

Pengaruh Retardan Paklobutrazol terhadap Pertumbuhan dan Pemulihan Dua Aksesori Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang Disimpan secara *In Vitro* (Effect of Retardant Paclobutrazol on *In Vitro* Growth and Recovery of Two Cassava [*Manihot esculenta* Crantz] Accessions)

Surya Diantina^{1*}, Darda Efendi², dan Ika Mariska¹

¹Balai 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: suryadiantina@gmail.com

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680 Indonesia

Diajukan: 30 September 2015; Direvisi: 20 Oktober 2015; Diterima: 18 November 2015

ABSTRACT

Normal growth medium is not effective for *in vitro* conservation due to the risk of somaclonal variation that may increase due to short interval between subculture. Two experiments involving growth retardant paclobutrazol (PBZ) were conducted to reduce explants growth and extend subculture interval. In order to develop medium-term conservation of cassava, the recovery of plantlets after *in vitro* storage was also observed. Accession 433 and 450 were used in two independent experiments. Completely Randomized Design was used with three replications. PBZ at 0, 3.4, 6.8, and 10.2 μM were supplemented onto MS medium + arginin 100 ppm. Observation was done on shoot length, number of nodes and leaves, and number of white and senescence leaves. The results showed that after nine months without subculture, both cassava accessions showed different results in *in vitro* growth and their recovery. PBZ 3.4 μM performed as the best treatment in accession 433 and 450 to reduce *in vitro* growth and their recovery after storage.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, retardant, paclobutrazol.

ABSTRAK

Konservasi ubi kayu secara *in vitro* dalam media pertumbuhan normal berisiko menimbulkan variasi somaklonal akibat frekuensi subkultur yang tinggi. Oleh karena itu, penyimpanan jangka menengah dengan menggunakan zat penghambat tumbuh (retardan) perlu dikembangkan untuk menghambat pertumbuhan dan memperpanjang interval subkultur. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh zat penghambat tumbuh dari golongan senyawa *triazole* (paklobutrazol/PBZ) terhadap pertumbuhan dua aksesori ubi kayu, yaitu aksesori 433 dan 450, yang disimpan secara *in vitro*, dan kemampuan regenerasi biakan untuk dapat tumbuh normal kembali pada media pemulihan. Setiap aksesori diamati sebagai dua percobaan terpisah selama 9 bulan tanpa subkultur dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan retardan PBZ sebagai faktor tunggal pada konsentrasi 0, 3,4, 6,8, dan 10,2 μM ditambahkan pada media dasar MS + arginin 100 ppm. Pengamatan dilakukan terhadap peubah panjang tunas, jumlah ruas, jumlah daun, jumlah daun putih, dan jumlah daun gugur. Kedua aksesori menunjukkan pengaruh yang berbeda dalam pertumbuhan dan kemampuan regenerasi eksplan setelah penyimpanan *in vitro*. PBZ 3,4 μM menunjukkan hasil terbaik untuk aksesori 450 dan 433 dalam menghambat pertumbuhan biakan ubi kayu selama penyimpanan dan kemampuan biakan untuk tumbuh normal kembali dalam media pemulihan.

Kata kunci: *Manihot esculenta* Crantz, retardan, paklobutrazol.

PENDAHULUAN

Konservasi atau penyimpanan *in vitro* merupakan salah satu alternatif dalam melestarikan plasma nutfah ubi kayu. Konservasi ubi kayu secara *in vitro* pada media kultur yang biasa digunakan untuk perbanyakan memerlukan subkultur berulang. Subkultur setiap 4–5 minggu diperlukan untuk mempertahankan biakan ubi kayu karena tingkat kelayuan dan gugur daunnya sangat tinggi (Hankoua *et al.*, 2005). Pada konservasi plasma nutfah, frekuensi subkultur yang tinggi juga meningkatkan kemungkinan terjadinya variasi somaklonal (Skirvin *et al.*, 1994). Oleh karena itu, penggunaan media kultur biasa hanya dapat digunakan untuk pemeliharaan, tidak efektif jika digunakan untuk mengonservasi, selain memerlukan biaya yang tinggi.

Konservasi *in vitro* dalam jangka waktu yang lebih lama (beberapa bulan hingga beberapa tahun) atau konservasi jangka menengah, dengan menyimpan biakan pada media kultur yang ditambahkan retardan atau zat penghambat tumbuh, dikenal dengan konservasi secara pertumbuhan minimal atau pertumbuhan lambat. Penambahan retardan pada media kultur *in vitro* menghambat pertumbuhan dan mengubah morfologi tanaman sehingga diharapkan memperpanjang interval subkultur (Engelman, 1991; Grout, 1995). Aktivitas retardan diharapkan hanya menghambat biosintesis giberelin, namun tidak mengakibatkan perubahan genetik dan viabilitas biakan sehingga tetap dapat diregenerasikan, meskipun telah disimpan dalam jangka waktu yang lama (Wulandari dan Ermayanti, 2010).

Penelitian konservasi *in vitro* di Indonesia hingga kini telah banyak dilakukan, antara lain pada nilam (Wulandari dan Ermayanti, 2010), pisang (Aridha *et al.*, 2009; Hardiningsih dan Alfi, 2010), purwoceng (Roostika *et al.*, 2009), jeruk pamelo (Dewi *et al.*, 2010), dan ubi jalar (Roostika dan Sunarlim, 2001). Penelitian pertumbuhan minimal ubi kayu juga pernah dilakukan oleh Sunarlim dan Zuraida (2001) dengan perlakuan osmotikum manitol dan retardan paklobutrazol (PBZ), serta inhibitor ABA. Hasil penelitian tersebut menunjukkan respons kemampuan simpan yang berbeda-beda untuk tiap genotipe, tetapi belum diketahui kemampuan biakan untuk tumbuh normal kembali (*recovery*) setelah penyimpanan.

Aksesi 433 dan 450 adalah plasma nutfah yang berasal dari hasil persilangan ubi kayu di BB Biogen. Aksesi 433 diperoleh dari hasil persilangan bersari bebas dari tetua Adira, sedangkan aksesi 450 diperoleh dari hasil persilangan bersari bebas dari tetua

klon lokal asal Muara, Bogor. Hasil analisis biokimia pada tepung ubi kedua aksesi menunjukkan tingginya kandungan pati dan karbohidrat, yaitu di atas 80%, dengan kadar HCN rendah sehingga keduanya berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber pangan. Kedua aksesi tersebut merupakan klon hasil persilangan yang belum diperbanyak oleh masyarakat sehingga perlu dilestarikan untuk menjamin ketersediaannya di masa depan.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh retardan dari golongan senyawa *triazole* (PBZ) pada pertumbuhan biakan dua aksesi ubi kayu, yaitu aksesi 433 dan 450, yang disimpan secara *in vitro*, dan kemampuan biakan untuk dapat tumbuh kembali pada media pemulihan secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Juni 2011 hingga Desember 2012 di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, BB Biogen. Sumber eksplan adalah biakan *in vitro* dua aksesi ubi kayu, yaitu aksesi 433 dan 450.

Penyimpanan *In Vitro* Ubi Kayu Aksesi 433 dan 450 pada Media Pertumbuhan Minimal

Biakan *in vitro* ubi kayu aksesi 433 dan 450 telah dikulturkan pada media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962) selama 8 bulan dengan 3 kali subkultur pada media yang sama. Biakan lalu dipotong dengan ukuran sekitar 0,3–0,5 cm. Pada setiap eksplan terdapat satu mata tunas. Penelitian dilakukan pada dua percobaan terpisah untuk aksesi 433 dan 450. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan PBZ pada konsentrasi 0, 3,4, 6,8, dan 10,2 μM sebagai faktor tunggal dan diulang sebanyak 3 kali. Satuan percobaan adalah botol yang berisi eksplan sehingga terdapat dua belas satuan percobaan.

Setiap perlakuan ditambahkan pada media dasar MS yang diperkaya dengan arginin 100 ppm. Arginin adalah salah satu jenis asam amino organik kaya kandungan unsur N yang dibutuhkan untuk pertumbuhan, juga merupakan prekursor pada biosintesis putresin, salah satu poliamin yang berperan sebagai antisenesen pada tanaman (Borrel *et al.*, 1996). Media tanpa penambahan PBZ digunakan sebagai kontrol. Media diukur pada pH 5,8 sebelum ditambahkan bahan pematat fitagel sebanyak 2,5 g/l, kemudian dimasak dan dimasukkan ke dalam botol kultur sebelum disterilisasi pada otoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit.

Biakan disimpan selama 9 bulan pada kondisi pencahayaan 16 jam terang dengan intensitas cahaya

800–1.000 lux pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Pengamatan dilakukan pada keempat eksplan yang ditanam dalam satu botol pada umur 0, 3, 6, dan 9 bulan setelah tanam (BST) terhadap peubah kuantitatif: (1) panjang tunas, (2) jumlah daun, (3) jumlah ruas, (4) jumlah akar, (5) jumlah daun gugur, dan (6) jumlah daun putih/layu. Peubah kualitatif diamati pada umur 9 BST, yaitu penampilan visual biakan berupa warna batang dan daun, bentuk batang dan daun, serta vigor biakan.

Daya Tumbuh Ubi Kayu Aksesori 433 dan 450 Setelah Penyimpanan

Setelah disimpan selama 9 bulan, biakan disubkultur ke media pemulihan, yaitu media dasar MS yang terdiri atas unsur hara makro, mikro, dan vitamin, tanpa zat pengatur tumbuh. Eksplan yang tumbuh dari perlakuan pertumbuhan minimal pada 4 taraf konsentrasi PBZ (0, 3,4, 6,8, dan 10,2 μM) ditanam sebanyak 3 ulangan sehingga terdapat 12 satuan percobaan. Setiap aksesori diamati sebagai dua percobaan yang terpisah.

Biakan dikeluarkan dari botol tanpa dicuci, kemudian dipotong-potong minimal satu buku per eksplan berukuran $1 \pm 0,2$ cm. Eksplan ditanam pada media pemulihan lalu dikulturkan pada kondisi pencahayaan 16 jam terang dengan intensitas 800–1.000 lux pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Pengamatan dilakukan pada umur 4 minggu setelah tanam (MST) terhadap peubah kuantitatif: (1) panjang tunas, (2) jumlah daun, (3) jumlah ruas, dan (4) jumlah akar. Peubah kualitatif yang diamati pada minggu yang sama (4 MST), yaitu penampilan visual biakan berupa warna batang dan daun, bentuk batang dan daun, serta vigor biakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons Pertumbuhan Aksesori 433 dan 450 pada Media Penyimpanan

Pemanjangan tunas dua aksesori ubi kayu pada media dengan penambahan PBZ menjadi terhambat. Seluruh perlakuan dengan penambahan PBZ berbeda nyata dengan kontrol, mengakibatkan pemendekan tunas biakan ubi kayu pada aksesori 433 hingga sebesar 97,4% dan pada aksesori 450 sebesar 92% dibanding dengan kontrol (Tabel 1).

Menurut Salisbury dan Ross (1992), PBZ merupakan salah satu retardan yang dapat menghambat sintesis giberelin sehingga menghambat pemanjangan batang dan dapat menyebabkan pengerdilan. Demikian halnya menurut Jan dan Komatsu (2006), yang menyatakan bahwa regulasi pemanjangan tunas melalui pembelahan dan pemanjangan sel dipengaruhi oleh sintesis giberelin pada tanaman.

Biosintesis sitokinin dan giberelin berasal dari prekursor yang sama, yaitu *isopentenyl diphosphate* (Sakakibara, 2004). Tahap awal biosintesis giberelin diawali dari siklisasi *geranyl-geranyl diphosphate* (GGPP) menjadi *ent-kaurene* di membran plastid. PBZ termasuk golongan *triazole*, senyawa pirimidin yang mengandung lingkaran cincin-N yang menghambat biosintesis giberelin pada tahap yang lebih lanjut, yaitu oksidasi *ent-kaurene* menjadi *ent-kaurenoic acid* pada membran (di luar plastid), dengan menghambat *cytochrome P450* sehingga katalisasi enzim *kaurene oxydase* tidak terjadi (Rademacher, 2000).

Perlakuan PBZ setelah penyimpanan selama 9 bulan secara nyata menghambat pertumbuhan ruas dan jumlah daun ubi kayu aksesori 433, namun tidak nyata terhadap aksesori 450 (Tabel 2 dan 3). Menurut

Tabel 1. Pengaruh retardan paklobutrazol (PBZ) terhadap panjang tunas ubi kayu aksesori 433 dan 450 pada penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Panjang tunas (cm)			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
Aksesori 433				
0	0,1	4,7 a	16,4 a	26,0 a
3,4	0,1	0,3 b	0,6 b	0,6 b
6,8	0,1	0,4 b	0,5 b	0,6 b
10,2	0,1	0,2 b	0,2 b	0,5 b
Aksesori 450				
0	0,1	3,6 a	12,1 a	15,9 a
3,4	0,1	0,9 b	1,5 b	1,6 b
6,8	0,1	0,5 b	1,0 b	1,3 b
10,2	0,1	0,5 b	0,9 b	1,0 b

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

Medina *et al.* (2012), PBZ menghambat pertumbuhan ubi kayu karena PBZ bekerja menekan pemanjangan ruas batang, namun tidak terlalu signifikan dalam mengurangi jumlah ruas dan jumlah daun. Pengaruh PBZ dalam menghambat pemanjangan ruas pada tunas *in vitro* juga ditemukan pada penelitian penyimpanan beberapa komoditas lainnya, seperti purwoceng (Roostika *et al.*, 2009), pisang (Aridha *et al.*, 2009; Hardiningsih dan Alfi, 2010), dan nilam (Wulandari dan Ermayanti, 2010).

Jumlah akar biakan aksesi 433 pada media perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol, sebagaimana akar pada biakan dengan perlakuan PBZ 6,8 μM terhadap kontrol pada aksesi 450 (Tabel 4). Namun, secara visual aplikasi PBZ menghambat pertumbuhan ukuran (panjang) akar sehingga akar biakan menjadi pendek dan lebih gemuk dibanding dengan kontrol (Gambar 1 dan 2). Pengaruh PBZ dalam menghambat perakaran juga ditemukan oleh Krizan *et al.* (2007) pada beberapa spesies dari genus *Prunus L.* Penambahan PBZ pada media perakaran tidak meningkatkan, bahkan menurunkan jumlah dan panjang akar dibanding dengan kontrol.

Tanaman ubi kayu yang tumbuh, baik secara *in vivo* (di lapangan) maupun *in vitro* (kultur jaringan), mengalami tingkat pelayuan daun yang cukup tinggi. Tanaman di lapangan mulai mengalami gugur daun pada umur 15–20 MST, bergantung pada genotipe (Cock *et al.*, 1979; Zhang *et al.*, 2010). Hal yang sama terjadi pada penelitian ini. Gejala gugur daun mulai ditemukan sejak 12 MST (3 BST) pada biakan kontrol kedua aksesi (Tabel 5). Sementara, aplikasi retardan mampu menghambat gugur daun.

Kelayuan dan nekrosis mulai terjadi pada tanaman kontrol setelah penyimpanan 6 BST, diikuti dengan kematian bagian pucuk. Sebagian daun, terutama pada pangkal batang, menjadi cokelat dan gugur. Biakan ubi kayu pada umur 9 bulan setelah penyimpanan menunjukkan pengaruh PBZ yang dapat menghambat jumlah daun gugur (Tabel 5). Aplikasi retardan mampu menghambat gugur daun pada kedua aksesi, diduga karena selain menghambat biosintesis giberelin, retardan juga berperan dalam menghambat biosintesis ABA (Rademacher, 2000).

Tabel 2. Pengaruh PBZ terhadap jumlah daun ubi kayu aksesi 433 dan 450 pada penyimpanan umur 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Jumlah daun			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
Aksesi 433				
0	2	6	7	11 a
3,4	1	2	5	5 b
6,8	1	4	4	5 b
10,2	1	1	2	2 c
Aksesi 450				
0	1	5	6	10
3,4	1	3	5	7
6,8	1	3	8	8
10,2	1	2	6	7

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

Tabel 3. Pengaruh PBZ terhadap jumlah ruas ubi kayu aksesi 433 dan 450 pada penyimpanan umur 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Jumlah ruas			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
Aksesi 433				
0	1	2	7	9 a
3,4	1	1	4	4 b
6,8	1	2	2	2 bc
10,2	1	1	1	1 c
Aksesi 450				
0	1	4	6	7
3,4	1	2	5	6
6,8	1	3	7	7
10,2	1	2	6	6

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

Menurunnya jumlah daun gugur diduga karena pengaruh PBZ yang mampu menghambat pembentukan etilen dan meningkatkan biosintesis sitokinin (Kamountsis dan Chronopoulou-Sereli, 1999). Penambahan PBZ juga menghambat pembentukan daun putih pada ubi kayu aksesori 433, namun tidak berbeda

nyata pada aksesori 455 (Tabel 6). Pada tanaman krisan, Kucharska dan Orlikowska (2008) menunjukkan bahwa aplikasi PBZ 1–3 ppm (3,4–10,2 μM) dapat meningkatkan jumlah daun putih karena menurunnya klorofil a dan klorofil b pada daun.

Tabel 4. Pengaruh PBZ terhadap jumlah akar ubi kayu aksesori 433 dan 450 pada penyimpanan umur 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Jumlah akar			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
	Aksesori 433			
0	0	3	4	5
3,4	0	1	2	2
6,8	0	1	2	3
10,2	0	1	2	2
	Aksesori 450			
0	0	2	5	7 a
3,4	0	1	1	2 b
6,8	0	2	5	5 ab
10,2	0	1	1	3 b

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

Tabel 5. Pengaruh PBZ terhadap jumlah daun gugur ubi kayu aksesori 433 dan 450 pada penyimpanan umur 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Jumlah daun gugur			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
	Aksesori 433			
0	0	1	3	4 a
3,4	0	0	1	1 b
6,8	0	0	0	0 b
10,2	0	0	0	0 b
	Aksesori 450			
0	0	1	1	3 a
3,4	0	0	1	1 b
6,8	0	0	0	0 b
10,2	0	0	0	0 b

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

Tabel 6. Pengaruh PBZ terhadap jumlah daun putih ubi kayu aksesori 433 dan 450 pada penyimpanan umur 0, 3, 6, dan 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Jumlah daun putih			
	0 BST	3 BST	6 BST	9 BST
	Aksesori 433			
0	1	2	2	5 a
3,4	0	1	2	2 b
6,8	1	1	1	1 b
10,2	0	0	0	1 b
	Aksesori 450			
0	0	1	2	3 ab
3,4	1	1	2	4 a
6,8	1	1	4	4 a
10,2	1	1	1	1 b

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

Kondisi Biakan Setelah Penyimpanan *In Vitro* pada 9 BST

Respons biakan ubi kayu aksesi 433 dan 450 terhadap PBZ secara umum menghasilkan tanaman roset (lebih pendek), bentuk daun lebih kecil dan batang lebih tebal, warna daun dan batang lebih hijau, serta ruas batang dan akar lebih pendek dibanding dengan kontrol (Gambar 1B, 1C, dan 1D, Gambar 2B, 2C, dan 2D). Hal serupa juga ditemukan pada berbagai tanaman yang diberi retardan, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Aridha *et al.*, 2009; Kepenek dan Karoglu, 2011; Kozak, 2006; Krizan *et al.*, 2007; Medina *et al.*, 2012; Roostika *et al.*, 2009; Wazir, 2011).

Kondisi visual biakan pada media kontrol (MS + arginin 100 ppm) menunjukkan ruas batang lebih panjang, daun lebih lebar, dan akar lebih banyak dan panjang (Gambar 1A dan 2A). Senesen berat terjadi pada biakan kontrol, ditandai dengan daun memutih atau mencokelat, daun gugur, dan diikuti kematian jaringan batang pada bagian pucuk. Sementara, biakan pada perlakuan PBZ memiliki tingkat senesen yang lebih rendah serta tampak lebih vigor dibanding dengan biakan pada media kontrol (Tabel 7).

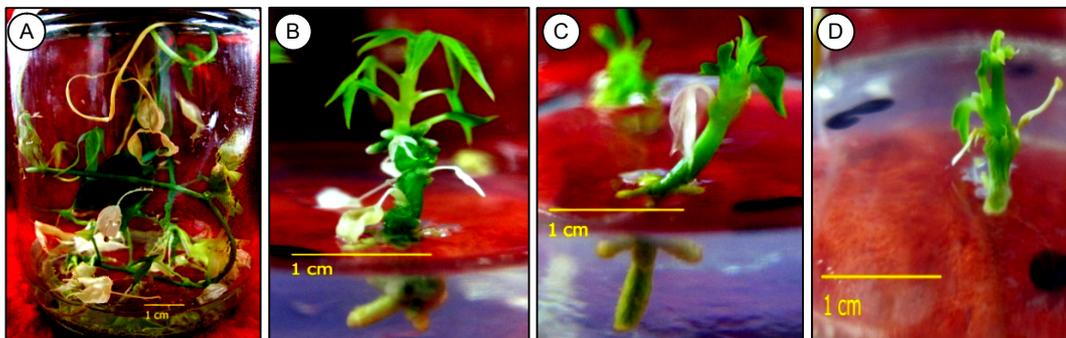
Senesen yang terjadi pada biakan yang dikulturkan pada media kontrol diduga karena kandungan

auksin endogen yang tinggi meningkatkan biosintesis etilen dan ABA yang mengakibatkan daun gugur dan tunas pucuk layu. Dengan demikian, meskipun biakan pada seluruh perlakuan retardan pada media penyimpanan masih dapat disimpan lebih lama, biakan kontrol telah mengalami senesen berat sehingga subkultur dilakukan 9 bulan setelah disimpan.

Berdasarkan pengamatan kuantitatif (Tabel 1–6) dan kualitatif (Tabel 7, Gambar 1) selama 9 bulan, tampak bahwa PBZ mampu menghambat pemanjangan tunas dan jumlah daun gugur, namun memiliki pengaruh yang berbeda pada peubah amatan lain pada kedua aksesi ubi kayu 433 dan 450. Dinilai dari segi ekonomi, PBZ pada konsentrasi 3,4 μM sudah efektif untuk menghambat pertumbuhan dan mengurangi interval subkultur pada kedua aksesi tersebut.

Daya Tumbuh Kembali Ubi Kayu Aksesi 433 dan 450 Setelah Penyimpanan

Pertumbuhan biakan aksesi 433 dan 450 pada media MS, baik yang berasal dari perlakuan kontrol maupun PBZ pada media pemulihan, disajikan pada Tabel 8. Daya tumbuh kembali aksesi 433 yang berasal dari biakan yang disimpan pada media PBZ lebih terhambat dibanding dengan biakan yang berasal dari media kontrol sehingga diduga masih terdapat efek

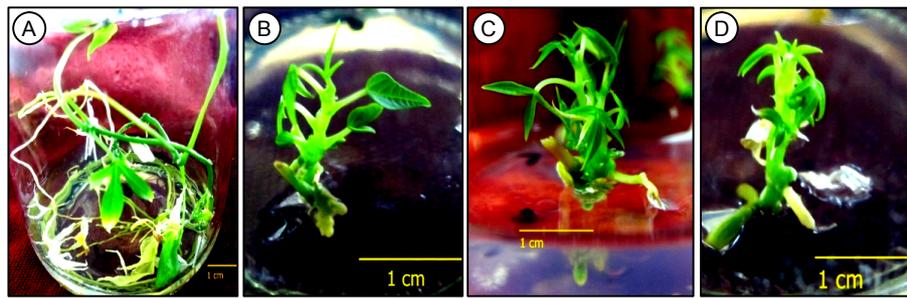


Gambar 1. Kondisi biakan ubi kayu aksesi 433 pada penyimpanan umur 9 BST. A = kontrol (MS + arginin 100 ppm), B = PBZ 3,4 μM , C = PBZ 6,8 μM , D = PBZ 10,2 μM .

Tabel 7. Kondisi visual biakan ubi kayu aksesi 433 dan 450 pada berbagai media penyimpanan pada umur 9 BST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Kondisi visual biakan*
	Aksesi 433
0	2
3,4	3
6,8	3
10,2	2
	Aksesi 450
0	2
3,4	3
6,8	3
10,2	2

*Skor: 1 = tidak vigor, 2 = kurang vigor, 3 = vigor, 4 = paling vigor.



Gambar 2. Kondisi biakan ubi kayu aksesi 450 pada penyimpanan umur 9 BST pada beberapa perlakuan. A = kontrol (MS + arginin), B = PBZ 3,4 μM , C = PBZ 6,8 μM , D = PBZ 10,2 μM .

Tabel 8. Pertumbuhan biakan ubi kayu aksesi 433 dan 450 yang diregenerasikan pada media MS setelah penyimpanan selama 9 bulan, diamati pada umur 4 MST.

Konsentrasi PBZ (μM)	Panjang tunas (cm)	Jumlah daun	Jumlah ruas	Jumlah akar	Kondisi visual biakan*
Aksesi 433					
0	3,1 ab	5 ab	5 a	5 ab	4
3,4	0,8 b	6 a	3 ab	3 bc	2
6,8	0,6 b	5 abc	4 a	1 c	2
10,2	0,6 b	3 c	2 c	1 c	2
Aksesi 450					
0	5,0 a	5 a	6 a	5 a	4
3,4	5,0 a	5 a	5 a	4 ab	3
6,8	0,6 b	4 ab	2 c	2 bc	2
10,2	0,8 b	4 ab	4 bc	2 bc	2

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT. *Skor: 1 = tidak vigor, 2 = kurang vigor, 3 = vigor, 4 = paling vigor.

residu dari retardan dalam menghambat pemanjangan batang. Namun demikian, jumlah daun dan jumlah ruas pada biakan yang berasal dari perlakuan PBZ hingga konsentrasi 6,8 μM tidak berbeda nyata dengan biakan dari perlakuan kontrol, meskipun secara visual biakan dari media kontrol tampak lebih vigor dibanding dengan perlakuan retardan. Efek residu retardan juga masih ditemukan pada jumlah akar, kecuali perlakuan PBZ 3,4 μM , yang menunjukkan tidak berbeda nyata dibanding dengan kontrol.

Pada aksesi 450, panjang tunas, jumlah daun, jumlah ruas, dan jumlah akar biakan yang ditumbuhkan kembali dari perlakuan PBZ 3,4 μM menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dibanding dengan kontrol serta penampilan visual yang lebih baik dibanding dengan biakan yang berasal dari taraf perlakuan retardan lainnya (Tabel 8).

PBZ dengan konsentrasi 3,4 μM pada aksesi 450 diduga lebih cepat dimetabolismekan sehingga tidak berpengaruh pada kemampuan pemulihan eksplan setelah penyimpanan. Terdapat kemungkinan metabolisme aksesi 433 lebih lambat dibanding dengan aksesi 450 sehingga diduga sifat retardansi PBZ masih menghambat pertumbuhan pada masa pemulihan. Namun, efek residu PBZ tersebut diharapkan dapat hilang dan tanaman dapat tumbuh normal setelah beberapa kali subkultur. Pada tanaman *Jatropha curcas* L., aplikasi PBZ dapat memengaruhi penampilan

morfologis, namun tidak mengakibatkan perubahan ekspresi gen *ent-kaurene oksidase* dan *GA20-oksidase* (Kanghae et al., 2012).

KESIMPULAN

Penambahan retardan PBZ (senyawa *triazole*) dengan konsentrasi 3,4 μM pada media penyimpanan *in vitro* dua aksesi ubi kayu, yaitu aksesi 433 dan 450, menghasilkan efek retardansi yang menghambat pertumbuhan biakan hingga dapat disimpan selama 9 bulan tanpa subkultur. Pertumbuhan eksplan ubi kayu aksesi 450 dengan perlakuan PBZ 3,4 μM dengan cepat normal kembali pada media pemulihan setelah penyimpanan selama 9 bulan, sedangkan pertumbuhan pada aksesi 433 lebih lambat.

Tanaman ubi kayu yang diperbanyak dan disimpan secara *in vitro* memiliki respons yang berbeda-beda terhadap zat penghambat tumbuh yang diberikan pada media tanam. Hal ini merupakan salah satu kendala yang dihadapi dalam konservasi *in vitro* ubi kayu dengan jumlah koleksi (varietas dan aksesi) yang sangat banyak sehingga perlu dicari metode dan strategi yang efektif agar beragam aksesi dapat disimpan secara efisien. Untuk penelitian yang akan datang, disarankan percobaan dengan jumlah aksesi yang lebih banyak dan dikelompokkan berdasarkan karakter fenotipe sehingga dapat diketahui apakah

terdapat kesamaan dari keseragaman fenotipe dengan respons terhadap media simpan. Diharapkan, formulasi media terbaik berdasarkan hasil pengelompokan dari penelitian tersebut dapat diterapkan dalam efisiensi konservasi *in vitro* ubi kayu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aridha, S.D., S. Irfan, dan Gustian. 2009. Upaya penyimpanan plasma nutfah planlet pisang Buai (*Musa paradisiaca* L.) secara *in vitro* pada berbagai dosis asam absisat dan paklobutrazol. *Jerami* 2(3):126–133.
- Borrell, A., R.T. Besford, T. Altabella, C. Masgrau, and A.F. Tiburcio. 1996. Regulation of arginine decarboxylase by spermine in osmotically-stressed oat leaves. *Physiol. Planta*. 98(1):105–110.
- Cock, J.H., D. Franklin, D. Sandoval, and P. Juri. 1979. The ideal cassava plant for maximum yield. *Crop Sci*. 19:271–279.
- 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 Sinyonya menggunakan osmotikum dan retardan. *J. AgroBiogen* 6(2):84–90.
- Engelmann, F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm – A review. *Euphytica* 57:227–243.
- Grout, B.W.W. 1995. Minimal growth storage. In: B.W.W. Grout, editor, *Genetic preservation of plant cells in vitro*. Springer Verlag, Berlin. p. 21–26.
- Hankoua, B.B., S.Y.C. Ng, J. Puonti-Kaerlas, I. Fawole, A.G.O. Dixon, and M. Pillay. 2005. Regeneration of a wide range of African cassava genotypes via shoot organogenesis from cotyledon of maturing somatic embryos and conformity of the field-established regenerants. *Plant Cell. Tiss. Org.* 81(2):200–211.
- Hardiningsih, W. dan H. Alfi. 2010. Penyimpanan jangka menengah secara *in vitro* beberapa genotipe pisang (*Musa* spp. L.). *Jerami* 3(1):1–6.
- Jan, A. and S. Komatsu. 2006. Functional characterization of gibberellin-regulated genes in rice using microarray system. *Geno. Proc. Bioinfo.* 4(3):137–144.
- Kamountsis, A.P. and A.G. Chronopoulou-Sereli. 1999. Paclobutrazol effects growth and flower bud production in gardenia under different light regimes. *J. Hort. Sci.* 34(4):674–675.
- Kanghae, A., S. Phukhae, A. Sangsuriyaroj, P. Thongbai, and S. Popluechai. 2012. Effect of paclobutrazol on mRNA accumulation of *ent-kaurene oxidase* and *GA20-oxidase* genes and plant height of *Jatropha curcas* L. Proceeding on 1st Mae Fah Luang University International Conference. Thailand.
- Kepenek, K. and Z. Karoglu. 2011. The effect of paclobutrazol and daminozide on *in vitro* micropropagation of some apple (*Malus domestica*) cultivars and M9-rootstock. *Afr. J. Biotech.* 10(24):4851–4859.
- Kozak, D. 2006. The effect of growth retardants applied *in vitro* on the acclimatization and growth of *Tibouchina urvilleana* cogn. *in vivo*. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 5(1):65–70.
- Krizan, B., E. Ondrusikova, K. Trckova, and D. Benedikova. 2007. Effect of paclobutrazol and IBA on *in vitro* rooting and growth of some rootstock of genus *Prunus* L. *Eur. J. Hort. Sci.* 72(5):198–201.
- Kucharska, D. and T. Orlikowska. 2008. The influence of paclobutrazol in the rooting medium on the quality of chrysanthemum vitroplants. *J. Fruit Orn. Plant Res.* 16:417–424.
- Medina, R., A. Burgos, V. Difrancio, L. Mroginski, and P. Cenoz. 2012. Effect of chlorocholine chloride and paclobutrazol on cassava (*Manihot esculenta* Crantz cv. Rocha) plant growth and tuberous root quality. *Agriscientia* 29:51–58.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473–497.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: Effect on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 51:501–531.
- Roostika, I., R. Purnamaningsih, dan I. Darwati. 2009. Penyimpanan *in vitro* tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) melalui aplikasi pengenceran media dan paklobutrazol. *J. Litri* 15(2):84–90.
- Roostika, I. dan N. Sunarlim. 2001. Penyimpanan *in vitro* tunas ubi jalar dengan menggunakan paklobutrazol dan ancymidol. *Pen. Pert.* 20:48–56.
- Sakakibara, H. 2004. Cytokinin biosynthesis and metabolism. In: P.J. Davies, editor, *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action*. Springer, Dordrecht, Netherlands. p. 95–114.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1992. *Plant physiology*. 4th ed. Wadsworth Publishing, Belmont, CA, USA.
- Skirvin, R.M., K.D. McPheeters, and M. Norton. 1994. Sources and frequency of somaclonal variation. *Hort. Sci.* 29(11):1232–1237.
- Sunarlim, N. dan N. Zuraida. 2001. Penyimpanan ubi kayu secara *in vitro* dengan pertumbuhan minimal. *Bul. Plasma Nutfah* 7(2):7–12.
- Wazir, J.S. 2011. Response of plotted *Alstroemeria* to different growth retardants under protected conditions. *J. Farm Sci.* 1(1):27–36.
- Wulandari, D.R. dan T.M. Ermayanti. 2010. Konservasi *in vitro* nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan perlakuan paklobutrazol. *Hayati edisi khusus* 4A:71–76.
- Zhang, P., W.Q. Wang, G.L. Zhang, M. Kaminek, P. Dobrev, J. Xu, and W. Gruissem. 2010. Senescence-inducible expression of isopentenyl transferase extends leaf life, increases drought stress resistance and alters cytokinin metabolism in cassava. *J. Integr. Plant Biol.* 52(7):653–669.