

Pengaruh Modifikasi KH_2PO_4 , NH_4NO_3 dan Sukrosa terhadap Pertumbuhan Tunas serta Pembentukan Umbi Mikro Taka (*Tacca leontopetaloides*) secara *In vitro* (The Effect of KH_2PO_4 and NH_4NO_3 Modification in combination with Sucrose concentration on Shoot Growth of Polynesian Arrowroot (*Tacca leontopetaloides*) and the Formation of Micro Tuber on *In vitro* Culture)

Rudiyanto*, Betalini Widhi Hapsari & Tri Muji Ermayanti

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI
Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong Bogor 16911
*Email: rudi006@lipi.go.id/ ruditinasty@yahoo.com

Memasukkan: Oktober 2017, Diterima: Januari 2018

ABSTRACT

Polynesian arrowroot (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze), which is one of the bulbous herbaceous plants, have high nutritional value. Modification of macro nutrients by reducing nitrogen content and increasing phosphorus on the medium gave affects on shoot growth and initiated micro tuber formation on *in vitro* cultures. The aim of this research was to determine the effect of modified macro nutrients in combination with the increase in sucrose concentrations on shoot growth and micro tuber formation of *T. leontopetaloides*. The experimental design was factorial completely randomized design. The factors tested were modifications of MS macro nutrients that were. M1 (170 mg/l KH_2PO_4 and 1650 mg/l NH_4NO_3 ; normal, control treatment); M2 (340 mg/l KH_2PO_4 and 825 mg/l NH_4NO_3); and M3 (680 mg/l KH_2PO_4 and 412.5 mg/l NH_4NO_3 in combination with 30 (S1) (control treatment), 40 (S2), 50 (S3) and 60 g/l of sucrose (S4). The variables tested were shoot height, number of leaves, number of roots and number of micro tuber which were observed weekly at 0-8 weeks after culturing. The results showed that the modification of macro nutrient in combination with sucrose concentration had significant effect on shoot height, number of leaves and number of roots but not significant on the number of tubers. The highest shoots were found in M1S3 treatment, the highest number of leaves was in M1S1 and M1S3 treatment and the highest number of roots was in M1S4 treatment. The number of tubers not significantly different between the treatments tested.

Keywords: *in vitro*, KH_2PO_4 , microtuber, NH_4NO_3 , sucrose, *Tacca leontopetaloides*

ABSTRAK

Taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze), merupakan salah satu tanaman herba berumbi yang memiliki nilai gizi tinggi. Modifikasi hara makro dengan pengurangan kandungan nitrogen serta peningkatan fosfor dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas serta pembentukan umbi mikro Taka secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi konsentrasi unsur hara makro (N dan P) pada media MS yang dikombinasikan dengan peningkatan konsentrasi sukrosa (gula) terhadap pertumbuhan tunas dan pembentukan umbi mikro *T. leontopetaloides*. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial dengan faktor yang diujikan adalah modifikasi hara makro MS: M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) (normal, kontrol); M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3); dan M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 30 (S1) (kontrol), 40 (S2), 50 (S3) dan 60 (S4) g/l sukrosa. Peubah yang diamati yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi yang diamati setiap minggu hingga umur 8 minggu setelah tanam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa modifikasi konsentrasi unsur hara makro dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar namun tidak berpengaruh signifikan terhadap jumlah umbi. Tunas tertinggi terdapat pada perlakuan M1S3, jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan M1S1 dan M1S3 dan jumlah akar terbanyak terdapat pada perlakuan M1S4. Jumlah umbi yang terbentuk tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Kata Kunci: *in vitro*, KH_2PO_4 , NH_4NO_3 , sukrosa, *Tacca leontopetaloides*, umbi mikro

PENDAHULUAN

Taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze), merupakan salah satu spesies herba berumbi yang tumbuh tersebar di pesisir pantai seperti di

kepulauan Karimunjawa, Sukabumi, dan Yogyakarta. Selain di Pulau Jawa Taka juga tumbuh di beberapa pulau lain di Indonesia, mulai tepi laut (0 m dpl) hingga ketinggian sekitar 220 m dpl. Taka juga dapat hidup di savana beriklim kering

karena umbinya mampu menyimpan air. Tumbuhan Taka umumnya memiliki 2 jenis umbi yaitu umbi empu (*parent tuber*) dan umbi anak (*peripheral tuber*) (Martin *et al.* 2013; Ndouyang *et al.* 2014; Wawo *et al.* 2015).

Pati yang terkandung dalam umbi Taka berkisar antara 20-30%. Umbi Taka banyak dieksport ke Filipina dan Eropa sebagai bahan dasar pembuatan roti. Pati Taka mengandung amilosa sekitar 22,5%, kandungan ini hampir setara dengan kandungan amilosa pada kentang, singkong serta beberapa umbi lainnya. Kemiripan sifat fisikokimia pati Taka juga mirip dengan tepung kentang dan jagung (Kunle *et al.* 2003; Martin *et al.* 2013). Kandungan gizi yang terkandung dalam 100 g sampel umbi *T. leontopetaloides* yakni 85,74 mg Karbohidrat, 58,0 mg Kalsium, 7,2 mg fosfor, serta 12,1% air dan 3,46 kalori. Kandungan karbon/abu adalah sebesar 1,89 g (Martin *et al.* 2012).

Biji Taka sangat sulit berkecambah, perbanyakan vegetatif dilakukan dengan umbinya. Kultur jaringan merupakan salah satu metode alternatif yang dapat digunakan untuk menghasilkan bibit unggul seragam dalam waktu relatif singkat (Martin *et al.* 2013). Mikropropagasi kultur *in vitro* dari *T. leontopetaloides* telah dilakukan oleh Martin *et al.* (2012) dengan media terbaik adalah MS yang mengandung kinetin 0,5 mg/l. Konsentrasi gula 30 g/l menghasilkan pertumbuhan tunas Taka terbaik (Hapsari *et al.* 2015). Kandungan antioksidan beberapa klon Taka hasil perbanyakan *in vitro* meningkat pada perlakuan iradiasi sinar Gamma 30 Gy (Hapsari *et al.* 2016).

Media pertumbuhan dalam mikropopagasi terdiri atas beberapa komponen utama yaitu unsur mineral (hara makro dan mikro), sumber karbon, vitamin serta zat pengatur tumbuh (Akin 2016). Terdapat 14 unsur esensial yang diperlukan oleh tanaman agar dapat tumbuh dengan normal diantaranya nitrogen, potassium, kalsium, fosfor, magnesium dan sulfur (Ramage & Williams 2002).

Setiap fase pertumbuhan tanaman memerlukan kebutuhan unsur hara yang berbeda baik jenis maupun kuantitasnya. Modifikasi hara makro sebagai salah satu komponen dalam media dasar kultur jaringan tanaman perlu dilakukan untuk mendapatkan formula yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman (Alireza *et al.* 2011). Sukrosa merupakan

salah satu komponen utama dalam media kultur jaringan tanaman. Pertumbuhan dan perkembangan *planlet* meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi gula sampai kondisi optimum tercapai kemudian menurun pada konsentrasi gula lebih tinggi. Konsentrasi gula sebagai sumber karbon umumnya berkisar antara 2-5% (Bhojwani & Razdan 2004). Pemberian 30 g/l sukrosa menghasilkan jumlah daun terbanyak pada kultur *in vitro* kentang kultivar PARS-70 (Fatima *et al.* 2005).

Fosfor merupakan salah satu komponen utama penyusun asam nukleat. Kekurangan unsur fosfor dapat mengakibatkan jaringan tanaman menjadi rapuh, kaku serta dinding sel tanaman menipis sehingga pertumbuhan tunas meristem terhambat (Akin 2016). Fosfor dibutuhkan untuk pembentukan bagian organ aktif tanaman seperti akar, buah dan umbi (Adam & Early 2004). Fosfor juga berperan dalam pembentukan gula atau karbohidrat di dalam tanaman. Secara *in vitro*, pemberian fosfor pada media dipengaruhi oleh keberadaan ion kalium, kandungan sukrosa dan ion ferum. Fosfor yang diberikan pada media biasanya dalam bentuk KH_2PO_4 (Murashige & Skoog 1962; Wattimena 1992). Pemberian unsur KH_2PO_4 dengan konsentrasi 340 mg/l berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan tunas *Gloxinia speciosa* (Rudiyanto *et al.* 2015).

Nitrogen merupakan salah satu unsur mineral esensial dan merupakan komponen unsur hara utama pada sejumlah media dasar kultur jaringan tanaman. Nitrogen sangat efektif dalam memberikan respon pertumbuhan kultur kalus, organogenesis, embriogenesis maupun multiplikasi (Niedz & Evens 2008). Nitrogen diperlukan untuk proses pertumbuhan vegetatif tanaman. Selain itu, nitrogen juga berperan dalam pembentukan klorofil yang berguna di dalam proses fotosintesis dan menghasilkan karbohidrat. Secara *in vitro* nitrogen diberikan dalam bentuk NH_4NO_3 (Murashige & Skoog 1962; Wattimena 1992).

Dengan adanya pengurangan kandungan nitrogen serta peningkatan fosfor dalam media, diharapkan pertumbuhan tunas Taka secara *in vitro* lebih mengarah ke pertumbuhan generatif sehingga berpengaruh terhadap pembentukan umbi mikro. Penelitian ini bertujuan untuk

Pengaruh Modifikasi KH_2PO_4 , NH_4NO_3 dan Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Tunas

mengetahui pengaruh modifikasi konsentrasi hara makro MS (dengan pengurangan kandungan NH_4NO_3 serta peningkatan kandungan KH_2PO_4) yang dikombinasikan dengan peningkatan konsentrasi sukrosa (gula) terhadap pertumbuhan tunas serta pembentukan umbi mikro Taka.

BAHAN DAN CARA KERJA

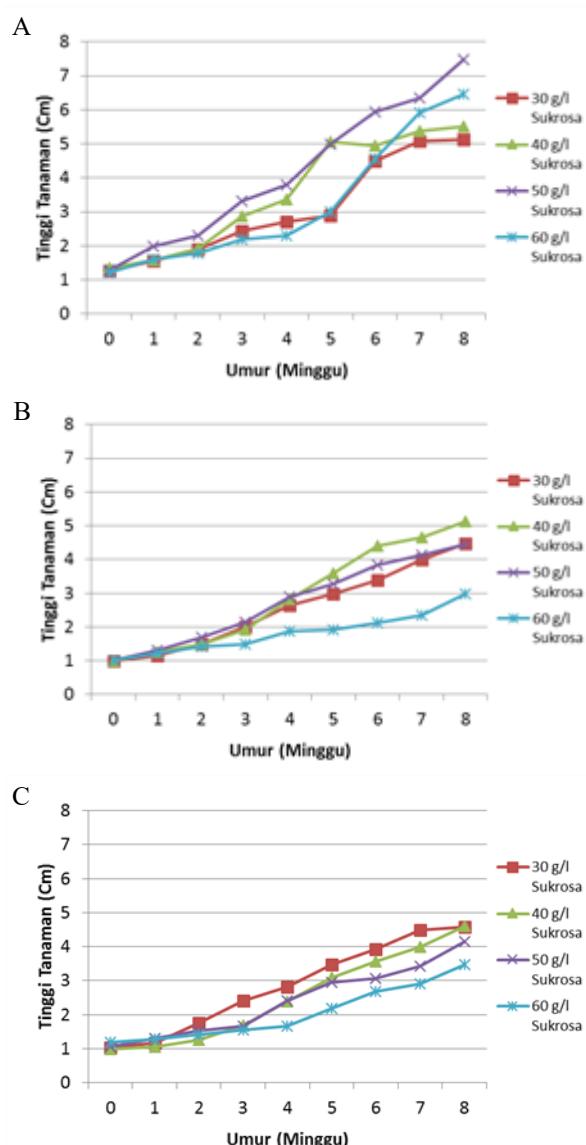
Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas Taka yang telah dikultur dalam media MS (Murashige & Skoog 1962) selama 2 bulan. Media yang digunakan adalah media MS dengan kandungan hara makro serta sukrosa (gula) sesuai dengan perlakuan yang diujikan. Tunas Taka dengan panjang 1,5 cm yang mempunyai 2-3 daun ditanam pada media percobaan. Media dipadatkan dengan agar Gelzan (TM Caisson labs) 3 g/l, pH media diatur menjadi 5,8 kemudian media disterilisasi menggunakan otoklaf pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 15 menit. Tunas yang telah dikulturkan kemudian diinkubasikan di dalam ruang kultur pada suhu $26 \pm 2^\circ\text{C}$, dengan intensitas pencahayaan 500-900 lux secara kontinyu.

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan faktor yang diujikan yakni kombinasi modifikasi konsentrasi hara makro MS (terdiri atas 170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3 (kontrol/M1); 340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3 (M2); 680 mg/l KH_2PO_4 dan 412,5 mg/l NH_4NO_3 (M3) yang dikombinasikan dengan sukrosa (gula) pada konsentrasi 30 (S1, kontrol); 40 (S2); 50 (S3) dan 60 g/l (S4). Setiap perlakuan terdiri dari 9 ulangan, jumlah satuan percobaan sebanyak 108. Peubah yang diamati yakni pertumbuhan tunas yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar, dan jumlah umbi mikro yang terbentuk. Pengamatan dilakukan setiap minggu mulai umur 0 hingga 8 minggu.

HASIL

Pertumbuhan tinggi tunas *T. leontopetaloides* dengan perlakuan modifikasi hara makro dan konsentrasi sukrosa umur 0-8 minggu terdapat pada Gambar 1. Pada perlakuan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) tinggi tunas Taka mulai meningkat pada umur 1

minggu setelah tanam. Tinggi tunas optimal pada perlakuan 50 dan 60 g/l sukrosa dicapai pada umur 2-7 minggu setelah tanam. Pada perlakuan 30 dan 40 g/l sukrosa, tinggi tunas tidak lagi meningkat pada umur 6-8 minggu. Pada umur 8 minggu tunas tertinggi terdapat pada perlakuan sukrosa 50 g/l (Gambar 1A). Pada perlakuan hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) tinggi tunas Taka meningkat pada umur 2 minggu setelah kultur. Pada perlakuan sukrosa 60 g/l pertumbuhan tinggi tunas lebih rendah dibandingkan dengan



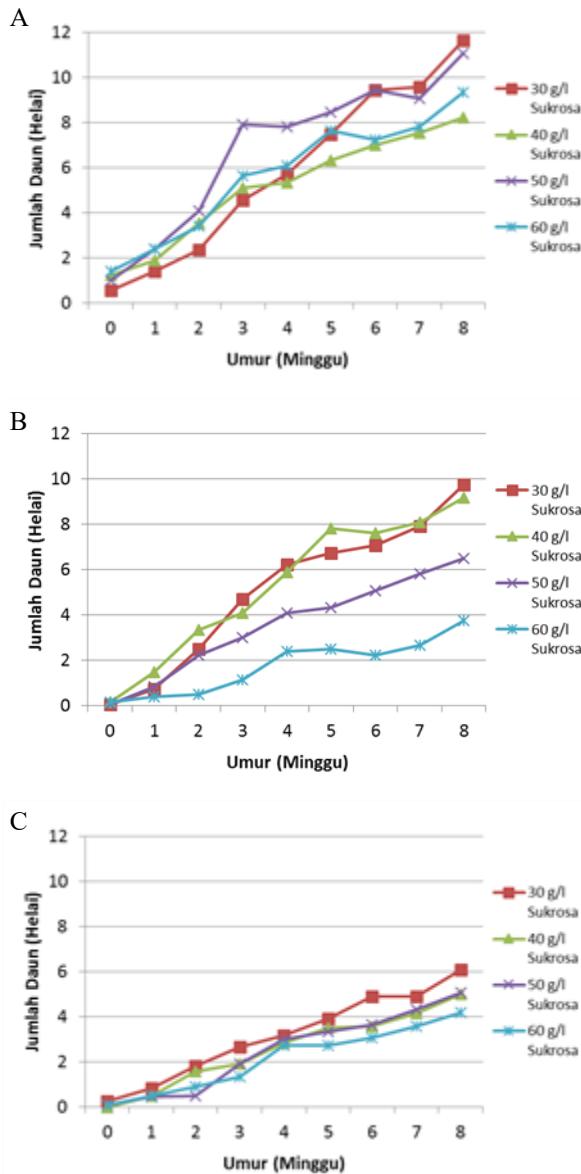
Gambar 1. Rata-rata tinggi tunas *T. leontopetaloides* umur 0-8 Minggu pada media dengan penambahan sukrosa 30, 40, 50 dan 60 g/l. Media makro M1 (A), makro M2 (B) dan makro M3 (C).

perlakuan lainnya. Pada umur 8 minggu tunas tertinggi terdapat pada perlakuan sukrosa 40 g/l (Gambar 1B). Pada hara makro M3 (680 mg/l KH₂PO₄ dan 412.5 mg/l NH₄NO₃) pertumbuhan tunas Taka mulai bertambah pada umur 2 minggu setelah kultur. Pertumbuhan tinggi tunas perlakuan hara makro M3 lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan hara makro M1 dan M2. Pada umur 8 minggu tinggi tunas perlakuan 30, 40, dan 50 g/l sukrosa tidak berbeda nyata. Tunas terendah terdapat pada perlakuan sukrosa 60 g/l (Gambar 1C).

Pertumbuhan jumlah daun *T. leontopetaloides* dengan perlakuan modifikasi hara makro serta sukrosa pada umur 0-8 minggu disajikan pada Gambar 2. Pada perlakuan hara makro kontrol M1 (170 mg/l KH₂PO₄ dan 1650 mg/l NH₄NO₃) jumlah daun bertambah mulai umur 1 minggu setelah kultur. Pertumbuhan jumlah daun optimal pada umur 2-8 minggu. Pada umur 8 minggu, jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan 30 g/l sukrosa dan terendah terdapat pada perlakuan 40 g/l sukrosa (Gambar 2A). Pada perlakuan hara makro M2 (340 mg/l KH₂PO₄ dan 825 mg/l NH₄NO₃) jumlah daun meningkat mulai umur 1 minggu. Jumlah daun pada perlakuan 60 g/l sukrosa lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan 30, 40 dan 50 g/l sukrosa pertumbuhan jumlah daun optimal terjadi pada umur 2-8 minggu. Pada umur 8 minggu jumlah daun tertinggi terdapat pada perlakuan 40 g/l sukrosa dan terendah terdapat pada perlakuan 60 g/l sukrosa (Gambar 2B). Pada perlakuan hara Makro M3 (680 mg/l KH₂PO₄ dan 412.5 mg/l NH₄NO₃) jumlah daun mulai meningkat pada umur 2 minggu. Pertumbuhan jumlah daun pada hara makro M3 (680 mg/l KH₂PO₄ dan 412.5 mg/l NH₄NO₃) lebih lambat dibandingkan dengan hara makro M1 (170 mg/l KH₂PO₄ dan 1650 mg/l NH₄NO₃) dan M2 (340 mg/l KH₂PO₄ dan 825 mg/l NH₄NO₃). Jumlah daun pada perlakuan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa tidak berbeda nyata (Gambar 2C).

Tabel 1. Anova pada perlakuan modifikasi hara makro yang dikombinasikan sukrosa untuk peubah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi *T. leontopetaloides* dengan umur 8 minggu.

Pertumbuhan jumlah akar *T. leontopetaloides* dengan perlakuan modifikasi hara makro serta sukrosa pada umur 0-8 minggu dapat dilihat pada Gambar 3. Pada hara makro M1/ kontrol



Gambar 2. Rata-rata jumlah daun *T. leontopetaloides* umur 0-8 Minggu pada media dengan penambahan sukrosa 30, 40, 50 dan 60 g/l. Media makro M1 (A), makro M2 (B) dan makro M3 (C).

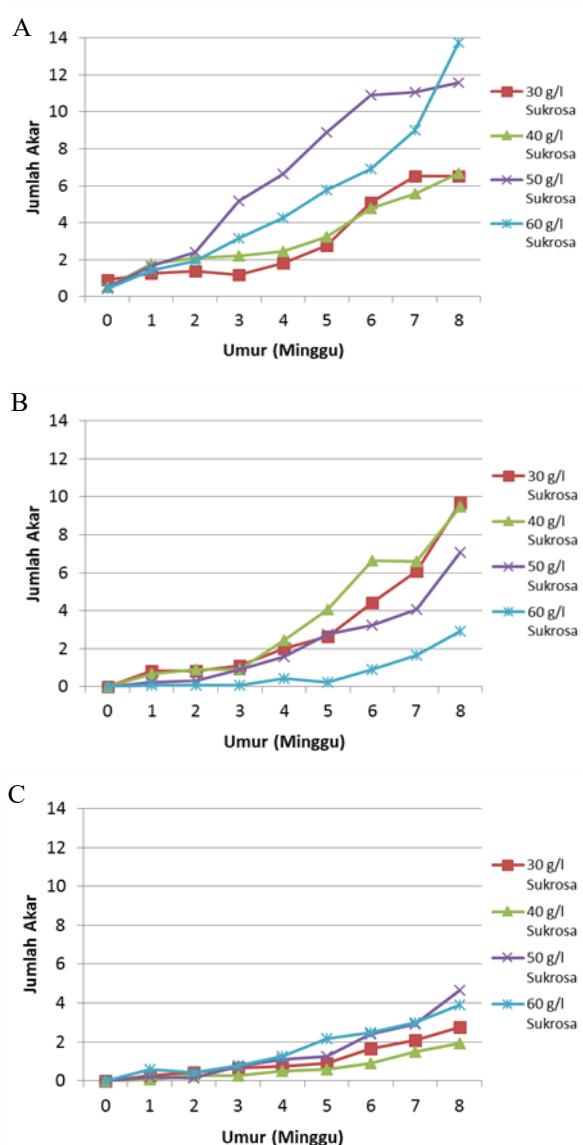
Keterangan : * : signifikan pada taraf α : 5%, ** : sangat signifikan pada taraf α 1%, ts : tidak signifikan

(170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) akar mulai tumbuh pada umur 1 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 50 dan 60 g/l sukrosa pertambahan jumlah akar optimal pada umur 2-8 minggu setelah kultur, sedangkan pada perlakuan 30 dan 40 g/l peningkatan jumlah akar menurun. Pada umur 8 minggu jumlah akar terbanyak terdapat pada perlakuan 60 g/l sukrosa (Gambar 3A). Pada perlakuan hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 30, 40 dan 50 g/l sukrosa, jumlah akar meningkat pada umur 3 minggu setelah kultur. Pertumbuhan jumlah akar optimal pada umur 4-8 minggu. Pada perlakuan 60 g/l sukrosa jumlah akar meningkat pada umur 6-8 minggu. Pada umur 7 dan 8 minggu jumlah akar pada perlakuan 30 dan 40 g/l sukrosa tidak berbeda. Jumlah akar yang terendah terdapat pada perlakuan 60 g/l sukrosa (Gambar 3B). Pada perlakuan hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) pertumbuhan jumlah akar lebih lambat dibandingkan dengan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) dan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3). Rata-rata jumlah akar mulai meningkat pada umur 4 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa penambahan jumlah akar tidak berbeda nyata (Gambar 3C).

Pertambahan jumlah umbi mikro *T. leontopetaloides* dengan perlakuan modifikasi hara makro dan sukrosa dapat dilihat pada Gambar 4. Pada hara makro M1 (kontrol) (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) umbi mikro terbentuk pada perlakuan sukrosa 30, 40 dan 50 g/l. Pada perlakuan 60 g/l sukrosa umbi mikro Taka tidak terbentuk. Pada perlakuan 40 dan 50 g/l sukrosa umbi Taka terbentuk pada umur 4 minggu setelah kultur sedangkan pada perlakuan 30 g/l sukrosa umbi mikro terbentuk pada umur 8 minggu setelah kultur (Gambar 4A). Pada hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) umbi mikro Taka terbentuk pada perlakuan 40, 50, dan 60 mg/l sukrosa sedangkan pada perlakuan 30 g/l sukrosa tidak terbentuk umbi. Pada perlakuan 40 dan 50 g/l sukrosa, umbi mikro Taka terbentuk pada umur 5 minggu, sedangkan pada perlakuan 60 g/l sukrosa umbi terbentuk umur 6 minggu. Pada umur 8 minggu jumlah umbi

terbanyak terdapat pada perlakuan 50 g/l sukrosa (Gambar 4B). Pada hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3), perlakuan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa seluruhnya dapat membentuk umbi mikro. Pada perlakuan 30, 40, dan 50 g/l sukrosa umbi mikro terbentuk pada umur 3 minggu, sedangkan pada perlakuan 60 g/l sukrosa umbi mikro terbentuk pada umur 5 minggu setelah kultur. Pada umur 8 minggu jumlah umbi terbanyak terdapat pada perlakuan 40 g/l sukrosa dan yang terendah terdapat pada perlakuan 30 g/l sukrosa (Gambar 4C).

Hasil Anova tentang pengaruh modifikasi



Gambar 3. Rata-rata jumlah akar *T. leontopetaloides* umur 0-8 Minggu pada media dengan penambahan sukrosa 30, 40, 50 dan 60 g/l. Media makro M1 (A), makro M2 (B) dan makro M3 (C).

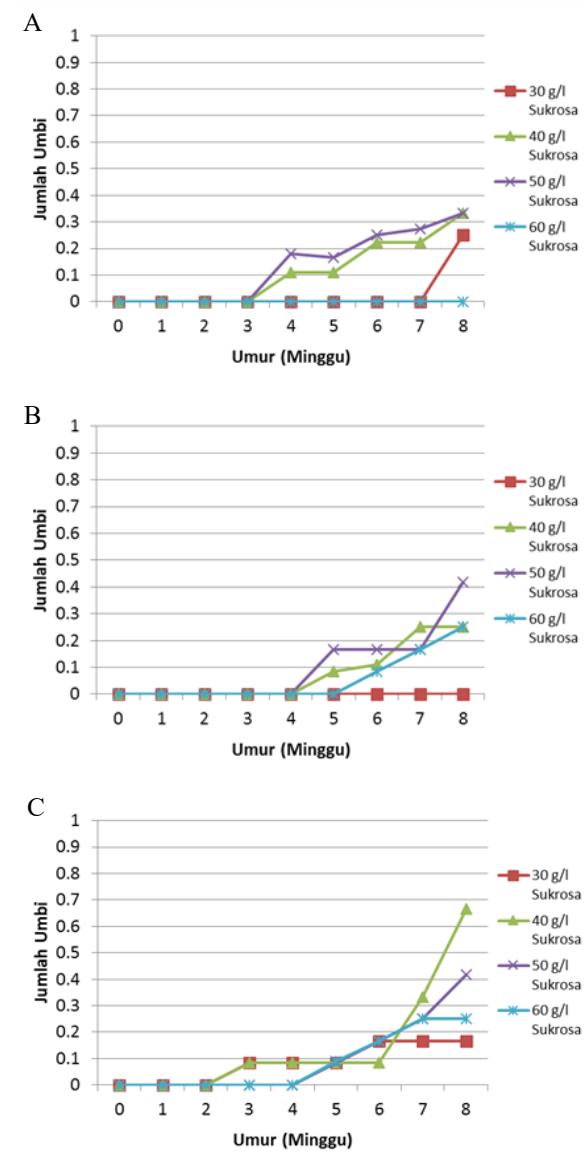
konsentrasi hara makro KH_2PO_4 dan NH_4NO_3 dan peningkatan konsentrasi sukrosa terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar serta jumlah umbi *Taca* umur 8 minggu tertera pada Tabel 1. Modifikasi hara makro berpengaruh signifikan terhadap tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar, namun tidak berpengaruh signifikan terhadap jumlah umbi. Konsentrasi sukrosa berpengaruh signifikan terhadap seluruh peubah pertumbuhan kecuali jumlah umbi. Dari kedua faktor yang diujikan yakni konsentrasi hara makro KH_2PO_4 dan NH_4NO_3 dan sukrosa, terdapat interaksi antara faktor modifikasi konsentrasi hara makro dan sukrosa pada peubah dengan tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar sedangkan jumlah umbi tidak terdapat interaksi antara dua faktor yang diujikan (Tabel 1).

Analisis korelasi antara peubah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi *T. leontopetaloides* umur 8 minggu dapat dilihat pada Tabel 2. Terdapat korelasi positif antara peubah tinggi tanaman dengan jumlah daun dan jumlah akar. Korelasi negatif terjadi antara peubah jumlah umbi dengan tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar (Tabel 2).

Rata-rata tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi *T. leontopetaloides* umur 8 minggu dapat dilihat pada Tabel 3. Tinggi tunas tertinggi terdapat pada perlakuan hara makro kontrol M1 ($170 \text{ mg/l KH}_2\text{PO}_4$ dan $1650 \text{ mg/l NH}_4\text{NO}_3$) yang dikombinasikan dengan 50 g/l sukrosa, berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Tunas terendah terdapat pada perlakuan M2 ($340 \text{ mg/l KH}_2\text{PO}_4$ dan $825 \text{ mg/l NH}_4\text{NO}_3$) yang dikombinasikan dengan sukrosa 60 g/l sukrosa (Tabel 3).

Jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan kontrol M1 ($170 \text{ mg/l KH}_2\text{PO}_4$ dan $1650 \text{ mg/l NH}_4\text{NO}_3$) yang dikombinasikan dengan 30 dan 50 g/l sukrosa berbeda nyata dengan perlakuan lainnya kecuali dengan perlakuan M1S4, M2S1

dan M2S2. Jumlah daun terendah terdapat pada perlakuan hara makro M2 ($340 \text{ mg/l KH}_2\text{PO}_4$ dan $825 \text{ mg/l NH}_4\text{NO}_3$) yang dikombinasikan dengan 60 g/l sukrosa dan M3 ($680 \text{ mg/l KH}_2\text{PO}_4$ dan $412.5 \text{ mg/l NH}_4\text{NO}_3$) yang dikombinasikan



Gambar 4. Rata-rata jumlah umbi *Tacca leontopetaloides* umur 0-8 Minggu pada media dengan penambahan sukrosa $30, 40, 50$ dan 60 g/l . Media makro M1 (A), makro M2 (B) dan makro M3 (C).

Tabel 2. Analisis korelasi antara peubah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi *T. leontopetaloides* umur 8 minggu.

	Tinggi Tanaman	Jumlah Daun	Jumlah Akar	Jumlah Umbi
Tinggi Tanaman	1	0,506357131	0,590923884	-0,10484841
Jumlah Daun	0,506357131	1	0,596013633	-0,04949195
Jumlah Akar	0,590923884	0,596013633	1	-0,13988005
Jumlah Umbi	-0,104848416	-0,04949195	-0,13988005	1

dengan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa (Tabel 3).

Pada peubah jumlah akar, jumlah akar terbanyak terdapat pada perlakuan hara makro kontrol M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 60 g/l sukrosa dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya kecuali perlakuan hara kontrol M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 50 g/l sukrosa dan hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 40 g/l sukrosa. Jumlah akar yang rendah terdapat pada perlakuan hara makro M2 dengan 60 g/l sukrosa serta hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa (Tabel 3).

Pada Taka umur 8 minggu setelah kultur, dari seluruh perlakuan yang diujikan sebagian besar mampu membentuk umbi mikro kecuali pada perlakuan hara makro kontrol M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 60 g/l sukrosa serta hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 30 g/l sukrosa. Namun antar perlakuan yang diujikan tidak berbeda nyata (Gambar 5 dan Tabel 3).

Performa planlet *T. leontopetaloides* umur 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 5. Pada hara makro kontrol M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) planlet Taka lebih tegar. Tinggi tunas serta jumlah daun lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) dan

beberapa perlakuan hara makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3). Planlet paling tegar terdapat pada perlakuan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 50 g/l sukrosa. Planlet memiliki tinggi dan jumlah daun lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Planlet yang pertumbuhannya terhambat terdapat pada perlakuan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 60 g/l sukrosa serta perlakuan hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 40, 50 dan 60 g/l sukrosa (Gambar 5).

Umbi Taka terbentuk pada seluruh perlakuan yang diujikan kecuali pada perlakuan M1S4 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 60 g/l sukrosa dan M2S1 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) yang dikombinasikan dengan 30 g/l sukrosa. Umbi mikro yang terbentuk pada planlet Taka rata-rata terbentuk pada umur 3-5 minggu setelah kultur. Umbi mikro terbentuk dimulai dari proses pembengkakan akar yang kemudian membesar seperti umbi. Planlet *T. leontopetaloides* rata-rata mampu memproduksi 2 umbi dalam satu tanaman (Gambar 6).

PEMBAHASAN

Taka (*T. leontopetaloides* (L.) Kuntze), merupakan salah satu jenis tanaman herba yang menghasilkan umbi dan memiliki nilai gizi yang

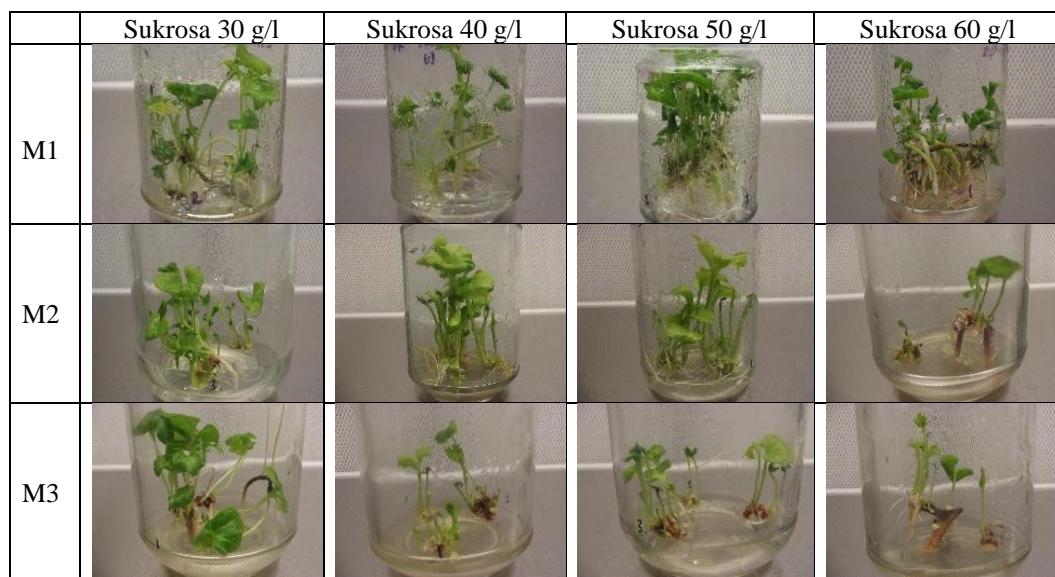
Tabel 3. Rata-rata Tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah umbi *T. leontopetaloides* umur 8 minggu.

Hara Makro	Sukrosa (g/l)	Tinggi Tanaman	Jumlah Daun	Jumlah Akar	Jumlah Umbi
M1	30	5,37 ± 0,224 ^{cd}	11,78 ± 1,077^a	6,89 ± 0,611 ^{cd}	0,22 ± 0,222 ^a
	40	5,37 ± 0,468 ^c	8,22 ± 1,011 ^b	6,67 ± 0,799 ^{de}	0,33 ± 0,236 ^a
	50	7,78 ± 0,651^a	11,22 ± 1,164^a	11,89 ± 1,637 ^{ab}	0,33 ± 0,236 ^a
	60	6,54 ± 0,264 ^b	9,44 ± 1,069 ^{ab}	13,11 ± 1,389^a	0,00 ± 0,000 ^a
M2	30	4,49 ± 0,194 ^{cde}	10,00 ± 0,799 ^{ab}	9,89 ± 1,409 ^{bc}	0,00 ± 0,000 ^a
	40	5,13 ± 0,294 ^{cde}	9,33 ± 0,866 ^{ab}	10,11 ± 1,419 ^{ab}	0,22 ± 0,147 ^a
	50	4,67 ± 0,224 ^{cde}	6,78 ± 0,795 ^{cd}	7,00 ± 1,424 ^{cd}	0,44 ± 0,294 ^a
	60	3,18 ± 0,249^g	3,78 ± 0,465^e	3,00 ± 0,500^f	0,22 ± 0,222 ^a
M3	30	4,67 ± 0,238 ^{cde}	6,00 ± 0,577 ^{cde}	2,67 ± 0,500^f	0,22 ± 0,222 ^a
	40	4,41 ± 0,425 ^{cdef}	5,22 ± 0,401 ^{de}	2,00 ± 0,289^f	0,67 ± 0,373 ^a
	50	4,22 ± 0,236 ^{cdefg}	5,44 ± 0,377 ^{de}	4,89 ± 0,351 ^{def}	0,44 ± 0,294 ^a
	60	3,40 ± 0,444 ^{fg}	3,89 ± 0,676^e	3,67 ± 0,726 ^{ef}	0,22 ± 0,222 ^a

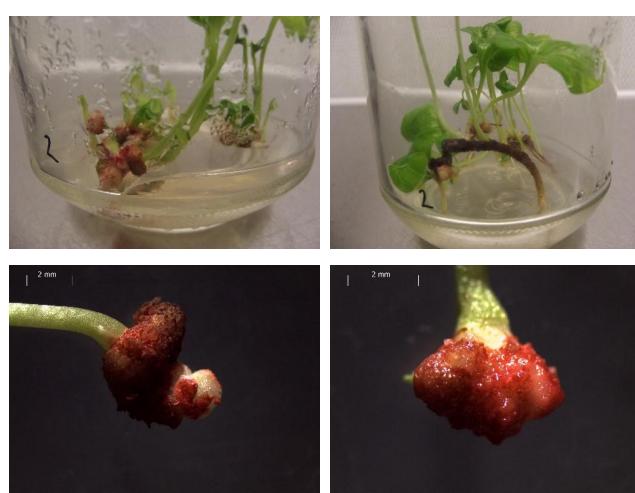
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada $\alpha = 5\%$.

cukup tinggi. Modifikasi hara makro dengan pengurangan kandungan nitrogen serta peningkatan fosfor diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan tunas serta pembentukan umbi mikro Taka secara *in vitro*. Pertumbuhan tinggi tanaman *T. leontopetaloides* dengan perlakuan modifikasi hara makro dan sukrosa dapat dilihat pada Gambar 1. Pertumbuhan tinggi tunas perlakuan hara makro M3 lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan hara makro M1 dan M2. Pada umur 8 minggu tinggi tunas perlakuan 30, 40, dan 50 g/l sukrosa tidak berbeda nyata. Tunas terendah terdapat pada perlakuan sukrosa 60 g/l, pada

konsentrasi ini tunas Taka tidak dapat tumbuh dengan optimal dikarenakan keseimbangan osmotik dalam media dengan kandungan sukrosa tinggi dapat menghambat pertumbuhan tunas. Di dalam media, sukrosa berfungsi sebagai sumber karbon yang dimanfaatkan oleh tunas Taka untuk tumbuh dan berkembang. Pemberian sukrosa dengan konsentrasi 50 g/l berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan tunas Taka khususnya pada hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3). Purnamaningsih (2002) menyatakan bahwa selain berfungsi sebagai sumber karbon, sukrosa



Gambar 5. Performa planlet *T. leontopetaloides* umur 0-8 Minggu pada media dengan penambahan sukrosa 30, 40, 50 dan 60 g/l yang dikombinasikan dengan hara makro M1, M2 dan M3.



Gambar 6. Umbi mikro *T. leontopetaloides* yang terbentuk pada perlakuan M3S2 umur 8 Minggu.

berfungsi juga untuk mempertahankan tekanan osmotik pada media. Pada hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) dengan kandungan nitrogen rendah, pertumbuhan tunas Taka lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) dan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3). Nitrogen merupakan unsur makro yang penting bagi pertumbuhan tanaman yang dapat memacu pertumbuhan vegetatif tanaman sedangkan fosfor lebih berfungsi mendukung pertumbuhan generatif (Wattimena 2000).

Pertumbuhan jumlah daun *T. leontopetaloides* pada perlakuan hara makro kontrol M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) optimal pada umur 2-8 minggu. Pada umur 8 minggu, jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan 30 g/l sukrosa dan terendah terdapat pada perlakuan 40 g/l sukrosa (Gambar 2A). Pertumbuhan jumlah daun pada hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) lebih lambat dibandingkan dengan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) dan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3). Jumlah daun pada perlakuan 30, 40, 50 dan 60 g/l sukrosa tidak berbeda nyata (Gambar 2C). Murashige dan Skoog (1962) menyatakan bahwa sukrosa di dalam media merupakan salah satu sumber karbohidrat yang penting untuk pertumbuhan eksplan. Kandungan sukrosa dengan konsentrasi 20, 30 dan 40 g/l sesuai untuk pertumbuhan eksplan tembakau (*Nicotiana tabacum*). Namun demikian, pemberian sukrosa dengan konsentrasi 30 g/l lebih baik dibandingkan dengan sukrosa 20 dan 40 g/l. Konsentrasi P yang tinggi dapat menurunkan pertumbuhan eksplan kecuali pada media dengan kandungan K tinggi serta N rendah (Murashige & Skoog 1962).

Fatima *et al.* (2005) menyatakan bahwa pemberian 60 g/l sukrosa dalam media memberikan respon yang lebih baik untuk regenerasi tunas dan panjang akar kentang (*Solanum tuberosum*) dalam kultur *in vitro*, sedangkan jumlah daun kentang kultivar PARS-70 optimal pada media dengan penambahan 30 g/l sukrosa. Induksi umbi mikro kentang optimal pada media MS yang mengandung 60 g/l sukrosa. Pemberian sukrosa diatas 60 g/l menurunkan jumlah umbi mikro yang terbentuk. Pada tanaman Taka

pertumbuhan akar perlakuan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) dan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) optimal pada umur 2-8 minggu setelah kultur. Pada M1 jumlah akar terbanyak pada akhir pengamatan terdapat pada perlakuan 60 g/l sukrosa sementara pada M2 jumlah akar perlakuan 30 dan 40 g/l sukrosa tidak berbeda (Gambar 3B). Pada perlakuan hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) pertumbuhan jumlah akar lebih lambat dibandingkan dengan hara makro M1 (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) dan M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3).

Pertambahan jumlah umbi mikro *T. leontopetaloides* pada perlakuan hara makro M1 (kontrol) (170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3) umbi mikro terbentuk pada perlakuan sukrosa 30, 40 dan 50 g/l namun pada perlakuan 60 g/l sukrosa umbi mikro Taka tidak terbentuk. Sedangkan perlakuan makro M2 (340 mg/l KH_2PO_4 dan 825 mg/l NH_4NO_3) umbi mikro Taka terbentuk pada perlakuan 40, 50, dan 60 g/l sukrosa dan jumlah umbi terbanyak terdapat pada perlakuan 50 g/l sukrosa. Pada hara makro M3 (680 mg/l KH_2PO_4 dan 412.5 mg/l NH_4NO_3) seluruhnya dapat membentuk umbi mikro. Kebutuhan KH_2PO_4 dan NH_4NO_3 dalam media dipengaruhi oleh faktor genotipe tanaman dan besarnya kisaran konsentrasi yang diberikan dalam media tergantung dari variabel yang diamati. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi yakni daya serap tanaman terhadap unsur nitrogen, serta unsur mineral lainnya (Hand *et al.* 2014). Pada kultur *Corylus avellana*, pertumbuhan planlet optimal terjadi dengan penambahan unsur KH_2PO_4 dengan konsentrasi rendah serta NH_4NO_3 sebanyak 1,7 kali dari konsentrasi yang direkomendasikan (Akin 2016). Alireza *et al.* (2011) melaporkan bahwa pembentukan jumlah umbi mikro pada kentang meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi nitrogen dalam media namun ukuran serta bobot umbi menurun. Sebaliknya jumlah umbi mikro menurun pada media dengan peningkatan konsentrasi fosfor, namun bobot umbi meningkat secara signifikan pada media dengan penambahan 40 μM fosfor.

Setiap genotipe tanaman memiliki respon yang berbeda untuk dapat tumbuh dengan

optimal pada media dasar dengan modifikasi NH_4NO_3 dan KH_2PO_4 . Pada *T. leontopetaloides* pertumbuhan tunas lebih baik pada media dengan NH_4NO_3 tinggi serta KH_2PO_4 rendah. Sementara pada tanaman eksplan *C. avellana* pertumbuhan tunas optimal pada media dengan kandungan konsentrasi NH_4NO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ dan CaCl_2 yang rendah (0,5-1,7 konsentrasi rekomendasi) serta kandungan MgSO_4 dan KH_2PO_4 dengan konsentrasi tinggi (3 kali konsentrasi rekomendasi) (Nas & Read 2004).

Pada *T. leontopetaloides* yang dikulturkan pada media M3S2, M3S3, M3S4 ukuran daun cenderung lebih kecil dan warna daun lebih gelap (data tidak ditampilkan). Warna daun gelap merupakan salah satu gejala dari defisiensi magnesium yang berhubungan dengan kandungan KH_2PO_4 dalam media. Tingginya konsentrasi potassium dan kalsium dalam media dapat menghambat penyerapan magnesium bagi tanaman (Kovalchuk *et al.* 2017).

Westermann (2005) menyatakan bahwa pada kentang, sebagian besar unsur mineral ditransportasikan melalui floem dan disimpan dalam bentuk umbi. Kecukupan unsur hara sangat diperlukan dalam proses pembentukan serta pertumbuhan umbi mikro dan jumlah unsur mineral yang diperlukan meningkat pada saat proses pembesaran dan pematangan umbi.

KESIMPULAN

Modifikasi hara makro dan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar *T. leontopetaloides* namun tidak berpengaruh terhadap jumlah umbi. Terdapat interaksi antara faktor modifikasi KH_2PO_4 dan NH_4NO_3 dengan konsentrasi sukrosa pada peubah tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar. Tunas tertinggi terdapat pada perlakuan M1S3 (makro dengan 170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3 dan 50 g/l sukrosa) jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan M1S1 dan M1S3 (makro

dengan 170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3 yang dikombinasikan dengan 30 dan 50 g/l sukrosa) dan jumlah akar terbanyak terdapat pada perlakuan M1S4 (makro dengan 170 mg/l KH_2PO_4 dan 1650 mg/l NH_4NO_3 dan 60 g/l sukrosa). Umbi Taka terbentuk pada seluruh perlakuan yang diujikan kecuali pada perlakuan M1S4 dan M2S1. Jumlah umbi yang terbentuk tidak berbeda nyata antar perlakuan yang diujikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Deritha Ellfy Rantau, Lutvinda Ismanjani dan Evan Maulana yang telah membantu dalam penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, CR. & MP. Early. 2004. *Principle of Horticulture*. Fourth Edition. Elsevier. Butterworth-Heinemann Burlington.
- Akin, M. 2016. Statistical Methods for Tissue Culture Medium Optimization and A Multiplexed Fingerprinting Set for Hazelnuts. [Dissertation]. Corvallis: Oregon State University.
- Alireza, I., M. Ebadi & Z. Zare. 2011. Effects of Nitrogen and Potassium on *in vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L. var Agria). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5 (12): 442-448.
- Bhojwani, SS., & MK. Rajdan. 2004. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*. a revised Edition. Elsevier Publication. Netherland.
- Fatima, B., M. Usman, I. Ahmad & IA. Khan. 2005. Effect of Explant and Sucrose on Microtuber Induction in Potato Cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology* 07 (1): 63–66.
- Hapsari BW., AF. Martin & TM. Ermayanti. 2015. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Pertumbuhan Kultur Tunas *Tacca Leontopetaloides*. *Prosiding Seminar Nasional XVIII Kimia dalam Pembangunan*.

- Yogyakarta, 17 September 2015. 227-232.
- Hapsari, BW., AF. Martin & TM. Ermayanti. 2016. Pertumbuhan Kultur *in Vitro* dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Tanaman Taka (*Tacca leontopetaloides* L. Kuntze) Hasil Radiasi Sinar Gamma. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah–Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir*. Solo, 9 Agustus 2016. 243-249.
- Hand, C., S. Maki & B. Reed. 2014. Modeling optimal mineral nutrition for hazelnut (*Corylus avellana*) micropropagation. *Plant Cell and Tissue Organ Culture* 119 (2): 411-425.
- Kovalchuk, I.Y., Z. Mukhittdinova, T. Turdiyev, G. Madiyeva, M. Akin, E. Eydurhan & BM. Reed. 2017. Modeling some mineral nutrient requirements for micropropagated wild apricot shoot cultures. *Plant Cell and Tissue Organ Culture* 12 (9) :325–335.
- Kunle, OO., YE. Ibrahim, MO. Emeje, S. Shaba & Y. Kunle. 2003. Extraction, Physico-chemical and Compaction Properties of *Tacca* Starch: A Potential Pharmaceutical Excipient. *Starch/Starke* 55 (1): 319-325.
- Martin, AF., E. Maulana & TM. Ermayanti. 2013. Seleksi Media Untuk Regenerasi Kalus dan Peningkatan Pembentukan Planlet Tanaman *Tacca leontopetaloides*. Prosiding Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia. Solo, 23 Mei 2013: 1-7.
- Martin, AF., TM. Ermayanti, BW. Hapsari & DE. Rantau. 2012. Rapid micropropagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, *Proceedings The 5th Indonesia Biotechnology Conference*. Lombok, 4-7 Juli 2012. 240-251.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3): 473-497.
- Nas, MN. & PE. Read. 2004. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae* 101 (2):189-200.
- Ndouyang, CJ., RM. Nguimbou, YN. Njitang, J. Scjer, B. Facho & CMF. Mbofung. 2014. In Vivo Assessment of The Nutritional and Subchronic Toxicity of *Tacca leontopetaloides* (L.) tubers. *Scholar Journal of Agriculture Science* 4 (1): 5-13.
- Niedz, RP. & TJ. Evans. 2008. A solution to the problem of ion confounding. *Experimental Biology* 3 (6):417-423.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5 (2):51-58.
- Ramage, C & R.Williams 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis cell. *Biology Plant* 38 (1):116–124.
- Rudiyanto, DE. Rantau & TM. Ermayanti. 2015. Pengaruh Modifikasi KH_2PO_4 dan NH_4NO_3 serta Penambahan Asam Giberelik Terhadap Pertumbuhan Planlet *Gloxinia speciosa* Secara *in vitro*. Prosiding Seminar Nasional XVIII “Kimia dalam Pembangunan”. Yogyakarta, 17 September 2015. 205-215.
- Wattimena, GA. 2000. *Biotehnologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas (PAU) Biotehnologi. IPB, Bogor.
- Wawo, AH., P. Lestari & NW. Utami. 2015. Studi Perbanyak Vegetatif Tanaman Taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) dan Pola Pertumbuhannya. *Berita Biologi* 14 (1): 1-9.
- Westermann, DT. 2005. Nutritional requirements of potatoes. *American Journal of Potatoes* 82 (1): 301-307.

