Vol.1, No.2, September 2017

PENGARUH MEDIA KULTUR PADA PLANLET KENTANG Solanum Tuberosum L TERHADAP TOTIPOTENSI PERTUMBUHAN TUNAS

^{1.}Ewi Mellysa Barus, ^{2.} Martina Restuati ^{1.} Dosen Prodi S1 Farmasi STIKes Imelda, Jalan Bilal Nomor 52 Medan ^{2.} Ketua Laboratorium Kultur Jaringan

E-mail: ewimellysa@gmail.com

ABSTRAK

Kebutuhan tanaman kentang semakin meningkat namun produksinya semakin menurun. Produktifitas kentang sangat tergantung kepada kualitas benih kentang yang bebas patogen. Penggunaan manitol sebagai osmoregulator terhadap benih kentang dapat dilakukan secara in vitro yang mampu mendapatkan kultur yang bebas virus serta memiliki potensi yang besar untuk konservasi plasma nutfah. Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi antara konsentrasi manitol dan penggunaan jenis bagian eksplan yang menghambat pertumbuhan planlet kentang sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. Penelitian dilaksanakan bulan Januari sampai bulan Mei 2017 di Laboratorium Mikropropagasi Balai Bioteknologi.. Penelitian menggunakan metode Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) faktorial. Faktor pertama perlakuan media MS + Manitol pada taraf 0, 20, 40, 60, 80, 100 dan 120 g.L-1. Faktor kedua penggunaan jenis bagian eksplan pucuk dan buku ke-2. Pemberian perlakuan konsentrasi manitol 60 g.L-1 memberikan laju penghambatan yang optimum dengan menekan pertumbuhan tinggi planlet 58.77%; jumlah daun 60.77%; panjang akar 20.39%; dengan masa penyimpanan 3 bulan.

Kata Kunci: Buku ke 2, osmoregulator, pertumbuhan minimal, pucuk.

PENDAHULUAN

Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L.) termasuk tanaman pangan penting dunia setelah beras dan gandum (Centro Internacional de la Papa/CIP, Kentang merupakan karbohidrat alternatif sebagai salah satu tanaman untuk diversifikasi Kebutuhan umbi kentang terus meningkat setiap tahun sejalan dengan meningkatnya jumlah penduduk dan berkembangnya industri yang membutuhkan bahan baku kentang. Konsumsi kentang di Indonesia mengalami peningkatan, fluktuatif produksinya setiap tahun. Produksi kentang pada tahun 2012 sebesar 1,094,240 ton, tahun 2013 menjadi 1,124,282 ton, tahun 2014 produksi kentang meningkat 1,347,818 ton namun pada tahun 2015 mengalami penurunan 1,219,270 ton (Badan Pusat Statistik, 2016).

Kendala yang terjadi di lapangan menunjukan sebagian besar petani saat ini menggunakan benih sisa hasil panen sebelumnya. Hal ini menyebabkan penurunan kualitas benih, untuk itu perlu upaya untuk introduksi jenis-jenis kentang baru yang spesifik lokasi dengan biaya murah. Untuk kegiatan perbanyakan benih diperlukan tanaman stok steril (gene bank) yang disimpan dalam kondisi steril. Penyediaan benih kentang dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan, karena teknik ini memiliki keunggulan dapat bagian apikal untuk mengisolasi mendapatkan kultur yang bebas virus. Oleh karena itu produksi stok benih yang bebas penyakit dapat diperoleh dengan teknik ini, Teknik ini merupakan salah satu alternatif bagi perbanyakan tanaman kentang (Molla et al., 2011).

Kultur jaringan memiliki prinsip Totipotensi (Total Genetic Potential) sel yaitu setiap satu sel, jaringan, dan organ mempunyai potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap jika tersedia nutrisi yang.Lengkap sebagai media. Perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan mampu menghasilkan tanaman yang bebas dari virus dengan teknik meristem tip culture, sehingga mempunyai potensi yang sangat besar untuk mengkoleksi tanaman agar tidak terjadinya kehilangan plasma nutfah.

Plasma nutfah organisme (tumbuhan, hewan, mikroba) saat ini sudah dipandang sebagai salah satu sumber daya alam yang sangat penting, terutama dalam rangka pemenuhan kebutuhan pangan, energi, dan kesehatan (Sumaryono, 2016). Konservasi plasma nutfah merupakan salah satu kegiatan yang perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya erosi genetik (hilangnya keragaman) dan hilangnya suatu jenis tanaman misalnya karena cekaman biotik maupun abiotik (Muhammad et al., 2003). Sedangkan menurut Karjadi (2016), Penyimpanan plasma nutfah diperlukan terutama untuk klon (varietas) unggul harapan atau klon (varietas) yang telah bebas dari penyakit virus. Karjadi menyatakan (2016)bahwa metode penyimpanan stok tanaman kentang secara in vitro yang diterapkan adalah metode cryopreservation (kriopreservasi) metode pertumbuhan lambat (pertumbuhan minimal).

Metode Pertumbuhan minimal bertujuan untuk memperlambat pertumbuhan tanaman tersebut dengan menaikkan osmolaritas media seperti penambahan manitol dan sorbitol. Metode kriopreservasi merupakan penyimpanan bahan tanaman dalam tabung berisi nitrogen cair dengan suhu minus 196 °C (Sumaryono, 2016). Sebagian besar konservasi in vitro tanaman menggunakan metode partumbuhan lambat, karena lebih murah dan mudah dalam pengaplikasiannya dibandingkan dengan cryopreservation.

Metode pertumbuhan lambat (slow growth) pada prinsipnya adalah menyediakan lingkungan dan media tumbuh yang paling minimal sehingga laju metabolisme propagula in vitro tanaman

berupa kalus (Yuslina et al., 2014)., embrio somatic (Sumarjan dan Hemon., 2009), tunas atau planlet (Jawak, 2008), berlangsung sangat lambat. Memperlambat pertumbuhan dapat dilakukan dengan memodifikasi media tumbuh dengan cara menambahkan senyawa osmotikum seperti manitol dan sorbitol, serta zat penghambat tumbuh misalnya ancymidol, paclobutrazol (Sumaryono, 2016). Pemberian osmotikum dan retardant sudah banyak digunakan dalam konservasi in vitro tanaman umbiumbian (Roostika et al., 2005). Regulator osmotik (osmoregulator) adalah suatu senyawa organik yang dapat mempengaruhi tekanan osmotik dalam media kultur sehingga mengurangi serapan hara mineral dan air oleh sel atau jaringan yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan kultur (Dodds dan Robert, 1985).

Manitol (C6H14O6) merupakan gula alkohol polihidrik atau asiklik poliol, yang diturunkan dari manosa. Manitol berperan penting dalam translokasi asimilat dalam floem (Deguchi et al., 2004). Manitol mampu menembus semipermeabel pada pembuluh floem sehingga akan terjadi osmosis pada pembuluh xylem dan mengakibatkan terjadinya aliran tekanan. Osmosis yang terjadi pada pembuluh xylem mempengaruhi unsur hara makro salah satunya yaitu aliran kalium menjadi terhambat. Kalium merupakan zat terlarut utama yang berfungsi dalam keseimbangan air, serta memiliki peranan penting dalam pertumbuhan. Tanaman yang mengalami defisiensi kalium menvebabkan pertumbuhan pada tanaman tersebut terhambat. Manitol merupakan serbuk putih, tidak berbau, bubuk kristal, atau granul mudah mengalir bebas. Manitol mempunyai rasa yang manis, seperti glukosa dan setengah kali manisnya sukrosa serta memberi sensasi dingin di mulut (Setvarini, 2009). Penambahan manitol ke dalam media kultur akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan tanpa mempengaruhi sifat genetiknya sehingga manitol digunakan untuk konservasi in vitro.

Menurut Dewi (2002) penggunaan media MS + manitol 40 g.L-1 merupakan media yang paling sesuai untuk konservasi talas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi konsentrasi manitol dan jenis bagian eksplan yang dapat menghambat pertumbuhan planlet kentang.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2017 di Laboratorium Mikropropagasi Tanaman, Balai Bioteknologi Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, PUSPIPTEK. Penelitian dilakukan menggunakan metode Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) dengan pola faktorial yang terdiri dari dua faktor.

Faktor pertama adalah konsentrasi manitol yaitu 0, 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 g.L-1. Faktor kedua adalah jenis bagian eksplan yaitu pucuk dan buku ke-2. Kombinasi kedua faktor menghasilkan 14 kombinasi perlakuan. Masingmasing perlakuan pada setiap percobaan diulang sebanyak 4 kali, sehingga setiap percobaan terdiri atas 168 satuanpercobaan. Setiap satuan percobaan terdiri atas 3 eksplan. Media yang digunakan adalah komposisi media MS yang diberi myoinositol 100 mg.L-1; vitamin thiamine 0.1 ml.L-1; vitamin pyridoxine 0.5 ml.L-1; nicotinic acid 0.5 ml.L-1; vitamin glysine 2 ml.L-1, dan sukrosa 30 g.L-1.

Osmoregulator manitol diberikan perlakuan. dengan Sebelum penambahan agar 8 g.L-1, pH medium ditetapkan 5.8. Media diotoklaf pada 18 – 20 Psi dengan suhu 120 °C selama 20 menit. Medium diisikan sebanyak 10 ml kedalam tabung kultur. Kultur diinkubasi dibawah pencahayaan 11 jam dengan sumber cahaya lampu TL. Suhu ruang kultur 26 - 22 oC dengan RH 70 - 80%. Kultur diamati mulai minggu kedua setelah tanam (MST) dan selanjutnya setiap dua minggu selama tiga bulan. Peubah yang diamati ialah: (a) tinggi tanaman yang diukur dari permukaan media sampai ke titik tumbuh eksplan, (b) jumlah daun baru, (c) panjang akar. Data dianalisis dengan uji F. jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengamatan maka dilakukan analisis uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 1% atau 5%.Untuk hasil analisis ragam, jumlah daun dan panjang akar data ditransformasi dengan (x+0.5)1/2 untuk memperkecil koefisien keragaman sehingga data lebih normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh manitol yang digunakan tinggi dengan konsentrasi mampu mengubah eksplan menjadi browning saat umur 3 hari setelah tanam (HST), hal ketidakmampuan tersebut dikarenakan eksplan menerima tekanan osmotikum dari zat pelarut manitol. mekanisme Menurut Santoso dan Nursadi (2003), sesungguhnya peristiwa browning merupakan peristiwa alamiah biasa yang sering terjadi pada sistem biologi, yaitu suatu proses adaptif pada bagian tanaman akibat adanya pengaruh fisik atau biokimia pengupasan, (memar, pemotongan, serangan penyakit, atau kondisi yang tidak normal).

Tinggi Planlet Pengaruh tunggal manitol pada berbagai taraf terhadap tinggi planlet kentang sangat nyata. Selain itu, pengaruh tunggal terhadap berbagai jenis eksplan yang digunakan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap tinggi planlet. Pada perlakuan tunggal manitol perlakuan konsentrasi manitol 100 g.L-1 dan 120 g.L-1 tidak terjadi peningkatan terhadap tinggi planlet karena manitol merupakan zat osmotikum vang akan meningkatkan secara perlahan tekanan osmotik sehingga ketersedian air akan berkurang, tentu saja semakin tinggi manitol akan terhambat pasokan air serta nutrisi sehingga viabilitas eksplan yang sedang masa pertumbuhan akan menurun. Dewi et al., (2014) menyatakan bahwa pada dasarnya akumulasi osmoregulator vang berlebihan akan menurunkan aktivitas enzim.

Manitol merupakan senyawa stabilisator osmotik yang dapat meningkatkan osmolaritas media, sehingga penyerapan nutrisi ke dalam jaringan terhambat (Tambunan, 2003). Media MS0 yang diberikan pada perlakuan kontrol tanpa manitol memiliki unsur hara makro dan mikro yang terpenuhi tanpa adanya hambatan dari tekanan osmotik sehingga pertumbuhan planlet terus meningkat. Selain itu dengan adanya sukrosa 3% pada media MS0 sebagai sumber energi menjadikan planlet selalu tersedia pasokan makanannya. Menurut Laisina (2009), gula bukan saja sebagai penghasil energi tetapi juga untuk pembentukan metabolit sekunder yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Pada penelitian ini konsentrasi manitol 20 g.L-1; 40 g.L-1; 60 g.L-1; 80 g.L-1; 100 g.L-1; dan 120 g.L-1; berturut-turut mampu

menghambat laju pertambahan planlet kentang secara in vitro pada umur 10 MST sebesar 32.27%; 48.25%; 58.72%; 63.66%; 64.53%; dan 64.53% (Tabel 1). Namun pada penelitian Jawak (2008), perlakuan manitol 20 g.L-1; 40 g.L-1; dan berturut-turut mampu g.L-1 menghambat laju pertambahan tinggi tanaman jeruk besar (Citrus grandis L. Osbeck) sebesar 56.37%; 63.76%; dan 39.60% pada umur 24 MST. Sedangkan pada penelitian Dewi et al. (2014), pengurangan tinggi tunas jeruk besar cv. Nambangan dengan konsentrasi manitol yang sama berkisar antara 39.6 - 63.8% pada umur 24 MST.

Tabel 1. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Manitol dan Berbagai Jenis Eksplan terhadap Rata-rata Tinggi Planlet (cm) Kentang cv. AP-4 secara In Vitro pada Umur 10 MST

Jenis Bagian Eksplan	Konsentrasi Manitol (g.L-1)								
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Pucuk	3.42a	2.17c	1.58d	1.41de	1.29e	1.22e	1.22e	1.22e	1.22e
Buku ke-2	3.46a	2.48b	1.98c	1.44de	1.22e	1.22e	1.22e	1.22e	1.22e
Koefisien Keragaman					7,06%				

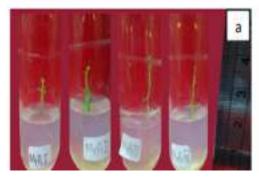
Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%; data tinggi planlet ditransformasi dengan (x + 0.5).

Pengaruh interaksi antara konsentrasi manitol dengan berbagai jenis eksplan yang digunakan berdasarkan analisis ragam pada umur 2 dan 4 MST tinggi planlet tidak berpengaruh nyata pada setiap perlakuan namun, umur 6, 8, dan 10 MST tinggi

planlet menunjukan pengaruh sangat nyata terhadap setiap perlakuan.

Semakin rendah konsentrasi manitol untuk berbagai jenis eksplan yang digunakan maka tinggi planlet akan semakin tinggi, sedangkan perlakuan berbagai jenis eksplan yang digunakan bagian buku ke-2 memberikan respon pertumbuhan yang cepat pada konsentrasi manitol rendah.

Gambar 1. Kondisi planlet dengan konsentrasi manitol 60 g.L-1 pada berbagai ulangan, umur 10 MST. jenis eksplan bagian pucuk (a) dan bagian buku ke 2 (b)



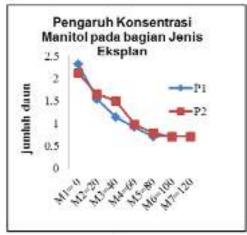
Jumlah daun Percobaan perlakuan konsentrasi manitol pada berbagai taraf menunjukkan pengaruh yang sangat nyata



terhadap pertambahan jumlah daun, sedangkan perlakuan berbagai jenis eksplan pucuk dan buku ke-2 menunjukan hasil

yang tidak nyata serta interaksi antar perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata. Hasil penelitian ini menunjukan penekanan jumlah daun optimum terjadi pada perlakuan konsentrasi manitol 80 g.L-1 dengan jenis eksplan bagian buku ke-2 rata-rata jumlah daun adalah 0.78 helai pertumbuhan dengan menekan laiu jumlahdaun sebesar 63.21%; ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi manitol 60 g.L-1 manitol pada eksplan bagian pucuk dengan persentase penekanan sebesar 60.77% dan pada jenis eksplan buku ke-2 tingkat menekan laju pertumbuhan jumlah daun 53.77%.

Gambar 2. Grafik pada jumlah daun planlet kentang umur 8 MST data jumlah daun ditransformasi dengan (x + 0.5)1/2.



Menurut Dewi et al. (2010), respon tanaman akibat penambahan manitol dalam media terlihat pada ukuran daun yang semakin mengecil pada konsentrasi manitol yang tinggi. Peningkatan potensial osmotik pada media tersebut menyebabkan yang kekurangan air tersedia bagi pertumbuhan perkembangbiakan. dan Tanaman yang merespon kekurangan air akan mengurangi laju transpirasi untuk

penghematan air, kekurangan air juga akan merangsang peningkatan sintesis dan pembebasan asam absisat dari sel-sel mesofil daun Asam absisat merupakan hormon yang diproduksi dalam bagian daun, batang, akar dan buah yang berfungsi sebagai menghambat pertumbuhan.

Panjang Akar Pengamatan panjang akar dilakukan pada umur 12 MST, berdasarkan hasil analisis ragam Pengaruh tunggal manitol memberikan pengaruh sangat nyata, sedangkan pengaruh tunggal bagian jenis eksplan tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar serta interaksi terhadap perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata. Bagian jenis eksplan pucuk pada faktor manitol (Gambar 3) memiliki respon pertumbuhan panjang akar yang cepat. Penelitian Jawak (2008) melaporkan perlakuan manitol 20 g.L-1; 40 g.L-1; dan 60 g.L-1 pada planlet jeruk besar tidak adanya pertumbuhan akar sama sekali.

Gambar 3. Grafik pada panjang akar planlet kentang umur 12 MST pada pengaruh konsentrasi manitol pada berbagai jenis eksplan



Gambar 4. Kondisi akar planlet kentang pada berbagai konsentrasi manitol pada umur 12 MST. (a) 0 g.L-1; (b) 20 g.L-1; (c) 40 g.L-1; (d) 60 g.L-1; (e) 80 g.L-1; (f) 100 g.L-1; (g) 120 g.L-1. (A) Eksplan bagian pucuk dan (B) Eksplan bagian buku ke-2





KESIMPULAN

Konsentrasi manitol 80 g.L-1 mampu memberikan pertumbuhan optimum pada laju pertumbuhan terhambat pada beberapa parameter, namun dari segi ekonomis konsentrasi manitol 60 g.L-1 tidak berbeda sehingga mampu memberikan pertumbuhan yang optimum untuk konservasi plasma nutfah kentang kultivar AP-4. Jenis eksplan bagian pucuk yang paling baik untuk konservasi planlet kentang memiliki viabilitas yang baik normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. (2016). *Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Kentang.* 2012 2015. http://bps.go.id. (diakses pada 27 Januari 2017).
- Centro Internacional de la Papa (CIP). (201 3). *Facts and Figures*.http://cipotato.org/potato/facts(diakses pada 27 Januari 2017).
- Deguchi, M., Y. Koshita, M. Gao, R. Tao, T. Tetsumura, S. Yamaki dan Y. Kanayama. (2004). Engineered Sorbitol Accumulation Induces Dwarfism in Japanese persimmon. J. Plant Physiol, Vol. 161 (1): 1177 1184.
- Dewi, I.S., G. Jawak, I. Roostika, M. Sabda, B. S. Purwoko, dan W.H. Adil. (2010). Konservasi In Vitro Tanaman Jeruk Besar (Citrus maxima (Burm.) Merr.) Kultivar Srinyonya

- Menggunakan Osmotikum dan Retar. Jurnal AgroBiogen edisi 6 hal 84-90.
- Dewi, I.S., G.S. Jawak, B.S. Purwoko, dan M. Sabda. (2014). Respon Pertumbuhan Kultur In Vitro Jeruk Besar (Citrus maxima (Burm.) Merr.) cv. Nambangan terhadap Osmotikum dan Retardan. Jurnal Hortikultura. Indonesia, Vol. 5 (1): 21 28.
- Dewi, N. (2002). Perbanyakan dan Pelestarian Plasma Nutfah Talas (Colocasia esculenta (L.) Schot) Secara In Vitro. Tesis. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Dewi, N., I.S. Dewi, dan I. Roostika. (2014). *Pemanfaatan Teknik Kultur In Vitro untuk Konservasi Plasma Nutfah Ubi-Ubian*. Jurnal AgroBiogen, Vol. 10 (1): 34 44.
- Dodds, J.H. dan L.W. Roberts. (1985). Experiments in Plant Tissue Culture. 2nd Edition. Cambridge University Press. Cambridge. UK.
- Jawak, G. (2008). Konservasi Plasma Nutfah Jeruk Besar secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Karjadi, A.K. (2016). Kultur Jaringan dan Mikropropagasi Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L). Iptek Tanaman Sayuran, No. 008, Maret 2016. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung.
- Laisina, J.K.J. (2009). Pelestarian secara In Vitro Melalui Pertumbuhan Minimal pada Beberapa Genotipe Ubi Jalar(Ipomea batatas (L) Lam). Tesis.

- Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Molla, M.M.H., K.M. Nasiruddin., M. AlAmin, D. Khanam dan M.A. Salam. (2011). Effect of Growth Regulators on Direct Regeneration of Potato. International Conference on Environment and Industrial Innovation, Vol. 12: 205 210.
- Muhammad, H., Armiati dan W. Dewayani. (2003). *Jeruk Keprok Selayar dan Upaya Pelestariannya*. http://www.pustakadeptan.go.id/public ation/p3223031. pdf. (diakses pada 4 Febuari 2017).
- Roostika, I., N. Sunarlim, dan V.N. Arief. (2005). *Teknik Penyimpanan Kentang Hitam secara In vitro*. Buletin Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 24 (1): 46 52.
- Santoso, U. dan F. Nursadi. (2003). *Kultur Jaringan Tanaman*. Publikasi Terbitan Univeritas Muhammadiyah Malang. Malang.

- Setyarini, D. (2009). Pengaruh Variasi Konsentrasi Polivinilpirolidon sebagai Bahan Pengikat dan Manitol sebagai Bahan Pengisi terhadap Sifat Fisik dan Respon Rasa Tablet effervescent Ekstrak Tanaman Ceplukan (physalis angulata l.). Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sumarjan dan A.F. Hemon. (2009).

 Efektivitas Polietilena Glikol dan
 Manitol sebagai Agens Penyeleksi In
 Vitro untuk Cekaman Kekeringan
 terhadap Pertumbuhan Embrio
 Somatik Kacang Tanah. Crop Agro,
 Vol. 2(1): 30 36.
- Sumaryono. (2016). *Konservasi In Vitro Plasma Nutfah Tumbuhan*. Indonesian Research Institute for Biotechnology and Bioindustry.
- Tambunan, I.R. (2003). Studi Penyimpanan Kultur In Vitro Ubi Jalar (Ipomea batatas (L) Lam) secara Kriopreservasi. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.