tunas selama 4 minggu memiliki pertumbuhan yang relatif lebih cepat, yaitu 3 hari untuk pertumbuhan tunas pertama jika dibandingkan dengan nodus aksilar 4 yang menghasilkan 2--4 tunas selama 4 minggu yang memerlukan waktu rata-rata 6 hari untuk pertumbuhan tunas pertama. Hal tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan

nodus aksilar 3 dua kali lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan nodus aksilar 4. Jika penanaman eksplan nodus aksilar 3 kembali dilakukan dengan jumlah dua kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan nodus aksilar 4, kemungkinan nodus aksilar 3 akan memberikan jumlah yang sama atau lebih banyak dengan kualitas pertumbuhan tunas yang lebih baik dari tunas pada nodus aksilar 4. Hal tersebut juga didukung oleh nilai standar deviasi rata-rata jumlah tunas per eksplan pada nodus aksilar 3 yang nilainya lebih kecil (0,48) daripada nodus aksilar 4 (0,67) sehingga tunas yang dihasilkan akan lebih seragam.

Selanjutnya berdasarkan hasil penelitian, nodus aksilar 2 dan 3 sama-sama memiliki potensi terbaik dalam respon pertumbuhan terhadap media induksi tunas yang dilihat dari nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata pada seluruh parameter kuantitatif. Hasil yang tidak berbeda nyata antara nodus aksilar 2 dan 3 mungkin disebabkan oleh konsentrasi hormon endogen dan sifat meristematik sel yang hampir sama pada kedua nodus tersebut. Hal tersebut juga ditunjang oleh posisi nodus aksilar 2 yang tidak jauh dari nodus aksilar 3 (sekitar 0,5--1,5 cm) pada tanaman induk, sehingga kemungkinan memiliki kondisi fisiologis yang hampir sama. Pada penelitian ini, nodus aksilar 2 dan 3 merupakan nodus tengah. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Bredmose dan Hansen (1996: 218) pada tanaman *Rosa hybrida* dengan tujuh seri nodus yang menghasilkan bahwa pertumbuhan terbaik ditunjukkan oleh nodus tengah (nodus 2--6), sedangkan pertumbuhan paling lambat ditunjukkan oleh nodus aksilar 1 (nodus paling atas) dan nodus aksilar 7 (nodus paling bawah). Hal yang sama juga dinyatakan oleh George dkk. (2008: 379) bahwa nodus tengah memiliki respon pertumbuhan tunas yang paling baik, seperti pada kultur nodus tanaman tomat dengan enam seri nodus aksilar yang juga menunjukkan bahwa nodus tengah (nodus aksilar 4 dan 5) merupakan nodus yang paling baik respon pertumbuhannya. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa nodus yang paling baik dalam multiplikasi tunas Ubi Kuning adalah nodus tengah yang pada penelitian ini merupakan nodus aksilar 2 dan 3. Meski demikian, perlu dilakukan penelitian lanjutan pada nodus aksilar 2 dan 3 secara *in vitro* sampai proses aklimatisasi untuk mengetahui daya tumbuh tunas dan kemampuan *survive* di lapang.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Nodus apikal dan nodus aksilar ubi kayu genotipe Ubi Kuning memiliki kemampuan tumbuh yang baik pada media induksi tunas.
2. Perbedaan posisi nodus pada eksplan memberikan respon yang berbeda terhadap pertumbuhan tunas yang terbentuk dimana semakin jauh posisi nodus dari pucuk, pertumbuhan tunas akan semakin baik namun akan menurun kembali jika letak nodus terlalu jauh dari pucuk.
3. Nodus aksilar 2 dan 3 merupakan nodus yang paling responsif untuk multiplikasi tunas pada ubi kayu genotipe Ubi Kuning berdasarkan pertumbuhan secara kualitatif dan kuantitatif yang lebih baik dibandingkan nodus apikal maupun nodus aksilar lain.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian dengan jumlah seri nodus aksilar yang lebih banyak pada tanaman induk untuk melihat respon pertumbuhan nodus tengah.
2. Diperlukan percobaan induksi tunas dengan komposisi ZPT berbeda dengan tetap memperhatikan keseragaman eksplan.
3. Diperlukan pengamatan lebih lanjut pada tahap aklimatisasi planlet untuk melihat daya tumbuh tunas di lapang.

DAFTAR REFERENSI

- Acedo, V.Z. & C.U. Labana. 2008. Rapid propagation of released Philippine cassava varieties through tissue culture. *Journal of root crops*. 34(2): 108--114.
- Aduwo, J.R., E. Mwebaze & J. A. Quinn. 2010. *Automated vision-based diagnosis of cassava mosaic disease*. Makerere University. 1--9.
- Alves, A.A.C. 2002. *Botany and physiology*. Dalam: Hillock, R.J., J.M. Thresh & A.C. Belloti. 2002. *Cassava: biology, production, and utilization*. CABI publishing, New York: xi + 115 hlm.
- Anis, M., M. Faisal & S.K. Singh. 2003. Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through in vitro culture of shoot tip and nodal explants. *Plant tissue culture* 13(1): 47--51.
- Ambrosio, D. N., R. D. Clugston & W. S. Blaner. 2011. Vitamin A metabolism: an update. *Nutrients*. 3: 63--103.
- Arinaitwe, G., P.R. Rubaihayo & M.J.S. Magambo. 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. *Scientia horticulturae* 86:13--21.
- Atmarita. 2005. *Nutrition problems in indonesia*, An integrated international seminar and workshop on lifestyle-related disease. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 19--20 Maret: 14 hlm.
- Baig, M.M.Q., I.A. Hafiz, A. Hussain, T. Ahmad & N.A. Abbasi. 2011. An efficient protocol for *in vitro* propagation of *Rosa gruss an teplitz* and *Rosa centifolia*. *African journal of biotechnology*. 10(22): 4564--4573.
- Bajaj, Y.P.S. 1997. *Biotechnology in agriculture and forestry*. Scientific publishing service, Madras: xiii + 393 hlm.
- Beck, C. B. 2010. *An introduction to plant structure and development*. Cambridge University Press, Cambridge: xx + 441 hlm.
- Beyene, D. 2009. *Micropropagation of selected cassava varieties (Manihot esculenta Crantz) from meristem culture*. Thesis for master of science degree. Department of Biology, Faculty of Science, Addis Ababa University, Ethiopia: vii+46 hlm.

- Bhojwani, S.S. & M.K. Razdan. 1996. *Plant tissue cultures: theory and practice* (Rev. ed.). Elsevier Science, AMSTerdam: v + 767 hlm.
- Bredmose, N. & J. Hunsen. 1996. Topophysis affects the potential of axillary bud growth, fresh biomass accumulation and spesific fresh weight in single stem roses (*Rosa hybrida* L.). *Annals of botany*. **78**: 215--222.
- Cheema, K.L. & M. Hussain. 2004. Micropropagation of surgance through apical bud and axillary bud. *International journal of agriculture & biology*. **06**(2). 257--259.
- Davey, M.R. & P. Anthony. 2010. *Plant cell culture*. Wiley-Blackwell Publishing, Hoboken: xiii + 338 hlm.
- Domagalska, M. A & O. Leyser. 2011. Signal integration in the control of shoot branching. *Nature reviews molecular cell biology*. **12**: 211--221.
- Dun, A., B.J. Ferguson & C.A. Beveridge. 2006. *Apical dominance and shoot branching: divergent opinions or divergent mechanisms*. The University of Queensland, Quennsland: 695--672.
- Effendi, S. 2002. Teknik perbanyakn bibit ubi kayu secara mudah dan murah. *Buletin teknik pertanian* 7(2): 66--68.
- Ekanayake, I.J., D.S.U. Osiru & M.C.M. Porto. 1997. Morphological cassava. Agustus: 10 hlm. http://old.iita.orgcmsdetailstrn_matirg61irg611.html. , 25 Maret 2011, pk. 10:30.
- Esyanti, R. R. & A. Muspiah. 2006. Produksi ajmalisin dari kultur agregat sel *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Dalam bioreaktor *airlift*. *Hayati*. **13**(4): 161--165.
- Fauzi, A. R. 2010. *Induksi multiplikasi tunas ubi kayu (Manihot esculenta Crantz) varietas Adira 2 secara in vitro*. Skripsi Sarjana. Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor: xiii+66 hlm.
- Ferguson, B. J. & C. A. Beveridge. 2009. Roles of auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant physiology*. **149**: 1929--1944.
- Fregene, M., J.A. Ospina & W. Roca. 1999. Recovery of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) plants from culture of immature zygotic embryos. *Plant cell tissue organ culture* 55:39--43.

- Gati, E. M., S. P. Lekkala, N. Resnick, S. Wininger, C. Bhattacharya, J. H. Lemcoff, Y. Kapulnik, & H. Koltai. 2010. Strigolactone are positive regulators of light-harvesting genes in tomato. *Journal of experimental botany*. **61**(11): 3129--3136.
- George, E.F., M.A. Hall & G.D. Klerk. (Ed.). 2008. *Plant propagation by tissue culture (3rd ed)*. Springer, Wageningen: ix + 501 hlm.
- Goulet, C. & H. J. Klee. 2010. Climbing the branches of the strigolactones pathway one discovery at a time. *Plant physiology*. **154**: 493--496.
- Habiba, U., S. Reza, M. L. Saha, M. R. Khan & S. Hadiuzzaman. Endogenous bacterial contamination during in vitro culture of table banana: identification and prevention. *Plant tissue culture*. **12**(2): 117--124.
- Hassan, A. K. M. S., F. Afroz, M. A. A. Jahan & R. Khatun. 2009. In vitro regeneration through apical and axillary shoot proliferation of *Ficus religiosa* L. – a multi purpose woody medicinal plant. *Plant tissue culture & biotechnology*. **19**(1): 71--78.
- Hillocks, R.J., J.M. Thresh & A. Belloti. 2002. *Cassava biology, production and utilization*. Cabi publishing, London: xi + 319 hlm.
- Iliev, I., A. Gajdosova, G. Libiakova & S.M. Jain. 2010. Plant micropropagation. *Dalam*: Davey, M.R. & P. Anthony. 2010. *Plant cell culture*. Wiley-Blackwell, Loughorrough: 1--23.
- Kang, M. S. & P.M. Priyadarshan. 2007. *Breeding major food staples*. Blackwell publishing. Iowa: xiii + 437 hlm.
- Karkonen, A., A. Santanen, K. Iwamoto & H. Fukuda. 2011. Plant tissue cultures. *Dalam*: Popper, Z. A. 2011. *The plant cell wall*. Human press, London: 1--20.
- Kornerup, A & J. H. Wanscher. 1981. *Methuen handbook of colour*. Sankt Jergen Tryk Ltd, Copenhagen: 252 hlm.
- Konan, N.K., C. Schopke, R. Carcamo & R.N. Beachy. 1997. An efficient mass propagation system for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) based on nodal explants and axillary bud-derived meristems. *Plant cell reports* 16: 444--449.
- Li, H.Q., J.Y. Guo, Y. W. Huang, C. Y. Liang, H. X. Liu, I. Potrykus & J. Puontikaerlas. 1998. Regeneration of cassava plants via shoot organogenesis. *Plant cell report*. 17: 410--414.

- Mendoza de Gyvez, E., J.I. Royani & E. Ruggini. 2007. Efficient method of micropropagation and in vitro rooting of *Tectona grandis* L. focusing on large-scale industrial plantations. *EDP forest* 64: 73--78.
- Mohamed, M. F., P. E. Read & D. P. Coyne. 1992. Plant regeneration from in vitro culture of embryonic axis explants in common and tepary beans. *Journal of american society horticultural science*. 117(2): 332--336.
- Mussio, I. M.H. Chaput, I. Serraf, G. Ducreux & D. Sihachakr. 1998. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of an African clone of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and analysis of the conformity of regenerated plants. *Plant cell, tissue and organ culture*. 53: 205--211.
- Nagarathna, T.K., Y.G. Shadakshari, K.S. Jagadish & M.T. Sanjay. 2010. Interactions of auxin and cytokinins in regulating axillary bud formation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *HELIA*. 33(52): 85--94.
- Oliviera, R.G.A., M.J. Lucia de Calvarho, R. M. Nutti, L.V Jose de Calvarho & W.G. Fukuda. 2010. Assessment and degradation study of total karotenoid and B-carotene in bitter yellow cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. *African journal of food science*. 4(4): 148--155.
- Ongaro, L. & O. Leyser. 2007. Hormonal control of shoot branching. *Journal of experimental botany*. 59(1): 67--74.
- Onuoch, C.I. & N.I.C. Onwubiku. 2007. Micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using different concentration of benzylaminopurine (BAP). *Journal of engineering an applied sciences* 2(7): 1229--1231.
- Prasetyaningtyas, S.W. 2005. *Pertumbuhan tunas aksilar nodus kedua dan ketiga dari anak ranting bambu apus [Gigantochloa apus (J.A. & J.H. Schultes) kurz] dalam kultur in vitro*. Skripsi sarjana. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok: viii + 60 hlm.
- Priadi, D. H. Fitriani, & E. Sudarmonowati. 2007. Pertumbuhan *in vitro* tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) pada berbagai bahan pematat alternatif pengganti agar. *Biodiversitas*. 9(1): 9--12.
- Prusinkiewicz, P., R.S. Smith & O. Leyser. 2006. *Apical dominance model can generate basipetal patterns of bud activation*. University of Calgary: 1--5.

- Purwono & H. Purnamawati. 2007. *Budidaya 8 jenis tanaman pangan unggul*. Penebar Swadaya, Jakarta: 139 hlm.
- Puteri, G.A. 2009. *Analisis respon dan proyeksi penawaran ubi kayu Indonesia*. Skripsi sarjana. Departemen Ilmu Ekonomi Fakultas Ekonomi dan Manajemen, Institut Pertanian Bogor, Bogor: 108 hlm.
- Rani, S. & J. S. Rana. 2010. *In vitro* propagation of *Thylophora indica*-influence of explanting season, growth regulator synergy, culture passage and planting substrate. *Journal of american science*. **6**(12): 385--392.
- Ranola, R.F., R.B. Demafelis, E.D. Rosario, & B.G. bataller. 2009. Enhacing the viability of cassava feedstock for bioethanol in the philippines. *Journal of ISSAAS*. **15**(2): 147--158.
- Riyadi & J.S. Tahardi. 2009. Perbanyak *in vitro* tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) melalui tunas apikal dan aksilar. *Menara perkebunan*. **77**(1): 36--46.
- Roja, A. 2009. *Ubi kayu: Varietas dan teknologi budidaya*. Balai Pengkajian teknologi pertanian Sumatera Barat, Sukarami: 15 hlm.
- Rout, G. R., G. Das, S. Samantaray & P. Das. 2001. *In vitro* micropropagation of *Lawsonia inermis* (Lythraceae). *Revista de Biologia Tropical*. **49**(3): 957--963.
- Rustael, M., S. Nazeri, M. Ghadimzadeh & S. Hemmaty. 2009. Effect of Phloroglucinol, medium type and some component on *in vitro* proliferation of dwarf rootstock of apple (*Mallus domestica*). *International journal of agriculture & biology*. **11**(2): 193--196.
- Salisbury, F. B. & C. W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 3. Terj. *Plant physiology*, oleh, R. Lukman & Sumaryono. Penerbit ITB, Bandung: 16a+343 hlm.
- Santana, M.A., G. Romay, J. Matehus, J.L. Vicente-Villardón & J.R Demey. 2009. A simple and low-cost strategy for micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African journal of biotechnology*. **8**(16): 3789--3897.
- Shagufta, Naz. A. Ali, F.A. Siddiqui & J. Iqbal. 2001. *In vitro* propagation of gloxinia (*Sinningia speciosa*). *Pakistan journal of botany*. **33**: 576--579.

- Shani, E., H. Ben-Gera, S. Shleizer-Burko, Y. Burko, D. Weiss & N. Ori. 2010. Cytokinin regulates compound leaf development in tomato. *The plant cell*. **22**: 3206--3217.
- Srivastava, L. M. 2001. *Plant growth and development hormones and environment*. Academic Press, Florida: xix+408 hlm.
- Sudarmonowati, E., R. Hartati & T. Taryana. 2002. *Produksi tunas, regenerasi dan evaluasi hasil ubi kayu (Manihot esculenta) Indonesia asal kultur jaringan di lapang*. Puslit Bioteknologi Cibinong. 1--15.
- Taiz, L. & E. Zeiger. 2002. *Plant physiology*. Sinauer Association, Sunderland: ix + 690 hlm.
- Tang, W. & R.J. Newton. 2007. Micropropagation via organogenesis in slash pine. *Dalam*: Jain, S.M. & H. Haggman. 2007. *Protocols for micropropagation of woody trees and fruit*. Springer, Dordrecht: 15--22.
- Tribadi, Suranto, & Sajidan. 2010. Variation of morphological and protein pattern of cassava (*Manihot esculenta*) varieties of Adira 1 and Cabak makao in Ngawi, East Java. *Bioscience*. 2(1): 14--22.
- Villamour, C.C. 2010. Influence of medium strength and source of nitrogen on micropropagation of ginger, *Zingiber officinale* Rosc. *E-international scientific research journal*. 2(2): 150--155.
- Wetter, L. R. & F. Constabel. 1991. *Metode kultur jaringan*. Ed. Ke-2. Terj. *Plant tissue culture methodes*, oleh, M. B. Widiyanto. Penerbit ITB, Bandung: 13a + 191 hlm.
- Zulfiqar, B., N.A. Abbasi, T. Ahmad & I.A.A. Hafiz. 2009. Effect of explant sources and different concentrations of plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation and rooting of avocado (*Persea americana* Mill.). *Pakistan of journal botany*. 41(5): 2333--2346.

Lampiran 1

Methuen handbook of colour

Lampiran 2

Respon hari tumbuh tunas pertama eksplan eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pada akhir 4 MST.

botol	apikal tumbuh hari ke-	aksilar 1 tumbuh hari ke-	aksilar 2 tumbuh hari ke-	aksilar 3 tumbuh hari ke-	aksilar 4 tumbuh hari ke-
1	9	4	3	2	5
2	10	5	4	4	14
3	10	4	3	3	6
4	8	4	4	2	5
5	8	5	4	2	5
6	10	6	3	3	6
7	tidak tumbuh	7	2	3	7
8	tidak tumbuh	7	3	3	5
9	10	5	tidak tumbuh	3	5
10	tidak tumbuh	5	tidak tumbuh	2	6

Lampiran 3

Rata-rata respon hari tumbuh tunas majemuk eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning dalam media induksi tunas pada akhir 4 MST.

Perlakuan	tunas 1 Tumbuh hari ke-	tunas 2 Tumbuh hari ke-	tunas 3 Tumbuh hari ke-	tunas 4 Tumbuh hari ke-
Apikal	9 (2 MST)	-	-	-
Aksilar 1	2 (1 MST)	23 (4 MST)	-	-
Aksilar 2	3 (1 MST)	18 (3 MST)	25 (4 MST)	-
Aksilar 3	3 (1 MST)	17 (3 MST)	22 (4 MST)	-
Aksilar 4	6 (1 MST)	20 (3 MST)	23 (4 MST)	25 (4 MST)

Lampiran 4

Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Tujuan : untuk mengetahui normalitas data

Hipotesis :

$H_0(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

$H_0(2)$: data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(2)$: data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

$H_0(3)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(3)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

$H_0(4)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(4)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

Keterangan:

Nilai yang digunakan adalah $db = n = 47$, P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

(lanjutan)

Hasil perhitungan:

- A. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Jumlah Tunas	0,896	47	0,001

$P = 0,001 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

- B. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Tinggi Tunas	0,978	47	0,532

$P = 0,532 \rightarrow P > 0,05$, maka H_0 diterima

- C. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Jumlah Daun	0,873	47	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

(lanjutan)

D. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Panjang Daun	0,936	47	0,012

$P = 0,012 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

1. Data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal
2. Data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal
3. Data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal
4. Data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

Lampiran 5

Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Hipotesis :

$H_0(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen

$H_a(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

$H_0(2)$: data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen

$H_a(2)$: data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

$H_0(3)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen

$H_a(3)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

$H_0(4)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen

$H_a(4)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

Keterangan:

P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

(lanjutan)

Hasil perhitungan:

- A. Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Levene Statistic	df1	df2	P
0,332	4	42	0,855

$P = 0,855 \rightarrow P > 0,05$, maka H_0 diterima

- B. Uji homogenitas Levene terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Levene Statistic	df1	df2	P
0,332	4	42	0,880

$P = 0,880 \rightarrow P > 0,05$, maka H_0 diterima

- C. Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Levene Statistic	df1	df2	P
1,002	4	42	0,417

$P = 0,417 \rightarrow P > 0,05$, maka H_0 diterima

(lanjutan)

D. Uji homogenitas Levene terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Levene Statistic	df1	df2	P
5,955	4	42	0,001

$P = 0,001 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

1. Data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen
2. Data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen
3. Data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen
4. Data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

Keterangan:

1. Data tinggi tunas memenuhi syarat normalitas dan homogenitas. Oleh karena itu, pengujian dilanjutkan dengan uji parametrik, yaitu uji ANOVA.
2. Data jumlah tunas dan jumlah daun, tidak berdistribusi normal, tetapi bervariasi homogen, sedangkan data panjang daun tidak berdistribusi normal dan tidak bervariasi homogen. Oleh karena itu, data tersebut ditransformasi, kemudian diuji kembali.

Lampiran 6

Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap data jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
(Hasil transformasi data)

Tujuan : untuk mengetahui normalitas data

Hipotesis :

$H_0(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(1)$: data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

$H_0(2)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(2)$: data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

$H_0(3)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST berdistribusi normal

$H_a(3)$: data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

Keterangan:

Nilai yang digunakan adalah $db = n = 47$, $P = \text{probabilitas}$

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

(Lanjutan)

Hasil perhitungan:

- A. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap hasil transformasi data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Jumlah tunas	0,851	47	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

- B. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap hasil transformasi data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Jumlah Daun	0,730	47	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

- C. Uji normalitas Shapiro & Wilk terhadap hasil transformasi data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Shapiro-Wilk		
	<i>Statistic</i>	df	P
Panjang Daun	0,751	47	0,000

$P = 0,012 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

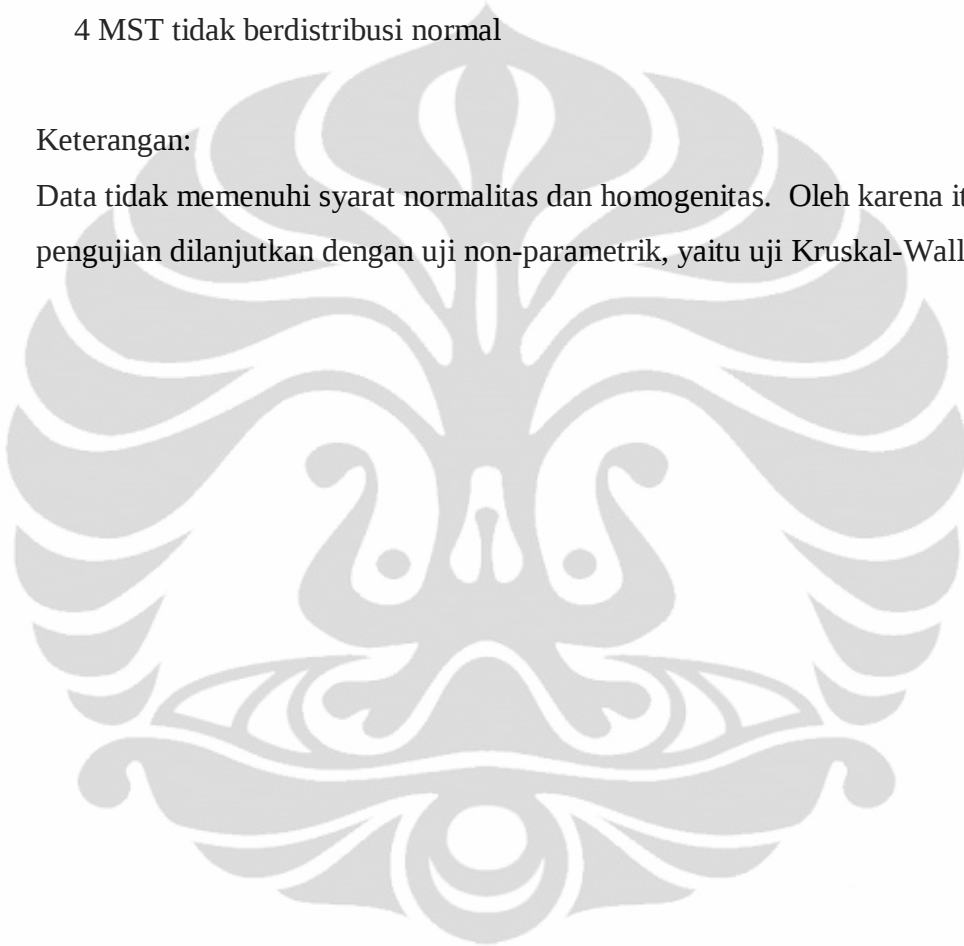
(lanjutan)

Kesimpulan:

1. Transformasi data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal
2. Transformasi data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal
3. Transformasi data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak berdistribusi normal

Keterangan:

Data tidak memenuhi syarat normalitas dan homogenitas. Oleh karena itu, pengujian dilanjutkan dengan uji non-parametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis.



Lampiran 7

Uji homogenitas Levene terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe

Ubi Kuning selama 4 MST

(Hasil transformasi)

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Hipotesis :

H_0 : Hasil transformasi data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST bervariasi homogen

H_a : Hasil transformasi data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

Keterangan:

P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Hasil perhitungan:

Uji homogenitas Levene terhadap transformasi data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Levene Statistic	df1	df2	P
10,969	4	42	0,001

$P = 0,001 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Transformasi data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST tidak bervariasi homogen

Keterangan:

Data tidak memenuhi syarat normalitas dan homogenitas. Oleh karena itu, pengujian dilanjutkan dengan uji non-parametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis.

Lampiran 8

Uji Kruskal-Wallis terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai rata-rata jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4)

Hipotesis :

$H_0(1)$: nilai rata-rata jumlah tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) tidak berbeda nyata

$H_a(1)$: nilai rata-rata jumlah tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

$H_0(2)$: nilai rata-rata jumlah daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) tidak berbeda nyata

$H_a(2)$: nilai rata-rata jumlah daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

$H_0(3)$: nilai rata-rata panjang daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) tidak berbeda nyata

$H_a(3)$: nilai rata-rata panjang daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

Keterangan: P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

(lanjutan)

Hasil perhitungan:

- A. Uji non-parametrik (Kruskal-Wallis) terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Jumlah tunas
<i>Chi-Square</i>	33,625
df	4
P	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

- B. Uji non-parametrik (Kruskal-Wallis) terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Jumlah daun
<i>Chi-Square</i>	26,673
df	4
P	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

(lanjutan)

C. Uji non-parametrik (Kruskal-Wallis) terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

	Panjang Daun
<i>Chi-Square</i>	26,704
df	4
P	0,000

$P = 0,000 \rightarrow P < 0,05$, maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

1. Nilai rata-rata nilai rata-rata jumlah tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata
2. Nilai rata-rata nilai rata-rata jumlah daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata
3. Nilai rata-rata nilai rata-rata panjang daun pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

Lampiran 9

Uji ANOVA terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai rata-rata tinggi tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4)

Hipotesis :

H_0 : nilai rata-rata tinggi tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) tidak berbeda nyata

H_a : nilai rata-rata tinggi tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

Keterangan: P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Hasil perhitungan:

Sumber Keragaman	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung	P
Perlakuan	4	2,048	0,512	7,926	0,000
Galat	42	2,714	0,065		
Total	46	4,762			

$P = 0,000$, $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Nilai rata-rata nilai rata-rata tinggi tunas pada berbagai perlakuan (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, dan Aksilar 4) berbeda nyata

Lampiran 10

Uji Duncan terhadap data data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

- Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
- Hipotesis :
- $H_0(1)$: terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
 - $H_a(1)$: tidak terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
 - $H_0(2)$: terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
 - $H_a(2)$: tidak terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
 - $H_0(3)$: terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
 - $H_a(3)$: tidak terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

(lanjutan)

$H_0(4)$: terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

$H_a(4)$: tidak terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Keterangan: P = probabilitas

Kriteria keputusan:

1. Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima
2. Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Hasil perhitungan:

A. Uji Duncan terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Jumlah tunas	N	$\alpha = 0,05$			
		a	b	c	d
Apikal	9	0,78			
Aksilar 1	10		1,60		
Aksilar 2	8			2,38	
Aksilar 3	10			2,70	2,70
Aksilar 4	10				3,00
P		1,000	1,000	0,195	0,231

*Nilai yang berada dalam kolom yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata $P > 0,005$, maka H_0 diterima

(lanjutan)

B. Uji Duncan terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Tinggi tunas	N	$\alpha = 0,05$		
		a	b	c
Apikal	9	0,5000		
Aksilar 1	10	0,7000	0,7000	
Aksilar 2	8		0,8875	0,8875
Aksilar 3	10			1, 1000
Aksilar 4	10	0,6500	0,6500	
P		0,115	0,062	0,078

*Nilai yang berada dalam kolom yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata $P > 0,005$, maka H_0 diterima

C. Uji Duncan terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Jumlah tunas	N	$\alpha = 0,05$		
		a	b	c
Apikal	9	1, 333		
Aksilar 1	10		3, 3000	3, 3000
Aksilar 2	8			3, 6250
Aksilar 3	10			3, 8000
Aksilar 4	10		2, 8000	
P		1,000	0,136	0,158

*Nilai yang berada dalam kolom yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata $P > 0,005$, maka H_0 diterima

(lanjutan)

D. Uji Duncan terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Jumlah tunas	N	$\alpha = 0,05$	
		a	b
Apikal	9	0,8833	
Aksilar 1	10		1,2800
Aksilar 2	8		1,3950
Aksilar 3	10		1,4570
Aksilar 4	10	0,8210	
P		0,652	0,231

*Nilai yang berada dalam kolom yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata $P > 0,005$, maka H_0 diterima

Kesimpulan:

1. Terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
2. Terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data tinggi tunas eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
3. Terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data jumlah daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST
4. Terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan nodus (Apikal, Aksilar 1, Aksilar 2, Aksilar 3, Aksilar 4) terhadap data panjang daun eksplan ubi kayu genotipe Ubi Kuning selama 4 MST

Lampiran 11

Data pengamatan pertumbuhan nodus apikal ubi kayu genotipe Ubi Kuning

Apikal	tumbuh tunas pada hari ke-				jumlah tunas				Tinggi tunas	jumlah daun				panjang daun			kalus			
														Daun ke-		rata-rata				
														1	2					
Minggu ke-	I	II	III	IV	I	II	III	IV	IV	I	II	III	IV				I	II	III	IV
1		9							1	0.7	1	2	2	1.3	1.2	1.25	+	++	+++	+++
2		10							1	0.7	1	2	2	1.5	1.2	1.35	+	++	+++	+++
3		10							1	0.6	1	1	1	1.2		1.2	+	++	+++	+++
4		8							1	0.5	1	2	2	1.2	1.2	1.2	+	++	+++	+++
5		8							1	0.8	1	1	1	1		1	+	++	+++	+++
6		10							1	0.6	1	2	2	1.3	0.9	1.1	+	++	+++	+++
7									0	0			0			0	+	++	+++	+++
8									0	0			0			0	+	++	+++	+++
9		10							1	0.6	1	2	2	0.7	1	0.85	+	++	+++	+++
10		JAMUR																		
JUMLAH					7.00				4.50	12.00				7.95						
RATA2					0.78				0.50	1.33				0.88						
STANDAR DEVIASI					0.44				0.10	0.87				0.52						

Keterangan:

- + kalus sedikit
- ++ kalus sedang
- +++ kalus banyak

Lampiran 12

Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 1 ubi kayu genotipe Ubi Kuning

Aksilar 1	tumbuh tunas pada hari ke-				jumlah tunas				tinggi tunas	jumlah daun				panjang daun					kalus			
														daun ke-				rata- rata				
														1	2	3	4					
Minggu ke-	I	II	III	IV	I	II	III	IV	IV	I	II	III	IV						I	II	III	IV
1	4			22	1	1	1	2	1.1	1	2	4		2.1	1.1	1.3	1.2	1.43	+	++	+++	+++
2	5			25	1	1	1	2	0.5	1	3	4		1.4	0.8	1.3	0.8	1.08	+	++	+++	+++
3	4			22	1	1	1	2	0.7	1	2	3		0.8	1.2	1.5		1.17	+	++	+++	+++
4	4				1	1	1	1	0.4	1	2	2		1.4	1.4			1.40	+	++	+++	+++
5	5			22	1	1	1	2	0.6	1	2	3		1.2	0.9	1.2		1.10	+	++	+++	+++
6	6			25	1	1	1	2	0.8	1	2	3		1.3	1.2	1.4		1.30	+	++	+++	+++
7	7				1	1	1	1	1	2	3	4		1.4	1.4	1.3	1.4	1.37	+	++	+++	+++
8	7				1	1	1	1	0.4	1	2	3		0.8	1.2	0.9		0.97	+	++	+++	+++
9	5			22	1	1	1	2	0.8	1	2	4		1.3	2.1	1.2	1.2	1.45	+	++	+++	+++
10	5				1	1	1	1	0.7	1	2	3		1.3	2.1	1.2		1.53	+	++	+++	+++
JUMLAH					16.00				7.00	33.00				12.79								
RATA2					1.60				0.70	3.3				1.28								
STANDAR DEVIASI					0.52				0.24	0.67				0.19								

Keterangan:

- +
 - ++
 - +++
- : jumlah kalus sedikit
: jumlah kalus sedang
: jumlah kalus banyak

Lampiran 13

Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 2 ubi kayu genotipe Ubi Kuning

Aksilar 2	tumbuh tunas pada hari ke-				jumlah tunas				tinggi tunas	jumlah daun				panjang daun					kalus			
														daun ke-				rata- rata				
														1	2	3	4					
Minggu ke-	I	II	III	IV	I	II	III	IV	IV	I	II	III	IV						I	II	III	IV
1	3		18	27	1	1	2	3	1.3		2	2	4	2	2.1	2.2	1.2	1.88	+	++	+++	+++
2	4		19		1	1	2	2	1		2	3	4	1.6	1.2	1.2	1.4	1.35	+	++	+++	+++
3	3		21		1	1	2	2	0.6		1	2	3	1.6	0.8	1.2		1.20	+	++	+++	+++
4	4		18	25	1	1	2	3	1		2	3	3	2.1	2.1	1.2		1.80	+	++	+++	+++
5	4		18		1	1	2	2	0.7		2	3	3	0.9	1.2	1.2		1.10	+	++	+++	+++
6	3		16	24	1	1	2	3	0.8		2	3	4	1.2	1	1.4	1.2	1.20	+	++	+++	+++
7	2			22	1	1	1	2	0.7		2	3	4	1.2	1.2	1	0.8	1.05	+	++	+++	+++
8	3		19		1	1	2	2	1		2	3	4	2.1	1.6	1.2	1.4	1.58	+	++	+++	+++
9	JAMUR																					
10	BAKTERI																					
JUMLAH					19.00				7.10	29.00				11.15								
RATA2					2.38				0.888	3.625				1.39								
STANDAR DEVIASI					0.52				0.23	0.52				0.33								

Keterangan

- + : jumlah kalus sedikit
 ++ : jumlah kalus sedang
 +++ : jumlah kalus banyak

Lampiran 14

Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 3 ubi kayu genotipe Ubi Kuning

Aksilar 3	tumbuh tunas pada hari ke-				jumlah tunas				tinggi tunas	jumlah daun				panjang daun						kalus			
														daun ke-					rata-rata				
														1	2	3	4	5					
Minggu ke-	I	II	III	IV	I	II	III	IV	IV	I	II	III	IV							I	II	III	IV
1	2		18	23	1	1	2	3	1.2	2	4	4		1.6	1.8	2.2	1.6		1.80	+	++	+++	+++
2	4		15	21	1	1	2	3	0.8	2	4	4		0.8	1.8	1.8	1		1.35	+	++	+++	+++
3	3		17		1	1	2	2	1.5	2	4	5		1.8	0.7	2.1	1.8	0.5	1.38	+	++	+++	+++
4	2		16	26	1	1	2	3	0.9	1	2	3		1.2	1.5	1.6			1.43	+	++	+++	+++
5	2		18		1	1	2	2	0.9	2	3	3		1.6	1.8	2			1.80	+	++	+++	+++
6	3		18	21	1	1	3	3	1	2	4	4		1.4	0.8	1.6	1.4		1.30	+	++	+++	+++
7	3		16		1	1	2	2	1.3	2	2	4		2.2	1.8	0.8	1.6		1.60	+	++	+++	+++
8	3	13	20		1	2	3	3	1.2	1	3	4		1.6	1.8	0.7	1.6		1.43	+	++	+++	+++
9	3	13	19		1	2	3	3	1	2	2	3		1	1.6	1.6			1.40	+	++	+++	+++
10	2		15	21	1	1	2	3	1.2	2	4	4		1.2	0.7	1.2	1.2		1.08	+	++	+++	+++
JUMLAH					27.00				11.00	38.00													
RATA2					2.70				1.1	3.8				1.456									
STANDAR DEVIASI					0.48				0.22	0.63				0.22									

Keterangan:

- + : jumlah kalus sedikit
 ++ : jumlah kalus sedang
 +++ : jumlah kalus banyak

Lampiran 15

Data pengamatan pertumbuhan nodus aksilar 4 ubi kayu genotipe Ubi Kuning

Aksilar 4	tumbuh tunas pada hari ke-				jumlah tunas				tinggi tunas	jumlah daun				panjang daun					kalus			
														daun ke-				rata-rata				
														1	2	3	4					
Minggu ke-	I	II	III	IV	I	II	III	IV	IV	I	II	III	IV						I	II	III	IV
1	5		17,19	23	1	1	3	4	1	1	1		3	0.8	1	0.8		0.87	+	++	+++	+++
2	14			25		1	1	2	0.2	1	2		2	0.7	0.8		0.75	+	++	+++	+++	
3	6		24	26	1	1	2	3	1.1	1	1		3	1	0.7	0.9		0.87	+	++	+++	+++
4	5		18,21	27	1	1	3	4	0.7	1	2		3	0.7	0.8	0.8		0.77	+	++	+++	+++
5	5		21	24	1	1	1	3	0.8	1	2		4	0.7	0.8	0.8	0.7	0.75	+	++	+++	+++
6	6		17	23	1	1	2	3	0.4	1	2		2	0.7	0.8		0.75	+	++	+++	+++	
7	7			22	1	1	2	2	0.5	1	2		2	1	0.7		0.85	+	++	+++	+++	
8	5		17	24	1	1	2	3	0.4	1	1		2	1	0.8		0.90	+	++	+++	+++	
9	5		18	25	1	1	2	3	0.6	1	2		3	0.9	0.8	1		0.90	+	++	+++	+++
10	6		19	27	1	1	2	3	0.8	1	2		4	0.8	0.9	0.8	0.7	0.80	+	++	+++	+++
JUMLAH					30.00				6.50	28.00				8.20								
RATA2					3.00				0.65	2.8				0.82								
STANDAR DEVIASI					0.67				0.28	0.79				0.06								

Keterangan:

- + : jumlah kalus sedikit
- ++ : jumlah kalus sedang
- +++ : jumlah kalus banyak