

Multiplikasi Tunas dan Konservasi *In Vitro* Tanaman Belitung (*Xanthosoma sagittifolium* [L.] Schott) dengan Metode Pertumbuhan Minimal (*In Vitro* Shoot Multiplication and Conservation of Belitung [*Xanthosoma sagittifolium* {L.} Schott] using Minimal Growth Conservation Method)

Muhamad Sabda* dan Nurwita Dewi

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

Diajukan: 28 Juli 2016; Direvisi: 26 September 2016; Diterima: 2 November 2016

ABSTRACT

Belitung is one of potential food crops, which has a lot of benefit. Collection of belitung germplasm conserved in the field is sometimes lost or damaged by biotic and abiotic stress. Therefore, *in vitro* conservation is very important to do to minimize loss of collection. The purpose of this research was to study the effect of benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* shoot multiplication of belitung and to study the influences of osmoticum (mannitol) and retardant (paclobutrazol/PBZ) to the growth of belitung culture. Experimental design used in this research was Randomized Completely Design with three replications. Shoots from sucker were used as explant. In this study of shoot multiplication, the treatment medium was MS + BAP (0, 1, 2, 3 mg/l). In the study of conservation, the treatment medium was MS + 30 g/l sucrose, ½ MS + 30 g/l sucrose, MS + 15 g/l sucrose, MS + mannitol (20, 40, 60 g/l), and MS + PBZ (1, 2, 3 mg/l). The result showed that the addition of BAP into MS medium increased number of shoot. The best medium for micropropagation of belitung germplasm was MS + BAP 3 mg/l. The highest number of shoot (7.6 shoots) was produced by MS + BAP 3 mg/l medium. MS + mannitol (20 g/l and 40 g/l) and MS + PBZ (1, 2, 3 mg/l) medium could reduce the plant growth. MS + PBZ 2 mg/l was the best medium for belitung conservation. This media could reduce plant growth during 8 months conservation period and prolong subculture interval.

Keywords: Belitung (*Xanthosoma sagittifolium*), shoot multiplication, conservation, mannitol, paclobutrazol.

ABSTRAK

Belitung merupakan salah satu tanaman potensial yang memiliki berbagai manfaat. Koleksi plasma nutfah belitung yang dikonservasi di lapang kadangkala hilang atau rusak akibat pengaruh cekaman biotik dan abiotik. Oleh karena itu, konservasi secara *in vitro* sangat penting dilakukan untuk memperkecil kehilangan koleksi. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh benzil amino purin (BAP) terhadap multiplikasi tunas belitung secara *in vitro*, pengaruh pengenceran media dan pengurangan konsentrasi sukrosa, serta pengaruh osmotikum (manitol) dan retardan (paklobutrazol/PBZ) terhadap pertumbuhan belitung dalam konservasi *in vitro*. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Tunas umbi digunakan sebagai eksplan. Perlakuan multiplikasi tunas terdiri atas media MS + BAP (0, 1, 2, 3 mg/l). Perlakuan konservasi terdiri atas media MS + 30 g/l sukrosa, ½ MS + 30 g/l sukrosa, MS + 15 g/l sukrosa, MS + manitol (20, 40, 60 g/l), dan MS + PBZ (1, 2, 3 mg/l). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BAP meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Jumlah tunas terbanyak (7,6 tunas) dihasilkan pada media dengan konsentrasi BAP 3 mg/l. Penggunaan media MS ditambah manitol (20 g/l dan 40 g/l) dan PBZ (1, 2, 3 mg/l) dapat menekan laju pertumbuhan belitung yang dikonservasi. Media MS + PBZ 2 mg/l merupakan media terbaik untuk konservasi belitung. Pada media ini, belitung dapat disimpan sampai dengan 8 bulan tanpa disubkultur.

Kata kunci: Belitung (*Xanthosoma sagittifolium*), multiplikasi tunas, konservasi, manitol, paklobutrazol.

PENDAHULUAN

Belitung, talas belitung, atau kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*) adalah salah satu tanaman pangan potensial yang memiliki manfaat cukup banyak. Belitung merupakan salah satu sumber karbohidrat nonberas dengan kandungan gizi yang cukup tinggi. Kandungan gizi 100 g belitung terdiri atas 34,2 g karbohidrat, 1,2 g protein, 0,4 g lemak, 1,5 g serat, 2 mg vitamin C, dan 26 mg kalsium. Belitung juga merupakan sumber karbohidrat pengganti nasi bagi penderita diabetes (Sundari, 2014).

Belitung menghasilkan umbi di sekeliling batang yang dapat digunakan sebagai propagul untuk perbanyakan. Satu pokok belitung dapat menghasilkan 185,2–1.312,6 g umbi per tanaman dalam waktu 4–7 bulan (Minantyorini, 2015). Keperluan umbi per hektar dengan jarak tanam 50 cm × 50 cm atau 100 cm × 100 cm adalah 10.000–40.000 umbi. Perbanyakan tanaman tersebut, selain secara konvensional menggunakan umbi sebagai bibit, dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan yang telah terbukti dapat memperbanyak berbagai tanaman secara cepat. Bibit yang dihasilkan dari kultur *in vitro* mempunyai beberapa keunggulan, antara lain dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim, mempunyai sifat yang identik dengan induknya, mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dalam waktu singkat, kesehatan bibit terjamin, dan kecepatan perbanyakannya tinggi (Armini *et al.*, 1992).

Keberhasilan perbanyakan melalui kultur *in vitro* ditentukan oleh banyak faktor, di antaranya zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan (Mantell *et al.*, 1985). ZPT adalah senyawa organik yang dalam konsentrasi rendah akan memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dalam kultur *in vitro*, biasanya ZPT berfungsi mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan dan organ yang dikulturkan (George dan Sherrington, 1984). Benzil amino purin (BAP) merupakan salah satu ZPT dari golongan sitokinin yang sering digunakan dalam perbanyakan *in vitro*. BAP paling banyak digunakan karena relatif lebih stabil, tidak mahal, dan paling efektif dibanding dengan sitokinin lainnya (Srivastava, 2002).

Perbanyakan (multiplikasi) tunas menggunakan teknik kultur *in vitro* dengan menambahkan BAP pada media dasar telah dilakukan pada tanaman cabai (Manzila *et al.*, 2010) dan jeruk siam (Husni *et al.*, 2010). BAP juga dapat meningkatkan jumlah tunas ubi kelapa dan gembili (Hutami *et al.*, 2014), serta memacu pertumbuhan tunas illes-illes (Supriati *et al.*, 2002) dan talas (Dewi, 2002). Selain untuk tujuan perbanyakan tunas, baik tunas ganda maupun

tunas adventif, BAP diperlukan dalam kegiatan konservasi *in vitro*.

Pada umumnya, konservasi plasma nutfah ubi-ubian, termasuk belitung, dilakukan di lapang. Namun, konservasi dengan cara tersebut sangat rentan terhadap terjadinya kehilangan aksesori akibat cekaman biotik dan abiotik. Oleh karena itu, konservasi secara *in vitro* menjadi *back up* apabila terjadi kehilangan aksesori yang dikoleksi di lapang. Keuntungan konservasi *in vitro* antara lain mudah dalam penyimpanan, menghemat pemakaian lahan, tenaga, dan biaya, dapat mencegah erosi genetik, mempermudah pengiriman, bebas gangguan hama penyakit dan gangguan alam lainnya (Leunufna, 2007).

Aplikasi teknik *in vitro* yang dapat digunakan dalam konservasi adalah metode pertumbuhan lambat/minimal (*slow growth*), yaitu koleksi *in vitro* tanaman dikonservasi dalam jangka menengah. Metode ini dapat dilakukan antara lain dengan pemberian regulator osmotik (osmoprotektan) yang memengaruhi tekanan osmotik media seperti manitol atau sorbitol, pemberian retardan yang menghambat pertumbuhan seperti paklobutrazol (PBZ), ansimidol, dan *cycocel* (Keller *et al.*, 2006; Tyagi *et al.*, 2006), pengenceran garam-garam mineral, dan penurunan konsentrasi sukrosa (Pookmanee *et al.*, 2001). Pemberian osmotikum dan retardan telah banyak dilakukan dalam konservasi *in vitro* tanaman, seperti jeruk besar (Dewi *et al.*, 2010), purwoceng (Roostika *et al.*, 2009), kentang hitam (Roostika *et al.*, 2005), temulawak (Syahid, 2007), ubi jalar (Dewi dan Sabda, 2005; Sunarlim *et al.*, 1999), ubi kayu dan talas (Dewi dan Sabda, 2005). Pengenceran konsentrasi garam-garam mineral dilakukan dalam konservasi *Amorphopallus* sp., sedangkan penurunan konsentrasi sukrosa dilakukan dalam konservasi *Dioscorea* sp. (Maluarie *et al.*, 1993). Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh BAP terhadap multiplikasi tunas belitung secara *in vitro*, pengaruh pengenceran media dan pengurangan konsentrasi sukrosa, serta pengaruh osmotikum (manitol) dan retardan (PBZ) terhadap pertumbuhan belitung dalam konservasi *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Konservasi *In Vitro* Tanaman, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor mulai bulan Oktober 2012 sampai dengan Februari 2014. Penelitian terdiri atas dua kegiatan, yaitu kegiatan multiplikasi tunas *in vitro* dan konservasi secara pertumbuhan minimal.

Multiplikasi Tunas *In Vitro*

Bahan tanaman (eksplan) yang digunakan adalah tunas anakan belitung dari lima nomor aksesori (No. aksesori S0003, B0067, B0094, B0180, dan 22) yang merupakan koleksi lapang Kebun Percobaan Pacet, BB Biogen. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga ulangan. Sebagai media multiplikasi, digunakan media dasar MS dengan penambahan BAP (0, 1, 2, 3 mg/l), setiap perlakuan diulang tiga kali (tiga botol), setiap botol ditanami tiga eksplan (tunas). Biakan diinkubasi dalam keadaan terang (intensitas cahaya 1.000 lux) selama 12 jam pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas yang terbentuk pada 6 minggu setelah tanam (MST) dan 12 MST, serta penampilan visual biakan. Data dianalisis dengan analisis varian (Anova). Uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5% dilakukan setelah uji F nyata. Tunas *in vitro* hasil multiplikasi digunakan sebagai eksplan dalam kegiatan konservasi *in vitro*.

Konservasi secara Pertumbuhan Minimal

Kegiatan penelitian konservasi dilakukan dengan menggunakan RAL dengan tiga ulangan. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas *in vitro* berukuran 1 cm hasil multiplikasi tunas dari kegiatan sebelumnya. Media perlakuan terdiri atas media kontrol MS (Murashige dan Skoog, 1962), media $\frac{1}{2}$ MS (komposisi hara makro diencerkan setengah dari media MS) dengan sukrosa 30 g/l, media MS dengan sukrosa 15 g/l, media MS yang ditambah manitol (20, 40, 60 g/l), dan media MS ditambah PBZ (1, 2, 3 mg/l). Media MS digunakan sebagai media dasar pada setiap percobaan ditambah mio-inositol 100 mg/l, tiamin-HCl 0,1 mg/l, piridoksin 0,5 mg/l, asam nikotinat 0,5 mg/l, glisin 2 mg/l, dan sukrosa 30 g/l. Manitol dan PBZ ditambahkan sesuai perlakuan. Derajat keasaman (pH) media ditetapkan 5,8 sebelum penambahan fitagel 2,05 g/l, dan larutan media tersebut kemudian diautoklaf pada tekanan 18–20 psi dan suhu 120°C selama 20 menit. Setiap botol diisi media sebanyak 25 ml. Semua per-

lakukan diinkubasi dalam keadaan terang (intensitas cahaya 1.000 lux) selama 12 jam pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pengamatan dilakukan setiap 4 minggu hingga umur 20 MST dengan peubah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar, jumlah tanaman yang bertahan hidup hingga umur 35 MST, penampilan biakan secara kualitatif terhadap ukuran daun (normal dan kecil), ketegaran biakan (tinggi, sedang, dan kurang), dan warna daun (hijau dan hijau muda). Data dianalisis dengan analisis varian, sedangkan uji lanjut dilakukan dengan menggunakan uji BNJ pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Multiplikasi Tunas *In Vitro*

BAP merupakan ZPT golongan sitokinin yang dapat merangsang pembelahan sel pada jaringan eksplan dan merangsang multiplikasi tunas pada perbanyakannya *in vitro*. Keadaan ini terlihat pada jumlah tunas yang dihasilkan dalam media kontrol (MS + BAP 0 mg/l) nyata lebih sedikit dibanding dengan jumlah tunas yang dihasilkan pada media yang diberi ZPT. Pembentukan tunas pada media kontrol yang diamati pada 6 MST disebabkan biakan belitung dalam kultur *in vitro* mampu memproduksi hormon sitokinin endogen namun dalam jumlah sedikit sehingga tidak cukup merangsang pembentukan tunas pada pertumbuhan selanjutnya. Semakin tinggi konsentrasi BAP, semakin banyak tunas yang dihasilkan. Jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada perlakuan BAP 3 mg/l (7,55 tunas/eksplan) pada 12 MST (Tabel 1 dan Gambar 1). Peningkatan jumlah tunas disebabkan di dalam kultur *in vitro* BAP menstimulir terjadinya pembelahan sel, mendorong proliferasi meristem, dan pembentukan tunas (George dan Sherrington, 1984).

Penambahan BAP 3 mg/l ke dalam media *in vitro* dilaporkan paling sesuai untuk regenerasi tunas cabai (Manzila *et al.*, 2010). Pada tanaman jeruk siam juga menunjukkan hasil yang terbaik (Husni, 2010). Untuk perbanyakannya ubi kelapa dan gembili, konsen-

Tabel 1. Pengaruh perlakuan media terhadap jumlah tunas *in vitro* belitung.

Konsentrasi BAP	Minggu setelah tanam (MST)	
	6	12
0	1,00 a	1,03 a
1 mg/l	2,58 b	3,40 b
2 mg/l	3,51 c	4,99 c
3 mg/l	3,80 cd	7,55 d

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji BNJ.

trasi BAP hingga 5 mg/l menunjukkan hasil terbaik (Hutami *et al.*, 2014), demikian pula pada iles-iles (Supriati *et al.*, 2002). Kemampuan regenerasi suatu biakan di antaranya bergantung pada ZPT yang digunakan (Rashid *et al.*, 2002; Sisharmini *et al.*, 2010). Menurut Hutami *et al.* (2014), BAP termasuk ZPT golongan sitokinin yang bermanfaat untuk pertumbuhan tunas gambeli yang ditumbuhkan secara *in vitro*.

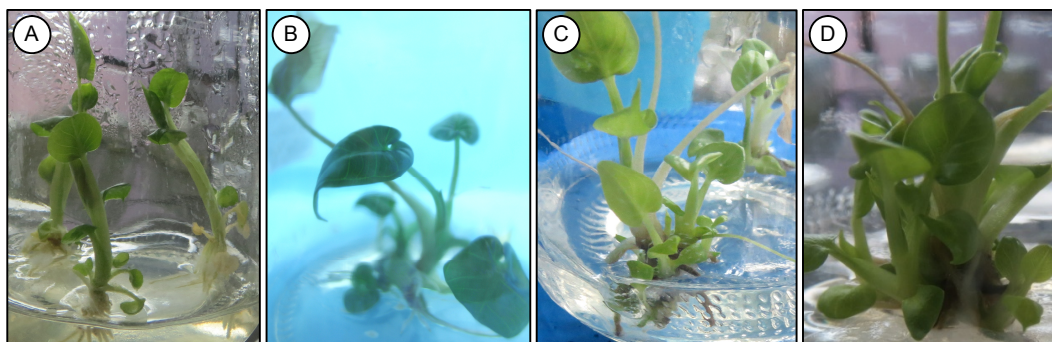
Konservasi secara Pertumbuhan Minimal

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa media yang digunakan berpengaruh nyata terhadap semua peubah yang diamati. Selama 20 minggu, biakan dapat dikonservasi tanpa perlu dilakukan subkultur.

Tinggi biakan pada semua perlakuan media MS (MS + sukrosa 30 g/l, ½ MS + sukrosa 30 g/l, dan MS + 15 sukrosa 15 g/l) berbeda nyata dengan tinggi tanaman pada media yang diberi manitol dan PBZ (Tabel 2). Pengurangan garam-garam mineral pada media ½ MS dan pengurangan konsentrasi sukrosa hingga 15 g/l tidak berpengaruh terhadap tinggi biakan. Hal ini berbeda dengan pendapat Catana *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa pertumbuhan lambat secara *in vitro* dapat diinduksi dengan menurunkan konsentrasi unsur hara pada media. Keadaan ini menunjukkan bahwa biakan belitung dapat beradaptasi

dalam keadaan minimnya unsur hara dan sumber karbon. Pengurangan konsentrasi garam-garam mineral dan sukrosa yang digunakan dalam penelitian ini belum cukup optimal untuk menghambat pertumbuhan biakan belitung. Akibatnya, belitung pada kedua media ini memerlukan periode subkultur yang sama dengan belitung pada media kontrol.

Mulai umur 8 MST, perlakuan manitol lebih menghambat pertumbuhan biakan belitung dibandingkan dengan semua perlakuan lainnya. Penambahan manitol efektif hingga konsentrasi 40 g/l. Peningkatan konsentrasi manitol hingga 60 g/l menyebabkan kematian 93,3% biakan belitung pada umur 12 MST. Penggunaan manitol 40 g/l juga telah digunakan untuk konservasi *in vitro* ubi jalar (Dewi dan Sabda, 2005; Sunarlim *et al.*, 1999) dan talas (Dewi dan Sabda, 2005). Manitol merupakan gula alkohol yang memengaruhi osmolaritas media (Shibli *et al.*, 2006). Penambahan manitol pada media tanam menyebabkan peningkatan tekanan osmotik media yang berakibat serapan mineral dan air oleh biakan terhambat. Hal ini menurunkan laju pembelahan dan morfogenesis sel atau jaringan yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan kultur (Dodds dan Roberts, 1985) sehingga secara visual biakan belitung yang berasal dari perlakuan manitol terlihat kerdil.



Gambar 1. Penampilan biakan belitung yang ditanam pada media MS dengan penambahan BAP. A = media MS (kontrol), B = MS + BAP 1 mg/l, C = MS + BAP 2 mg/l, D = MA + BAP 3 mg/l.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan media penyimpanan terhadap tinggi biakan belitung.

Media perlakuan	Minggu setelah tanam (MST)				
	4	8	12	16	20
MS + sukrosa 30 g/l (kontrol)	2,00 d	4,50 e	6,00 de	8,00 e	8,00 e
½ MS + sukrosa 30 g/l	2,00 d	4,53 e	5,50 d	7,43 de	8,00 e
MS + sukrosa 15 g/l	2,00 d	2,50 c	4,50 d	8,00 e	8,00 e
MS + manitol 20 g/l	1,50 c	1,67 b	2,17 bc	3,30 c	4,33 c
MS + manitol 40 g/l	1,00 a	1,17 ab	1,70 b	2,00 b	2,00 b
MS + manitol 60 g/l	1,00 a	1,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
MS + PBZ 1 mg/l	1,27 b	2,50 c	3,50 cd	4,50 c	4,77 cd
MS + PBZ 2 mg/l	1,00 a	1,50 b	2,40 c	3,00 c	3,60 c
MS + PBZ 3 mg/l	1,00 a	1,50 b	1,73 bc	1,60 b	2,00 b

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji BNJ.

Penggunaan PBZ hingga 3 mg/l menyebabkan penghambatan tinggi tanaman secara nyata pada biakan belitung. PBZ mempunyai sifat translokasi yang lebih baik daripada retardan lainnya sehingga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan biakan. Semakin tinggi konsentrasi PBZ, semakin pendek ruas biakan yang dihasilkan. Namun, pemendekan ruas akan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya umur simpan sehingga menghasilkan panjang ruas yang normal pada bagian atas biakan (Dewi, 2002). Biakan yang diberi PBZ lebih pendek karena PBZ menghambat biosintesis giberelin. Akibatnya, pemanjangan sel terhambat dan tunas menjadi lebih pendek (Wattimena, 1988). Pengaruh nyata PBZ terhadap tinggi tanaman gambili terlihat pada konsentrasi 5 mg/l (Sunarlim *et al.*, 2004). Penghambatan tinggi tunas oleh PBZ terlihat pula pada biakan temulawak (Syahid, 2007) dan nilam (Wulandari dan Ermayanti, 2010).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan manitol dan PBZ ke dalam media konservasi berpengaruh nyata terhadap jumlah daun. Jumlah daun pada media dengan penambahan keduanya mulai berbeda nyata dengan kontrol pada pengamatan umur 6 MST sampai dengan 12 MST. Penambahan PBZ pada semua konsentrasi nyata meningkatkan jumlah daun yang terbentuk dibanding dengan daun perlakuan lainnya (Tabel 3).

Seperti halnya tinggi biakan, jumlah daun biakan belitung pada media yang dikurangi baik garam-garam mineral maupun sukrosanya tidak berbeda nyata dengan kontrol. Pada 20 MST, jumlah daun segar terlihat berkurang akibat terjadinya pelayuan daun.

Pelayuan daun pada perlakuan manitol 20 g/l tidak secepat pada perlakuan lainnya. Penambahan manitol 20 mg/l mempertahankan jumlah daun yang terbentuk hingga 16 MST, sedangkan penambahan

manitol 40 g/l mempertahankan jumlah daun hingga 8 MST. Penambahan manitol 60 g/l menyebabkan biakan tidak tumbuh dan akhirnya mati.

Jumlah daun segar pada biakan dengan perlakuan PBZ nyata lebih banyak dibanding dengan perlakuan lainnya. Hingga umur penyimpanan 16 MST, jumlah daun segar tidak berbeda nyata pada berbagai konsentrasi PBZ. Tidak demikian halnya dengan manitol, setelah 12 MST terjadi penurunan jumlah daun akibat meningkatnya konsentrasi manitol yang digunakan. Pada saat masa simpan 20 MST, jumlah daun pada media PBZ mulai menurun, namun pada konsentrasi 2 mg/l dan 3 mg/l jumlah daun hijau masih nyata lebih banyak dibanding dengan perlakuan lainnya.

Penambahan PBZ menyebabkan penampilan visual biakan belitung berbeda dibanding dengan biakan belitung pada media lainnya. Pada media dengan PBZ, batang tanaman terlihat tegar dan kuat serta warna daun lebih hijau (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Wattimena (1988) bahwa PBZ dapat menghambat biosintesis GA3 dan dapat meningkatkan warna hijau pada daun. Selain lebih hijau, semakin tinggi konsentrasi PBZ yang diberikan, semakin kecil ukuran daun. Hal ini disebabkan PBZ menghambat fotosintesis dan respirasi biakan yang menyebabkan perkembangan daun terhambat.

Jumlah akar pada berbagai kombinasi media MS, manitol 20 g/l, dan PBZ 1 mg/l dan 2 mg/l nyata lebih banyak dibanding dengan akar pada media manitol 40 mg/l dan PBZ 3 mg/l (Tabel 4). Terbentuknya akar dalam jumlah banyak menyebabkan lebih luasnya bidang serapan hara pada media sehingga penampilan biakan terlihat tinggi pada media-media tersebut (Tabel 2).

Pembentukan akar biakan belitung tidak dipengaruhi baik oleh pengurangan kandungan garam mineral maupun penurunan konsentrasi sukrosa. Hal

Tabel 3. Pengaruh perlakuan media penyimpanan terhadap jumlah daun segar biakan belitung.

Media perlakuan	Minggu setelah tanam (MST)				
	4	8	12	16	20
MS + sukrosa 30 g/l (kontrol)	2,67 de	4,00 cd	4,00 cd	4,00 cd	2,00 b
½ MS + sukrosa 30 g/l	1,67 cd	4,00 cd	3,00 c	3,00 c	2,00 b
MS + sukrosa 15 g/l	1,67 cd	3,00 c	3,00 c	3,00 c	2,33 b
MS + manitol 20 g/l	2,00 cd	4,00 cd	4,33 d	4,00 cd	3,00 c
MS + manitol 40 g/l	1,33 bc	3,00 c	2,33 bc	2,00 b	2,00 b
MS + manitol 60 g/l	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
MS + PBZ 1 mg/l	2,00 cd	5,33 de	5,00 d	12,00 e	3,77 cd
MS + PBZ 2 mg/l	1,67 cd	6,00 de	5,00 d	13,00 e	6,33 e
MS + PBZ 3 mg/l	1,33 bc	5,00 d	6,00 de	12,00 e	6,00 e

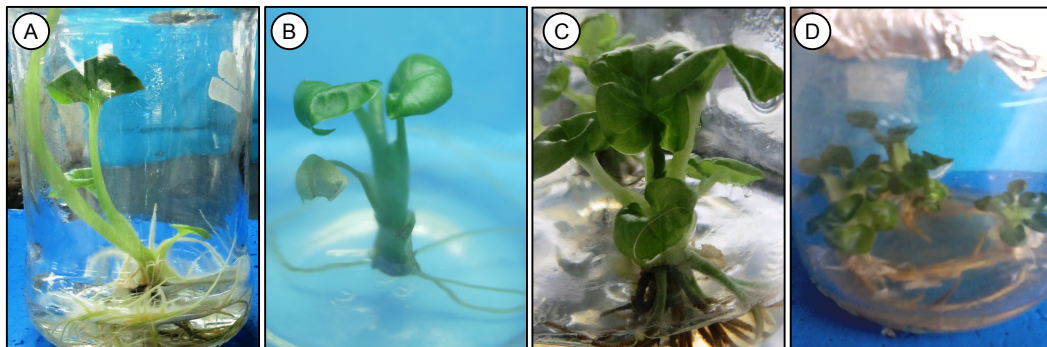
Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji BNJ.

ini berbeda dengan penambahan manitol. Pada berbagai konsentrasi, manitol menurunkan jumlah akar yang terbentuk.

Meskipun jumlah akar cukup banyak dan tidak berbeda dengan kontrol, biakan pada perlakuan PBZ 1 mg/l dan 2 mg/l tidak sebanyak biakan pada kontrol. Hal ini disebabkan PBZ merupakan senyawa retardan yang di dalam jaringan tanaman ditranslokasikan secara akropetal melalui jaringan xilem sehingga dapat menghambat pemanjangan sel pada meristem terminal dan mengurangi laju pemanjangan batang (Cathey, 1975). Kondisi pertumbuhan yang terhambat dapat mengurangi frekuensi subkultur biakan. Setelah penyimpanan selama 35 minggu,

terlihat penambahan PBZ 1 mg/l dan 2 mg/l menunjukkan daya hidup 100% (Tabel 5). Daunnya berukuran kecil dan berwarna hijau, sedangkan penampilan batangnya tegar.

Berdasarkan pengamatan visual, terlihat biakan yang ditanam dengan perlakuan manitol 20 g/l lebih tegar pertumbuhannya dibanding dengan perlakuan media manitol 40 g/l dan 60 g/l. Warna daun pada media dengan penambahan PBZ lebih hijau dibanding dengan warna daun pada media lainnya. Penampilan biakan yang diberi manitol atau PBZ lebih pendek, selain itu daunnya lebih kecil daripada kontrol.



Gambar 2. Penampilan biakan belitung pada media konservasi. A = media MS (kontrol), B = MS + manitol 4%, C = MS + PBZ 2 mg/l, D = MS + PBZ 3 mg/l.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan media penyimpanan terhadap jumlah akar biakan belitung.

Media perlakuan	Minggu setelah tanam (MST)		
	4	8	12
MS + sukrosa 30 g/l (kontrol)	3,90 d	9,60 e	17,30 e
½ MS + sukrosa 30 g/l	3,50 d	9,70 e	16,60 e
MS + sukrosa 15 g/l	2,90 cd	7,40 d	15,70 de
MS + manitol 20 g/l	2,00 c	6,80 d	10,40 c
MS + manitol 40 g/l	0,80 b	4,20 c	8,10 b
MS + manitol 60 g/l	0,00 a	0,10 a	0,10 a
MS + PBZ 1 mg/l	3,40 d	8,30 d	17,10 e
MS + PBZ 2 mg/l	2,30 c	7,80 d	15,80 de
MS + PBZ 3 mg/l	0,70 b	4,90 c	11,50 c

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji BNJ.

Tabel 5. Penampilan visual biakan belitung *in vitro* pada berbagai media penyimpanan, umur 35 MST.

Media perlakuan	Daya hidup (%)	Ukuran daun	Ketegaran	Warna daun
MS + sukrosa 30 g/l (kontrol)	70	Normal	Tegar	Hijau muda
½ MS + sukrosa 30 g/l	90	Normal	Sedang	Hijau muda
MS + sukrosa 15 g/l	83	Normal	Sedang	Hijau muda
MS + manitol 20 g/l	93	Normal	Tegar	Hijau
MS + manitol 40 g/l	80	Kecil	Sedang	Hijau muda
MS + manitol 60 g/l	6	-	-	-
MS + PBZ 1 mg/l	100	Kecil	Tegar	Hijau
MS + PBZ 2 mg/l	100	Kecil	Tegar	Hijau
MS + PBZ 3 mg/l	96	Kecil	Tegar	Hijau

Perlakuan PBZ pada semua taraf konsentrasi cenderung lebih baik berdasarkan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman dan rendahnya tingkat kematian dibanding dengan kondisi biakan pada perlakuan lainnya. Berdasarkan persentase daya hidup, ketegaran tanaman, warna daun, tinggi tanaman, jumlah daun, dan jumlah akar pada penyimpanan hingga umur 35 MST, terlihat penambahan PBZ konsentrasi 2 mg/l memberikan penampilan terbaik. Oleh karena itu, sebaiknya belitung dikonservasi pada media yang diberi PBZ 2 mg/l. Dalam rangka efisiensi biaya, media $\frac{1}{2}$ MS + sukrosa 30 g/l juga dapat digunakan untuk konservasi belitung hingga 35 MST.

KESIMPULAN

Konsentrasi BAP 3 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk multiplikasi tunas *in vitro* belitung dengan hasil 7,55 tunas/eksplan pada 12 MST. Media MS ditambah PBZ 2 mg/l merupakan media terbaik untuk konservasi belitung dengan umur simpan 35 MST. Untuk efisiensi biaya, media $\frac{1}{2}$ MS + sukrosa 30 g/l dapat dijadikan formulasi media alternatif untuk penyimpanan konservasi *in vitro* hingga 35 MST.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih Kepada Prof. (Riset) Ida Hanarida dan Dra. Minantyorini yang telah memberikan izin pengambilan eksplan belitung di koleksi penyimpanan lapang, juga kepada Dr. Tri Muji Ermayanti yang telah membimbing dalam penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Armini, N.M., G.A. Wattimena, dan L.W. Gunawan. 1992. Perbanyak tanaman. Dalam: Tim Laboratorium, editor, Bioteknologi tanaman I. PAU Bioteknologi, IPB, Bogor. hlm. 59–70.
- Catană, R., E.M. Mitoi, F. Helepiciuc, and I. Holobiuc. 2010. *In vitro* conservation under slow growth conditions of two rare plant species from caryophyllaceae family. *Elec. J. Biol.* 6:86–91.
- Cathey, H.M. 1975. Comparative plant growth-retarding activities of ancymidol with ACPC, phosphon, chlormequat, and SADH on ornamental plant species. *HortScience* 10(3):204–215.
- Dewi, N. 2002. Perbanyak dan pelestarian plasma nutfah talas (*Colocasia esculenta* [L.] Schott) secara *in vitro*. Tesis S2, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dewi, N. dan M. Sabda. 2005. Pelestarian *in vitro* pada plasma nutfah ubi jalar, ubi kayu, dan talas. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian 2004. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. hlm. 1–7.
- 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.). *J. AgroBiogen* 6(2):84–90.
- Dodds, J.H. and L.W. Roberts. 1985. *Experiments in plant tissue culture*. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetic Ltd. Eversley, Basingstoke, UK.
- Husni, A., A. Purwito, I. Mariska, dan Sudarsono. 2010. Regenerasi jeruk siam melalui embriogenesis somatik. *J. AgroBiogen* 6(2):75–83.
- Hutami, S., R. Purnamaningsih, I. Mariska, dan S. Diantina. 2014. Multiplikasi tunas dan induksi perakaran pada ubi kelapa (*Dioscorea alata* L.) dan gembili (*Dioscorea esculenta* L.) secara *in vitro*. *J. AgroBiogen* 10(2):53–60.
- Keller, E.R.J., A. Senula, S. Leunufna, and M. Grube. 2006. Slow growth storage and cryopreservation-tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *Int. J. Refrig.* 29:411–417.
- Leunufna, S. 2007. Kriopreservasi untuk konservasi plasma nutfah: Peluang pemanfaatannya di Indonesia. *J. AgroBiogen* 3(2):80–88.
- Maluarie, B., O. Pungu, R. Dumont, and M.E. Trouslot. 1993. The creation of an *in vitro* germplasm collection of yam (*Dioscorea* spp.) for genetic resources preservation. *Euphytica* 65:113–122.
- Mantell, S.H., J.A. Mattehws, and R.A. Mckee. 1985. *Principle of plant biotechnology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Manzila, I., S.H. Hidayat, I. Mariska, dan S. Sujiprihati. 2010. Induksi kalus serta regenerasi tunas dan akar cabai melalui kultur *in vitro*. *J. AgroBiogen* 6(2):65–74.
- Minantyorini. 20015. Belitung, talas berumbi banyak. *Warta Plasma Nutfah Indonesia* 27:8–11.
- Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. A resived medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiol Plant* 15:473–479.
- Pookmanee, T., R. Amphawan, N. Topoonyanont, and N. Wichit. 2001. *In vitro* germplasm preservation of *Amorphophallus oncophyllus* Prain ex Hook. F. Proceeding of the 3rd Maejo University Annual Conference, Maejo University, Chiang Mai, Thailand. p. 145–155.
- Rashid, H., R.A. Ghani, and Z. Chaudhry. 2002. Effect of media, growth regulator, and genotypes on callus induction and regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biotechnology* 1(1):49–54.

- Roostika, I., R. Purnamaningsih, dan I. Darwati. 2009. Penyimpanan *in vitro* tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) melalui aplikasi pengenceran media dan paklobutrazol. *J. Penelitian Tanaman Industri* 15(2):84–90.
- Roostika, I., N. Sunarlim, dan A.V. Noviati. 2005. Teknik penyimpanan kentang hitam secara *in vitro*. *J. Pen. Pert. Tan. Pangan* 24(1):46–51.
- Shibli, R.A., M.A. Shatnawi, W.S. Subaih, and M.M. Ajlouni. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: Review. *World J. Agric. Sci.* 2(4):372–282.
- Sisharmini, A., A. Apriana, dan Sustiprijatno. 2010. Induksi kalus dan regenerasi beberapa genotipe gandum (*Triticum aestivum* L.) secara *in vitro*. *J. AgroBiogen* 6(2):57–64.
- Srivastava, L.M. 2002. Plant growth and development. hormones and environment. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Sunarlim, N., Minantyorini, N. Zuraida, W.H. Adil, I.S. Dewi, dan S. Hutami. 1999. Pelestarian plasma nutfah ubi-ubian secara *in vitro*. Laporan Hasil Penelitian. Balitbio, Bogor.
- Sunarlim, N., A.V. Novianti, dan I. Rostika. 2004. Penyimpanan *in vitro* gembili melalui pertumbuhan minimal. Dalam: A.K. Makarim, Marwoto, M.M. Adie, A.A. Rahmianna, Heriyanto, dan I.K. Tastra, editor, Kinerja penelitian mendukung agribisnis kacang-kacangan dan umbi-umbian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor. hlm. 267–275.
- Sundari, D.F. 2014. Pengukuran indeks glikemik cookies tepung talas belitung (*Xanthosoma sagittifolium*). Skripsi S1, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Supriati, Y., W.H. Adil, D. Sukmajaya, dan I. Mariska. 2002. Peningkatan multiplikasi tunas dan induksi akar iles-iles melalui kultur *in vitro*. Dalam: I. Mariska, I.H. Somantri, I.M. Samudra, A.D. Ambarwati, J. Prasetyono, dan I.N. Orbani, editor, Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. hlm. 222–229.
- Syahid, S.F. 2007. Pengaruh retardan paclobutrazol terhadap pertumbuhan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) selama konservasi *in vitro*. *J. Litri* 13(3):93–97.
- Tyagi, R.K., A. Agrawal, and A. Yusuf. 2006. Conservation of zingiber germplasm through *in vitro* rhizome formation. *Sci. Hort.* 108:210–219.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat pengatur tumbuh tanaman. Bioteknologi. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 145 hlm.
- Wulandari, D.R. dan T.M. Ermayanti. 2010. Konservasi *in vitro* nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan perlakuan paclobutrazol. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus* 4A:71–76.
-