

Penggunaan Adenin Sulfat Pada Perbanyakan Mikro Talas Jepang

W. Hattu, Dj.F. Parera dan Simos H.T. Raharjo*

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura
Jalan Ir. M. Putuhena, Poka, Ambon 97233
*Koresponden. Email: indobio@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman talas merupakan sumber pangan pokok di beberapa wilayah Indonesia. Salah satu jenisnya, yaitu talas Jepang atau *satoimo* [*Colocasia esculenta* (L.) Schott var. *antiquorum*], banyak dikonsumsi di Jepang sehingga terdapat peluang ekspor ke negara tersebut. Untuk mengatasi masalah kekurangan bibit pada budidaya tanaman talas, produksi bibit bermutu dapat dilakukan dengan perbanyakan mikro. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media kultur jaringan MS dengan konsentrasi adenin sulfat yang tepat untuk perbanyakan mikro talas Jepang. Penelitian dirancang sebagai percobaan faktor tunggal dengan Rancangan Acak Lengkap, dengan faktor percobaan berupa konsentrasi adenin sulfat yang terdiri atas 5 taraf, yaitu: A0 (kontrol, 0 mg/l), A1 (10 mg/l), A2 (60 mg/l), A3 (110 mg/l), A4 (160 mg/l), dan dengan 5 ulangan. Penggunaan media MS dengan BAP 0,5 mg/l + adenin sulfat 160 mg/l memberikan hasil terbaik untuk multiplikasi tunas dengan rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan 21.40 per botol kultur, pada 12 minggu setelah pengkulturan. Persentase keberhasilan aklimatisasi plantlet adalah 86 %, dan bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan selanjutnya mampu tumbuh normal pada kondisi *ex vitro*.

Kata kunci: talas, perbanyakan mikro, adenine sulfat, BAP, multiplikasi tunas.

The Use of Adenine Sulphate In Micropropagation of Japanese Taro

ABSTRACT

Taro is a staple food source in several regions of Indonesia. One type of this crop, namely Japanese taro or *satoimo* [*Colocasia esculenta* (L.) Schott var. *antiquorum*], is widely consumed in Japan so that there are export opportunities into the country. To overcome the problem of lack of propagules in the cultivation of taro, quality seed production can be done with micro propagation. This study aimed to obtain MS tissue culture media with the right concentration of adenine sulfate for Japanese taro micro propagation. The study was designed as a single factor experiment with a Completely Randomized Design, with an experimental factors of adenine sulfate concentration consisting of 5 levels, namely: A0 (control, 0 mg / l), A1 (10 mg / l), A2 (60 mg / l), A3 (110 mg / l), A4 (160 mg / l), and with 5 replications. The use of MS media with BAP 0.5 mg / l + adenine sulfate 160 mg/l gave the best results for shoot multiplication with an average number of shoots produced 21.40 per culture bottle, at 12 weeks after culturing. The success percentage of plantlet acclimatization was 86%, and tissue cultur propagules subsequently was able to grow normally under *ex vitro* conditions.

Keywords: taro, micro propagation, adenine sulfate, BAP, bud multiplication.

PENDAHULUAN

Tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott; famili *Araceae*) adalah tanaman pangan yang memiliki umbi serta daun yang dapat dikonsumsi, serta merupakan tanaman pangan pokok di banyak wilayah di Asia Pasifik, Afrika, Karibia dan beberapa wilayah di Indonesia. Pada kondisi optimal produktivitas talas dapat mencapai 30 ton per hektar ^[1]. Di Indonesia, talas juga dimanfaatkan sebagai bahan baku industri tepung dan pakan ternak ^[2].

Salah satu tipe talas yang banyak dibudidayakan adalah talas Jepang (*Colocasia esculenta* (L.) Schott var. *antiquorum*), atau disebut *satoimo*. Selain sebagai bahan pangan sumber karbohidrat, talas Jepang juga dapat digunakan sebagai obat untuk mempercepat penyembuhan luka. Di samping itu, talas Jepang dianggap memiliki kemampuan untuk meregenerasi sel yang rusak, sehingga umbinya berpotensi sebagai bahan *anti-aging*. Umbi tanaman ini mengandung senyawa polifenol, vitamin C, vitamin A, monogliserida, besi, tannin dan saponin yang berperan dalam menghambat dan memperlambat proses penuaan.

Negara konsumen *talas Jepang* terbesar di dunia, khususnya untuk makanan pokok, adalah Jepang. Sebagian penduduk Jepang mengkonsumsi *talas Jepang* sebagai makanan pokok. Kebutuhan *talas Jepang* di Jepang mencapai ± 360.000 ton per tahun; sedangkan kapasitas produksi di Jepang terus menurun hingga 250.000 ton per tahun, karena keterbatasan lahan dan faktor iklim yang tidak memungkinkan untuk bertanam sepanjang tahun ^[3]. Ini membuka peluang ekspor Indonesia ke negara tersebut dan telah mendorong beberapa pemerintah daerah di Indonesia, seperti Kepahiang, Cisarua, Bantaeng, Malang dan Buleleng, untuk menggalakkan para petani mengembangkan *talas Jepang* sebagai komoditas ekspor. Hal ini mengakibatkan perlunya ketersediaan bibit

dalam jumlah yang cukup secara kontinyu. Untuk mengatasi hal ini, perbanyakkan *in vitro* diadopsi dengan tujuan membuat bahan tanam tersedia bagi petani, karena perbanyakkan *in vitro* dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat.

Salah satu faktor yang mempengaruhi berhasil atau tidaknya pengadaan bibit *talas Jepang* melalui kultur jaringan adalah adanya zat pengatur tumbuh (ZPT) yang tepat dalam media kultur. Zat tersebut berperan untuk merangsang pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu ^[4]. Adenin sulfat atau disingkat AdSO₄ merupakan salah satu senyawa kimia yang sering ditambahkan dalam media kultur jaringan tanaman, seperti pada media Anderson, dan dapat berfungsi sebagai ZPT, yakni sitokinin lemah ^[5]. Selain BAP dan kinetin, adenin sulfat sering pula digunakan untuk merangsang proliferasi tunas. Pada umumnya penggunaan adenin sulfat sering dikombinasikan dengan jenis sitokinin lainnya, atau dengan auksin. Adenin sulfat diketahui dapat meningkatkan pembentukan tunas dari kalus *Cichorium intybus* L. cv Focus ^[6]. Penggunaan kombinasi dua jenis zat pengatur tumbuh dalam satu media sering dilakukan baik untuk induksi tunas maupun untuk pemanjangan tunas. Pemberian adenin sulfat pada media kultur tanaman pepaya dapat menghasilkan persentase pembentukan kalus embriogenik yang sangat tinggi ^[7].

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media kultur jaringan MS yang mengandung adenin sulfat dengan konsentrasi yang tepat untuk perbanyakkan mikro talas Jepang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian

Universitas Pattimura Ambon selama 3 bulan, yaitu September-Desember 2017.

Alat-alat untuk pembuatan media terdiri dari: neraca analitik, labu takar, gelas piala, gelas ukur, labu Erlenmeyer, cawan petri, pipet ukur, pipet tetes, pH meter, corong plastik, lemari es dan hot *plate strirer*. Alat-alat untuk sterilisasi meliputi: oven dan autoclave. Alat-alat untuk persiapan dan penanaman eksplan meliputi: botol kultur, cawan petri, pinset, gunting tanam, tissue steril, hand sprayer, *laminar air flow cabinet*, serta alat-alat untuk pengamatan.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS^[8], dan untuk media perlakuan ditambahkan adenin sulfat sesuai perlakuan, selain BAP 0.5 mg/l. Media dasar dibuat semi padat dengan penambahan agar-agar. Bahan tanam yang digunakan adalah anakan/bonggol tanaman talas Jepang *in vitro*, yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Pattimura. Bahan-bahan sterilisasi yang digunakan adalah larutan alkohol 70%, larutan Bayclin, larutan Betadine serta air steril. Bahan-bahan lain yang diperlukan adalah kertas label, *plastic wrap* dan aluminium foil.

Penelitian ini dirancang sebagai percobaan 1 faktor yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Faktor yang diteliti adalah konsentrasi adenin sulfat yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi, yaitu: A0 (0 mg/l), A1 (10 mg/l), A2 (60 mg/l), A3 (110 mg/l) dan A4 (160 mg/l). Satu satuan percobaan adalah satu botol kultur yang terdapat satu eksplan. Pada masing-masing percobaan terdapat 5 ulangan atau total 25 satuan percobaan.

Metode kerja kultur jaringan yang dilaksanakan meliputi sterilisasi alat, pembuatan larutan stok, pembuatan media perlakuan, penanaman/subkultur, pemeliharaan, serta aklimatisasi dan transfer ke media *ex vitro*.

Alat-alat yang digunakan dalam penanaman dipersiapkan agar dalam keadaan steril. Alat-alat diseksi (pinset dan gunting), penutup botol kultur dan cawan Petri disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 30 menit. Alat-alat gelas (botol kultur dan pipet) disterilkan dalam oven dengan suhu 140°C selama 2 jam.

Larutan stok dibuat berdasarkan pengelompokannya, terdiri larutan stok hara makro (A, B, C, D), stok hara mikro (E, F) dan stok vitamin (G, H), serta stok adenin sulfat sebagai senyawa perlakuan. Pembuatan larutan stok dimaksudkan untuk menghemat pekerjaan menimbang bahan yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Komposisi larutan stok yang digunakan dan tahap-tahap pembuatannya sesuai dengan yang dikemukakan oleh Gunawan (1998). Setelah tersedia semua larutan stok, ke dalam labu Erlenmeyer dituangkan akuades sebanyak 500 ml, lalu ditambahkan larutan stok hara MS dengan volume sesuai petunjuk. Larutan stok adenin sulfat ditambahkan sesuai kebutuhan untuk mencapai konsentrasi perlakuan, selain gula pasir sebanyak 30 g. pH media diatur menjadi 5,7 dengan cara menambahkan larutan HCl 1N atau KOH 1N. Agar-agar ditambahkan sebanyak 8 g dan akhirnya akuades steril ditambahkan hingga mencapai volume 1000 ml (1 liter). Media dimasak sampai mendidih dan bening, dan dalam keadaan masih cair dituangkan dan dibagikan ke dalam botol kultur masing-masing sebanyak 20 ml. Setelah ditutup, botol-botol kultur yang berisi media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 15 menit.

Bahan tanam yang digunakan adalah bagian anakan/bonggol tanaman berumur 8 minggu setelah subkultur sebelumnya. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara mengambil plantlet sebagai bahan tanam dari botol kultur dengan gunting lalu meletakkannya pada cawan Petri. Bagian

mulut botol dipanaskan terlebih dahulu dengan lampu Bunsen untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Ekplan ditanam pada media perlakuan dengan pinset steril. Untuk menjaga sterilisasi dari alat, maka gunting dan pinset selalu dipanaskan pada nyala Bunsen sebelum digunakan. Sebelum ditutup, mulut botol dipanaskan kembali. Setelah itu, botol ditutup dengan penutupnya yang steril dan dibalut dengan *plastic wrap*. Botol-botol kultur diberi label sesuai perlakuan dan tanggal penanamannya.

Pemeliharaan kultur talas Jepang dalam botol-botol kultur dilakukan dengan cara meletakkannya pada rak-rak kultur, dengan penyinaran lampu LED dengan intensitas 2.000 lux. Untuk mencegah kontaminasi, botol-botol tersebut disemprot dengan alkohol 70 % setiap dua hari sekali.

Plantlet-plantlet yang sudah berakar dikeluarkan dari botol kultur dengan menggunakan pinset, selanjutnya dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan agar-agar media yang masih menempel pada akar. Selanjutnya dilakukan pengamatan. Untuk aklimatisasi, plantlet-plantlet yang sudah bersih dan dipilih seseragam mungkin dicelupkan dalam larutan fungisida Dithane-45 pada konsentrasi 2 g/l. Wadah aklimatisasi berupa gelas plastik transparan, berukuran diameter 8 cm dan tinggi 12 cm, yang 3/4 bagiannya berisi media tanam berupa kompos yang sudah disterilkan dengan autoklav sebelumnya. Plantlet ditanam dalam gelas plastik dengan media tanam tersebut dan ditutup dengan penutupnya selama 1 minggu pertama, dan secara bertahap plastik penutup dibuka. Sebanyak 50 plantlet diaklimatisasi, serta dilakukan pengamatan terhadap keberhasilan aklimatisasi serta pertumbuhan selanjutnya. Aklimatisasi dilakukan selama 4 minggu pada ruang kultur. Plantlet dipindahkan ke media tanam individu berupa kompos:tanah (1:1)

pada pot berdiameter 10 cm. Tanaman dalam pot kemudian diletakkan di luar ruangan yang tidak terkena sinar matahari secara langsung.

Peubah yang diamati meliputi: a) waktu munculnya akar (dinyatakan dalam hari hari setelah tanam/HST), b) jumlah akar plantlet, c) waktu munculnya tunas akar (dinyatakan dalam hari hari setelah tanam/HST), jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas, serta tingkat keberhasilan aklimatisasi.

Analisis data secara kualitatif dilakukan terhadap data visual yang dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan program Minitab 17 dan Microsoft Excel 2007 pada selang kepercayaan 95%. Apabila terdapat pengaruh perlakuan yang nyata pada analisis ragam (ANOVA), maka dilakukan uji lanjut untuk membedakan rata-rata antar perlakuan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan selang kepercayaan 95% ^[9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Kultur Talas Jepang

Penelitian ini berlangsung di dalam laboratorium kultur jaringan tanaman pada suhu 26⁰ C dengan penyinaran lampu LED 2.000 Lux. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah tanam (HST) terhadap peubah-peubah waktu muncul tunas dan waktu muncul akar. Pengamatan selanjutnya dilakukan pada akhir penelitian yaitu 12 minggu setelah tanam (MST) dengan cara mengeluarkan plantlet dari dalam botol kultur menggunakan pinset, kemudian plantlet dibersihkan dari media yang masih melekat dibawah air mengalir (Gambar 1). Hal ini dilakukan untuk mempermudah pengamatan terhadap peubah-peubah jumlah daun, jumlah tunas, tinggi tunas dan jumlah akar.



Gambar 1. Pengambilan plantlet talas Jepang untuk pengamatan pada 12 MST

Hasil ANOVA

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan adenin sulfat berpengaruh sangat nyata terhadap peubah-peubah yang diamati yaitu waktu muncul

akar, waktu muncul tunas, jumlah akar per tunas, dan jumlah tunas. Peubah tinggi tunas dan jumlah daun tidak nyata berdasarkan hasil analisis ragam, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rekapitulasi hasil uji F data pengamatan terhadap peubah-peubah pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* tanaman talas Jepang dengan perlakuan adenine sulfat

Peubah Pengamatan	Uji F (ANOVA)
Waktu Muncul Akar	**
Waktu Muncul Tunas	**
Jumlah Akar	**
Jumlah Tunas	**
Tinggi Tunas	tn
Jumlah Daun	tn

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata pada uji F, $\alpha = 5\%$
tn = tidak berbeda nyata pada uji F, $\alpha = 5\%$

Pada Tabel 1 terlihat bahwa berdasarkan ANOVA (F dengan $\alpha = 5\%$) terdapat pengaruh perlakuan yang sangat nyata pada peubah-peubah waktu munculnya akar, waktu munculnya tunas, jumlah akar dan jumlah tunas, tetapi tidak menunjukkan pengaruh yang nyata pada peubah-peubah tinggi tunas dan jumlah daun. Untuk keempat peubah pengamatan yang menunjukkan pengaruh yang sangat nyata tersebut selanjutnya dilakukan uji lanjutan BNT pada taraf 5 %. Sementara itu, dua peubah pengamatan lainnya, yaitu tinggi tunas dan

jumlah daun, tidak berbeda nyata berdasarkan uji F ($\alpha = 5\%$) dan dengan demikian tidak dilakukan pengujian lanjutan.

Waktu Muncul Akar dan Waktu Muncul Tunas

Pengamatan terhadap peubah waktu munculnya akar dan waktu muncul tunas talas Jepang secara *in vitro* dilakukan setiap hari setelah pengkulturan/tanam. Rata-rata waktu munculnya akar dan waktu muncul tunas tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata waktu munculnya akar dan waktu munculnya tunas pada kultur *in vitro* talas Jepang dengan perlakuan konsentrasi adenin sulfat yang berbeda

Konsentrasi Adenin Sulfat (mg/l)	Rata-Rata Waktu Muncul Akar (HST)	Rata-Rata Waktu Muncul Tunas (HST)
0	3,2 c	7,6 a
10	4,8 b	7,6 a
60	4,8 b	7,2 ab
110	6,2 a	6,6 b
160	5,2 ab	6,4 b

Keterangan: Angka yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT taraf $\alpha=5\%$.

Waktu tercepat munculnya akar adalah 3,2 HST pada media tanpa adenin sulfat (konsentrasi 0 mg/l), jika dibandingkan dengan media dengan konsentrasi adenin sulfat 160 mg/l (5,2 HST). Sebaliknya, munculnya tunas tercepat dihasilkan pada media dengan konsentrasi adenin sulfat 160 mg/l (6,4 HST), dan ini berbeda nyata dengan waktu munculnya tunas pada media tanpa adenin sulfat atau dengan konsentrasi 10 mg/l (7,6 HST) (Tabel 2). Dari keseluruhan hasil yang diperoleh pada penelitian ini terdapat indikasi bahwa eksplan tanaman talas Jepang memiliki kemampuan tumbuh secara

in vitro dengan perlakuan adenin sulfat yang diberikan; khususnya ditunjukkan dengan munculnya tunas yang lebih cepat pada konsentrasi adenin sulfat yang relatif tinggi.

Jumlah Akar

Pemberian adenin sulfat pada konsentrasi yang berbeda menyebabkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah akar kultur *in vitro* talas Jepang pada pengamatan 12 MST, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4.3, serta secara visual pada Gambar 2.

Table 3. Rata-rata jumlah akar kultur *in vitro* talas Jepang (12 MST) dengan perlakuan konsentrasi adenin sulfat yang berbeda

Konsentrasi Adenin Sulfat (mg/l)	Rata-rata Jumlah Akar
0	20,99 a
60	7,44 b
10	6,34 b
110	5,67 b
160	5,33 b

Keterangan: Angka yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT taraf $\alpha=5\%$.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi adenin sulfat terhadap jumlah akar; (a) tanpa adenin sulfat (0 mg/l), (b) konsentrasi adenin sulfat 10 mg/l, (c) 60 mg/l, (d) 110 mg/l dan (e) 160 mg/l.

Pengaruh perlakuan konsentrasi adenin sulfat sangat nyata terhadap jumlah akar per plantlet pada pengamatan 12 MST (Tabel 3). Gambaran visual perakaran plantlet talas Jepang pada berbagai konsentrasi adenin sulfat disajikan pada Gambar 3 dan 4. Kultur *in vitro* pada media tanpa adenin sulfat menghasilkan jumlah akar terbanyak (20,99 per plantlet), selanjutnya

jumlah akar per plantlet menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi adenin sulfat dan jumlah akar paling sedikit terdapat pada media dengan konsentrasi adenin sulfat 160 mg/l. Secara visual juga terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi adenin sulfat maka semakin pendek perakaran pada kultur *in vitro* talas Jepang pada penelitian ini (Gambar 3).



Gambar 3. Keadaan akar talas Jepang saat dikeluarkan dari botol kultur; (a) tanpa adenin sulfat (0 mg/l), (b) konsentrasi adenin sulfat 10 mg/l, (c) 60 mg/l, (d) 110 mg/l dan (e) 160 mg/l

Jumlah Tunas

Pemberian adenin sulfat pada konsentrasi yang berbeda menyebabkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah tunas kultur *in vitro* talas Jepang pada pengamatan 12 MST (Tabel 1).

Tabel 4 menunjukkan bahwa jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan adenin sulfat 160 mg/l, yakni 21,40. Namun, rata-rata jumlah tunas pada konsentrasi adenin sulfat 160 mg/l tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 110 mg/l dan 60 mg/l,

tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi adenin sulfat yang lebih rendah. Sedangkan jumlah tunas pada media tanpa adenin sulfat atau pada konsentrasi 0 mg/l (9,60) tidak berbeda dengan konsentrasi adenin sulfat 10 mg/l (8,60). Plantlet talas Jepang pada media perlakuan 110 mg/l dan 160 mg/l terlihat segar dan tidak layu secara visual seperti yang pada Gambar 4. Gambaran visual plantlet majemuk yang dihasilkan pada media dengan perlakuan 160 mg/l adenin sulfat, serta

setelah planlet-planlet dari satu botol kultur dipisahkan terlihat pada Gambar

Tabel 4. Rata-rata jumlah tunas kultur *in vitro* talas Jepang (12 MST) dan penampakan visual tunas, dengan perlakuan konsentrasi adenin sulfat yang berbeda.

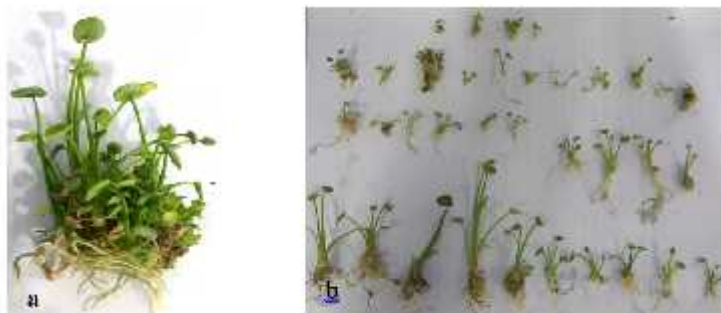
Konsentrasi Adenin Sulfat (mg/l)	Rata-Rata Jumlah Tunas	Penampakan Visual Tunas
0	9,60 b	Tunas layu
10	8,60 b	Tunas layu
60	12,80 ab	Tunas layu
110	15,00 ab	Tunas segar
160	21,40 a	Tunas segar

Keterangan: Angka yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT taraf $\alpha = 5\%$.



Gambar 4. Pertumbuhan dan perkembangan plantlet talas Jepang umur 12 MST; (a) tanpa adenin sulfat (0 mg/l), (b) konsentrasi adenin sulfat 10 mg/l, (c) 60 mg/l, (d) 110 mg/l dan (e) 160 mg/l.

5.



Gambar 5. Plantlet talas Jepang dengan konsentrasi adenin sulfat 160 mg/l; (a) plantlet majemuk sebelum dipisahkan, (b) setelah dipisahkan secara individu dari 1 botol kultur.

Tinggi Tunas dan Jumlah Daun

Tabel 1 menunjukkan bahwa tinggi tunas dan jumlah daun tidak nyata pada

ANOVA, dan oleh sebab itu tidak dilanjutkan dengan uji BNT. Rataan umumnya untuk masing-masing peubah adalah 3,26 dan 4,04.

Tingkat Keberhasilan Aklimatisasi



Gambar 6. Morfologi tanaman talas Jepang (a) 4 minggu setelah aklimatisasi dan (b) 8 minggu setelah aklimatisasi

Morfologi tanaman talas Jepang umur 4 minggu setelah aklimatisasi menunjukkan pertumbuhan yang normal. Persentase keberhasilan aklimatisasi 86 % tanaman talas Jepang mampu bertahan hidup sampai 8 minggu setelah aklimatisasi (Gambar 6), serta siap untuk selanjutnya dipindahkan ke pot atau polibag dengan media tanah di rumah kaca.

Pembahasan

Tunas merupakan bagian tanaman yang diperoleh dari cara perbanyakan vegetatif, yang tumbuh untuk melangsungkan keturunan pada tanaman tersebut. Terbentuknya tunas menunjukkan keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi pada media kultur jaringan. Hal ini juga berlaku untuk talas Jepang. Semakin cepat muncul dan terbentuknya tunas maka semakin cepat pula dihasilkan bahan untuk perbanyakan tanaman. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata saat muncul tunas tercepat eksplan talas Jepang terdapat pada perlakuan adenin sulfat 160 mg/l, yaitu rata-rata 6,4 hari setelah tanam (Tabel 2). Tunas yang nantinya menjadi anakan *in vitro* atau plantlet. Adenin sulfat memberikan efek yang berbeda-beda terhadap saat muncul tunas. Inisiasi tunas dan akar ditentukan oleh konsentrasi sitokinin dan auksin yang diberikan ke dalam media dan interaksinya

dengan sitokinin atau auksin endogen yang dikandung oleh eksplan^[10].

Media tanpa perlakuan adenin sulfat atau kontrol memberikan pengaruh paling lambat dalam merangsang kemunculan tunas, yaitu pada 7,6 HST, dan tidak berbeda dengan perlakuan adenin sulfat 10 mg/l. Hal ini dimungkinkan bahwa di dalam eksplan telah terkandung hormon endogen yang dapat berinteraksi dengan adenine sulfat yang diberikan sebagai perlakuan serta dapat mempengaruhi pembentukan tunas.

Pengaruh penambahan adenin sulfat terhadap pembentukan dan perkembangan tunas majemuk yang berhasil terbentuk pada kultur dalam media yang mengandung BAP 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan adenin sulfat pada setiap konsentrasi menunjukkan bahwa sitokinin secara langsung ataupun tidak langsung, efektif untuk mendorong proses inisiasi tunas^[11]. Hasil penelitian ini menunjukkan, bahwa jumlah rataan tunas yang terbentuk meningkat secara nyata, seiring dengan semakin tingginya konsentrasi sitokinin (adenine sulfat 10 mg/l; 60 mg/l; 110 mg/l; 160 mg/l). Ini menunjukkan adanya kisaran konsentrasi sitokinin yang meningkatkan atau merangsang pertumbuhan dan perkembangan kultur talas Jepang secara optimal (Tabel 2).

Sebagai hasil penelitian ini, media dasar MS + BAP 0,5 mg/l tanpa adenin sulfat

(kontrol) menghasilkan rata-rata jumlah tunas, yakni 9,6, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan media dasar MS+ BAP 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan adenin sulfat 10 mg/l, yakni dengan jumlah tunas 8,6 (Tabel 2). Ini menunjukkan bahwa efektivitas BAP lebih kuat dibandingkan dengan adenin sulfat. Tetapi adenin sulfat mempunyai efek sinergis apabila dikombinasikan dengan BAP. Efek positif tersebut teramati pula pada kultur jaringan sejumlah varietas dan kultivar pisang [12].

Pada kultur yang membentuk tunas dengan jumlah yang lebih banyak, secara visual ukuran tunasnya lebih kecil (Gambar 4). Pada tahap perbanyakan tersebut terdapat konsentrasi ZPT, yaitu adenine sulfat 110 dan 160 mg/l, yang meningkatkan pembentukan tunas dan pertumbuhan kultur secara optimal (Gambar 4 dan 5). Pengamatan secara visual pada kultur menunjukkan adanya kelayuan pada tangkai daun pada sebagian perlakuan, tetapi tunas dengan tangkai daun segar dan daun segar hanya dihasilkan pada perlakuan adenin sulfat yang tinggi, yaitu 110 dan 160 mg/l (Tabel 4). Pada perlakuan adenin sulfat tersebut tunas tidak layu. Hal ini diduga karena kombinasi dari BAP dengan adenin sulfat konsentrasi tinggi yang keduanya merupakan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin berperan dalam sintesis RNA, protein [5,13] dan pembentukan klorofil [14], menyebabkan plantlet kelihatan tetap segar dan tidak layu sebagaimana teramati dalam penelitian ini.

Peemakaian media dasar MS ditambah BA 0,1 mg/l + adenin sulfat 160 mg/l dapat memberikan hasil terbaik untuk multiplikasi tunas tanaman adas (*Foeniculum vulgare Mill.*) [15]. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa adenine sulfat 160 mg / l adalah yang paling efektif untuk induksi tunas talas Jepang. Efek serupa dari BAP dengan adenin sulfat juga dilaporkan oleh [16,17].

Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-

bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman [18]. Pada kultur *in vitro* talas Jepang, pembentukan akar terjadi pada daerah pangkal eksplan. Akar yang terbentuk pada eksplan berwarna putih kehijauan dan putih kecoklatan dengan banyak bulu halus disekitarnya (Gambar 3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah akar terbanyak dihasilkan oleh media tanpa perlakuan adenine sulfat (kontrol), yaitu sebanyak 21 akar dan ini berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya (MS + BAP 0,5 mg/l + adenine sulfat pada berbagai taraf konsentrasi) (Tabel 3). Hal ini karena sitokinin berperan menghambat pembentukan akar. Sitokinin juga berperan merangsang pembelahan sel pada tanaman dan mengambil bagian dalam melepaskan dormansi tunas lateral, dalam induksi pembentukan tunas-tunas adventif, dalam pertumbuhan tunas lateral dan dalam kontrol siklus sel [19].

Adenin sulfat juga memainkan peran penting untuk perbanyakan massal *in vitro* melalui pembentukan tunas majemuk. Efek menguntungkan dari adenin sulfat sering terlihat ketika digunakan bersama dengan ZPT yang tergolong sitokinin, seperti BAP [20]. Efek dari adenin sulfat dalam multiplikasi tunas juga telah ditunjukkan pada beberapa spesies tanaman, seperti *Pterocarpus marsupium* [21], *Cichorium intybus* [22], *Hildegardia populifolia* [23], *Stevia rebaudiana* [24], *Swertia chirayita* [25] dan lain-lain. Pada penelitian-penelitian sebelumnya, kultur jaringan terbukti bermanfaat untuk perbanyakan mikro [27], serta konservasi *in vitro* talas lokal Maluku [28]; pada penelitian ini juga didapatkan bahwa kultur jaringan juga dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan mikro talas Jepang.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian ini adalah bahwa pemakaian media dasar MS ditambah BAP 0,5 mg/l + adenin sulfat 160 mg/l dapat memberikan hasil terbaik untuk multiplikasi tunas, pada minggu ke-12, dengan rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan sebanyak 21.40 dengan penampakan plantlet yang segar. Setelah diaklimatisasi plantlet tersebut tumbuh normal pada kondisi *ex vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hussain, Z. dan R.K. Tyagi, 2006. *In vitro* corm induction and genetic stability of regenerated plants in taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott]. Indian . Biotech.5:535-542
- [2] Lingga P., B. Sarwono, F. Rahardi, P.C. Rahardja, J.J. Afriastini, R. Wudianto, W.H. Apriadi. 1990. Bertanam ubi-ubian. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- [3] SEAMEO. 2013.; Talas Jepang (*Satoimo*) Tissue Culture-Service Laboratory SEAMEO BIOTROP, Bogor, Indonesia.
- [4] Pierik, R. L. M., 1987. *In Vitro* Culture of Hinger Plant. Martinus NijhoffPublisher. Netherlands.
- [5] Wetherell, D. F. 1982. Introduction to "*in vitro*" propagation. Avery Publishing Group Inc., Wayne, New Jersey, 16 pages.
- [6] Nandagopal, S. and B.D. Ranjitha Kumari.2006. Adenine sulphate induced high frequency shoot organogenesis in callus and in vitro flowering of *Cichorium intybus* L. cv. Focus - a potent medicinal plant. Acta Agric. Slovenica 87(2):415-425.
- [7] Damayanti, D., Sudarsono, I. Mariska dan M. Herman. Regenerasi pepaya melalui kultur *in vitro*. Jurnal AgroBiogen 3(2):49-54.
- [8] Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays for tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- [9] Gaspersz, V., 1991. Metode Perancangan Percobaan. Armico. Bandung.
- [10] George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Eastern Press. England.
- [11] van Staden J., E. Zazimalova and E.F. George E.F. 2008. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonist. In: George E.F., M. Hall and G.J. De Kleck GJ (eds.) Plant Propagation by Tissue Culture. Vol 1. The Background. Springer, The Netherlands, pp. 205-226.
- [12] Hoesen, D.S.H. 1990. Pemberian zat pengatur tumbuh adenin dan benzylaminopurine pada perbanyakan tanaman pisang (*Musa* spp.) kultivar Ambon, Raja Bulu dan Tanduk secara *in vitro*. Prosiding Seminar Biologi Dasar I. Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor.
- [13] Wattimena GA. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB Bekerjasama dengan Lembaga Swadaya Informasi IPB: Bogor.
- [14] Pazurkeiwicz-Kocot, K., A.J. Kita and A. Haduch. 2011. The effect of kinetin on the chlorophyll pigments content in leaves of *Zea mays* L. seedlings and accumulation of some metal ions. In ynieria i Ochrona rodowiska 14(4):397-409.
- [15] Kristina, N.N., A. Husni, dan E. Gati. 1998. Propagasi tanaman adas secara *in vitro*. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 4(1): 29-31.
- [16] Bhuiyan F.R. 2013. *In vitro* meristem culture and regeneration of three potato varieties of Bangladesh. Res. Biotechnol. 4:29-37.

- [17] Singh, A.K., K. M.K. Sharma, R. Chaudhary and R.S. Sengar. 2017. Effects of BAP and adenine sulphate on shoot regeneration from callus in potato (*Solanum Tuberosum* L.). *Biotech Today*:7(1): 49-51
- [18] Gardner F.P., R.B. Pearce dan Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Herawati Susilo, Penerjemah; Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- [19] Gaspar, T.H., C. Kevers, O. Faivre-Rampant, M. Cre`Veceour, C.L. Penel, H. Greppin and J. Demmes. 2003. Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant* 39:85–106
- [20] van Staden J., E. Zazimalova and E.F. George E.F. 2008. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonist. In: George E.F., M. Hall and G.J. De Kleck GJ (eds.) *Plant Propagation by Tissue Culture. Vol 1. The Background*. Springer, The Netherlands, pp. 205-226.
- [21] Husain, M.K., M. Anis and A. Shahzad. 2008. *In vitro* propagation of a multipurpose leguminous tree (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using nodal explants. *Acta Physiol. Plant.* 30:353-335
- [22] Nandagopal, S. and B.D. Ranjitha Kumari.2006. Adenine sulphate induced high frequency shoot organogenesis in callus and in vitro flowering of *Cichorium intybus* L. cv. Focus - a potent medicinal plant. *Acta Agric. Slovenica* 87(2):415-425.
- [23] Lavanya A.R., S. Muthukrishnan, V. Kumaresan, B.J.H Franklin and M.V. Rao M.V. 2012. In vitro micropropagation of *Hildegardia populifolia* (Roxb.) Schott & Endl., an endangered tree species from Eastern Ghats of Tamil Nadu, India. *J. Agril. Tech.* 8(5):1727-1744.
- [24] Khan, M.K., P. Misra, T. Sharma, P.K. Shukla and P.E. Ramteke. 2014. Effect of adenine sulphate on *in vitro* mass propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *J. Med. Plant Res.* 8(13):543-549.
- [25] Sharma, V., B. Kamal, N. Srivastava, A.K. Dobriyal and V.S. Jadon. 2016. *In Vitro* flower induction from shoots regenerated from cultured axillary buds of endangered medicinal herb *Swertia chirayita* H. Karst. *Biotech Res International* 2014:1-5
- [26] Du, H.M., D.M. Tang and D.F. Huang. 2006. 'Fragrant taro' [*Colocasia esculenta* (L.) Schott var. antiquorum] micropropagation using thidiazuron and benzylaminopurine. *Hort. Sci. & Biotech.* 81:(3)379–384.
- [27] Ko, C-Y., J-P Kung and R. Mc Donald. 2008. In vitro micropropagation of white dasheen (*Colocassia esculenta*). *African J. of Biotech.* 7(1):041-043.
- [28] Lalopua, J.R., R.E. Wattimena, A. Walsen dan S.H. Raharjo. 1989. Penelitian tanaman umbian pada Fakultas Pertanian Universitas Pattimura, p.95-122. Dalam: Risalah Seminar Pengembangan Tanaman Umbian. Ambon, 31 Oktober 1989, Fakultas Pertanian Universitas Pattimura - United State Agency for International Development.