

## PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON (TDZ) TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS ANGGREK *Grammatophyllum* sp. SECARA IN VITRO

Dewi Eka Prawita Rani<sup>1\*)</sup>, Nurul Avidhah Elhany<sup>1)</sup>, Arinda Putri Nur Faisyah<sup>1)</sup>.

<sup>1</sup>Program Studi Biologi

Universitas Abdurachman Saleh Situbondo

\*Email Korespondensi : dewi\_ekaprawita@unars.ac.id

DOI : <https://doi.org/10.36841/agribios.v21i2.3465>

### Abstrak

*Grammatophyllum* merupakan salah satu genus anggrek yang mulai langka ditemukan di Indonesia. Upaya untuk melestarikan anggrek *Grammatophyllum* yaitu dengan mengembangbiakkannya secara in vitro di laboratorium kultur jaringan. Perbanyak in vitro dapat menghasilkan individu baru anggrek secara cepat. Penelitian ini menggunakan modifikasi media VW (*Vacin and Went*) yang merupakan media dasar dalam kultur jaringan anggrek. Media VW dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) yaitu Thidiazuron (TDZ). Thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang dalam konsentrasi rendah dapat memicu perbanyakan tunas, namun menghasilkan tunas kerdil jika digunakan dalam konsentrasi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) Thidiazuron (TDZ) terhadap multiplikasi tunas anggrek *Grammatophyllum* sp. secara in vitro, dan menentukan konsentrasi TDZ yang paling optimal untuk multiplikasi tunas tanaman anggrek. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 ulangan yaitu : P1=VW (kontrol), P2=VW + TDZ 5ppm, P3=VW + TDZ 10ppm, P4=VW + TDZ 15ppm, P5=VW + TDZ 20ppm. Data dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) dengan taraf 5 %. Hasil penelitian menunjukkan pemberian TDZ 5ppm mampu menyebabkan banyaknya jumlah tunas yang dihasilkan, dan pemberian TDZ dengan variasi konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan tinggi tanaman.

**Kata kunci:** *grammatophyllum* sp., thidiazuron (tdz), kultur in vitro

### Abstract

*Grammatophyllum* is a genus of orchid that is threatened with extinction in Indonesia. *Grammatophyllum* preserved by cultivating in a tissue culture laboratory. In vitro propagation can produce new individuals of orchids quickly. This study used modified VW media (*Vacin and Went*) which is the basic medium for orchid tissue culture. VW media was combined with a growth regulator (ZPT), namely Thidiazuron (TDZ). Thidiazuron (TDZ) is a growth regulator which can trigger shoot multiplication in low concentrations, but produces stunted shoots when used in high concentrations. This study aims to determine the effect of concentrations of growth regulators (ZPT) Thidiazuron (TDZ) on shoot multiplication of *Grammatophyllum* sp. in vitro, and determine the most optimal TDZ concentration for orchid plant shoot multiplication. This study used a completely randomized design consisting of 5 treatments with 5 replications, namely: P1=VW (control), P2=VW + 5ppm TDZ, P3=VW + 10ppm TDZ, P4=VW + 15ppm TDZ, P5=VW + TDZ 20ppm. The data were analyzed using variance and continued with the DMRT (Duncan Multiple Range Test) with a level of 5%. The results showed that the administration of 5ppm TDZ was able to cause a large number of shoots to be produced, and the administration of TDZ with varying concentrations was able to inhibit the increase in plant height.

**Keywords:** *grammatophyllum* sp., thidiazuron (tdz), in vitro culture

## PENDAHULUAN

Anggrek *Grammatophylum* merupakan salah satu genus anggrek yang mulai langka ditemukan di Indonesia. Kelangkaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu terjadinya kerusakan habitat tumbuh akibat penebangan dan konversi lahan, serta pengeksploitasian anggrek dari alam secara berlebihan (Untari & Puspitaningtyas, 2006). Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan (DTPHP) Kabupaten Jember melakukan upaya untuk melestarikan anggrek *Grammatophylum* dengan mengembangbiakkannya secara *in vitro* di laboratorium Kultur Jaringan. Teknik perbanyakan *in vitro* dapat menghasilkan individu baru anggrek secara cepat. Laboratorium Kultur Jaringan DTPHP Kabupaten Jember menggunakan modifikasi media VW (*Vacin and Went*) yang merupakan media dasar dalam kultur jaringan anggrek. Media VW dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) yaitu Thidiazuron (TDZ). Zat pengatur tumbuh (ZPT) dibutuhkan sebagai komposisi media untuk diferensiasi dan pertumbuhan. Pertumbuhan suatu tanaman yang dikultur menjadi terhambat jika tidak ditambahkan ZPT pada medianya. Pembentukan tunas dan organ-organ tanaman dipengaruhi oleh penggunaan ZPT yang tepat. TDZ termasuk ZPT dari golongan sitokinin yang mampu merangsang pembentukan dan perpanjangan tunas (Gao et al., 2003).

Thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang dalam konsentrasi rendah dapat memicu perbanyakan tunas, namun menghasilkan tunas kerdil jika digunakan dalam konsentrasi tinggi. TDZ dianggap memiliki peran yang efisien dalam perkembangan sel tumbuhan dan kultur jaringan (Guo et al., 2011). Thidiazuron menunjukkan aktivitas yang tinggi pada konsentrasi rendah, sekitar 0,1-0,5 mg/l (Lestari, 2015). Penambahan TDZ sebesar 1 ppm mampu meningkatkan parameter berat basah *Protocorm Like Bodies (PLB)* anggrek *Phalaenopsis* sp., namun tidak memunculkan sistem perakaran (Restanto et al., 2018). Hasil penelitian Kasi & Semiarti (2016) menunjukkan adanya induksi embriogenesis somatik pada eksplan daun *Phalaenopsis* "Sogo Vivien" dengan perlakuan kombinasi ZPT TDZ 10 mg/L dan NAA 1 mg/L pada medium NP + air kelapa 15%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) Thidiazuron (TDZ) terhadap induksi kalus anggrek *Grammatophyllum* sp. secara *in vitro*, dan diharapkan dapat menentukan konsentrasi TDZ yang paling optimal untuk menginduksi kalus tanaman anggrek.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Mei 2023 sampai Juli 2023, bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan (DTPHP) Kabupaten Jember.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: timbangan analitik, labu Erlenmeyer, *magnetic stirrer*, gelas beker, botol kultur, cawan petri, mikropipet, pipet tip, kertas indikator pH, pipet, batang pengaduk, blender, penyaring, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), pinset, scalpel, cawan petri, lampu Bunsen, labu Erlenmeyer dan gelas beker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: eksplan steril daun anggrek *Grammatophylum* sp., stok media *Vacin and Went* (VW), media A, B, C, pupuk daun Bayfolan, NAA, B1, *Thidiazuron* (TDZ), agar, gula, alkohol, dan akuadest steril.

### Pembuatan Media Kultur

200 ml akuadest ditambahkan pada beaker glass bervolume 1000 ml. Larutan stok media VW dan stok A, B, C masing-masing 10 ml, serta vitamin dan ZPT *Thidiazuron* (TDZ)

dengan konsentrasi berbeda sesuai perlakuan (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm) dimasukkan dalam air tersebut dan dilarutkan hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer*. 30 gr gula dimasukkan dan ditambahkan akuadest sampai volumenya menjadi 500 ml, dan dihomogenkan. Lalu ditambahkan kembali akuadest sampai volumenya menjadi 1000 ml, homogenkan kembali. pH media diukur menggunakan kertas pH indikator dengan pH 5,7. Agar-agar dimasukkan lalu dipanaskan hingga mendidih. Media dituang kedalam botol-botol kultur, lalu disterilisasi menggunakan *autoclave*.

### Penanaman Eksplan

Eksplan daun anggrek *Grammatophyllum* sp. digunakan sebagai bahan tanam untuk ditanam dalam media VW dengan suplemen TDZ sebesar 0 (kontrol), 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm. Parameter yang diamati yaitu jumlah tunas dan tinggi tanaman pada kultur umur 12 MST (minggu setelah tanam).

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 ulangan yaitu : P1=VW (kontrol), P2=VW + TDZ 5ppm, P3=VW + TDZ 10ppm, P4=VW + TDZ 15ppm, P5=VW + TDZ 20ppm. Data dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf 5 %.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan menanam eksplan steril anggrek *Grammatophyllum* sp. pada media kultur *Vacint and Went* (VW) dengan penambahan zat pengatur tumbuh Thidiazuron (TDZ) dengan variasi konsentrasi 0ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm dan 20ppm. Berdasarkan hasil pengamatan pada pertumbuhan eksplan 12 MST (minggu setelah tanam), terdapat perbedaan pertumbuhan tunas pada masing-masing perlakuan pemberian TDZ dengan konsentrasi yang berbeda. Perbedaan pertumbuhan tunas ditunjukkan pada Tabel 1 berikut ini. Hasil analisis sidik ragam pada Tabel 1, menunjukkan konsentrasi TDZ yang digunakan berpengaruh nyata terhadap penambahan jumlah tunas dan tinggi tanaman.

**Tabel 1.** Pengaruh Konsentrasi TDZ Pada Jumlah Tunas Dan Tinggi Tanaman Anggrek *Grammatophyllum* Sp.

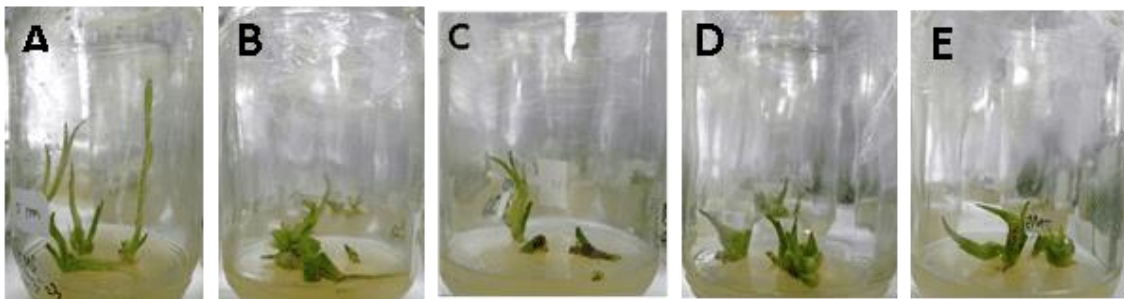
Perlakuan	Pertambahan jumlah tunas (tunas)	Pertambahan tinggi tanaman (cm)
P1	0,20 a	3,42 c
P2	5,20 c	0,74 ab
P3	4,60 c	0,72 a
P4	4,40 c	0,70 a
P5	1,80 ab	0,78 a
Uji anova	**	**

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT 5%

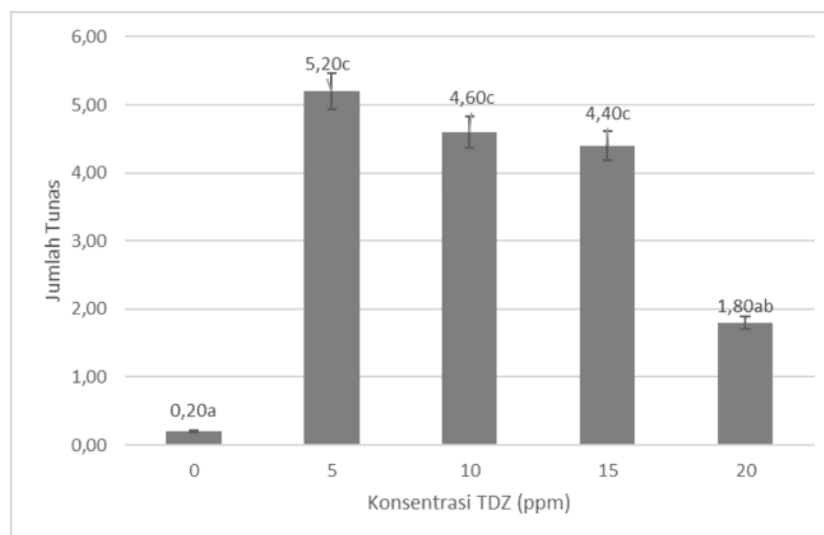
### Pertambahan Jumlah Tunas

Pengamatan jumlah tunas dilakukan dilakukan dengan menghitung tunas yang tumbuh pada setiap eksplan. Perlakuan yang menunjukkan nilai tertinggi pada penambahan jumlah tunas adalah perlakuan P2 (VW + TDZ 5ppm) dengan rerata jumlah tunas 5,20 namun menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3 dan P4 (Gambar 1b, 1c, 1d dan Gambar 2). Perlakuan P2 yaitu penambahan konsentrasi TDZ

sebanyak 5ppm menunjukkan pengaruh yang baik untuk menginduksi tunas anggrek *Grammatophyllum* sp. sehingga jumlah tunas yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan penambahan konsentrasi TDZ lainnya. Thidiazuron (TDZ) memiliki kemampuan untuk mendorong perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi lebih aktif sehingga akan menginduksi munculnya tunas (Sari et. al., 2015). Perlakuan P5 (VW + TDZ 20ppm) menunjukkan adanya penurunan jumlah tunas yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P1 (VW + TDZ 0ppm). Menurut (George et al., 2008), sitokinin tunggal dapat menghasilkan tunas yang maksimal, namun pada konsentrasi tertentu dapat menyebabkan penghambatan multiplikasi tunas. Hal ini sesuai dengan penelitian Kari et. al. (2010) yang menunjukkan pemberian auksin eksogen dengan jumlah yang tidak seimbang dengan kandungan auksin endogen akan menghambat pembentukan tunas. Interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur (Zulkarnain, 2011).



**Gambar 1.** Pertumbuhan Tunas Umur 12 MST (Minggu Setelah Tanam): (A) Perlakuan P1= VW+TDZ 0ppm, (B) Perlakuan P2= VW+TDZ 5ppm, (C) Perlakuan P3= VW+TDZ 10ppm, (D) Perlakuan P4= VW+TDZ 15ppm, (E) Perlakuan P5= VW+TDZ 20ppm

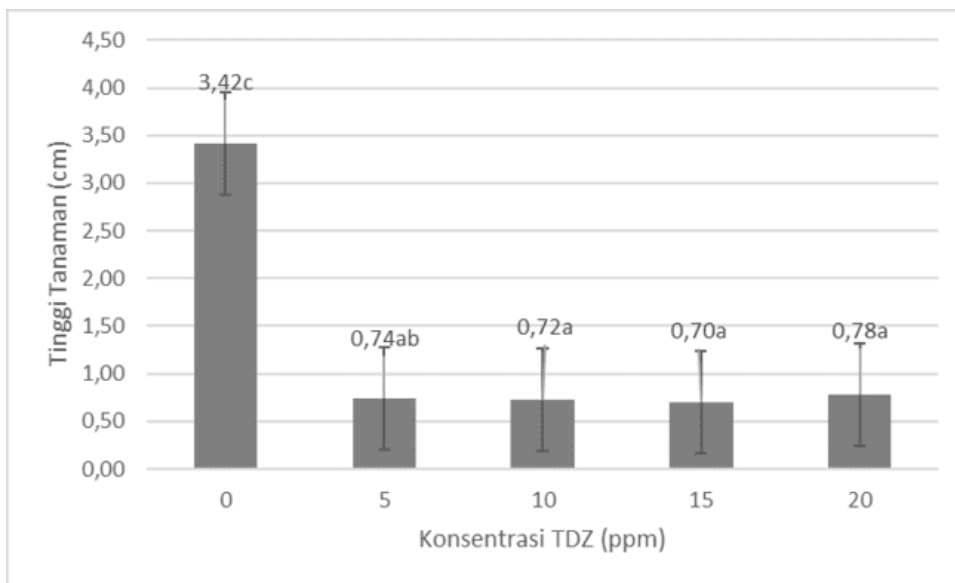


**Gambar 2.** Hasil Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh TDZ Terhadap Jumlah Tunas Anggrek *Grammatophyllum* Sp. (Angka Yang Diikuti Oleh Huruf Yang Sama Doatas Standard Error Menunjukkan Tidak Berpengaruh Nyata Berdasarkan Uji DMRT 5%)

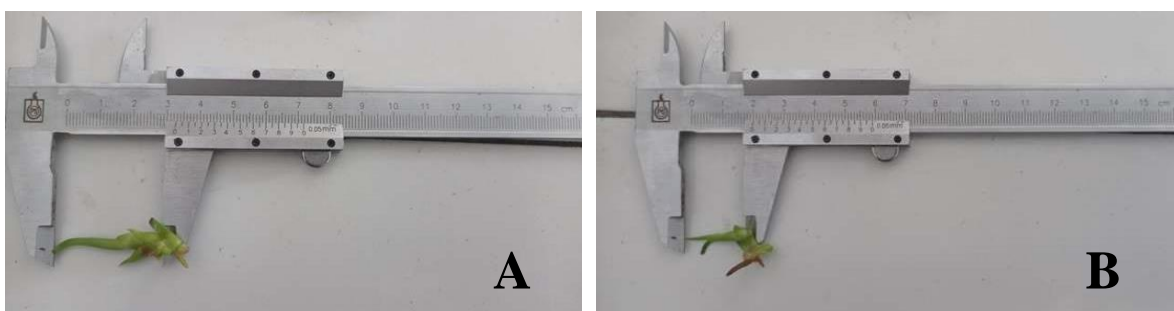
### Pertambahan Tinggi Tanaman (cm)

Tinggi tanaman merupakan parameter yang sering diamati sebagai indikator pertumbuhan dan untuk mengukur pengaruh dari perlakuan yang diterapkan (Artina, 2014). Menurut Anwar (2007), tinggi tanaman merupakan parameter pertumbuhan yang

paling mudah diamati. Pada penelitian ini tinggi tanaman diukur dari pangkal tunas sampai ujung tunas. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (Gambar 3), penambahan tinggi tanaman tidak berpengaruh nyata pada perlakuan P2, P3, P4 dan P5. Perlakuan P1 dengan konsentrasi TDZ 0ppm (tanpa penambahan TDZ) menunjukkan pertambahan tinggi tanaman dengan nilai terbesar dibandingkan lainnya yaitu 3,42 cm (Gambar 4). Hal ini diduga karena adanya zat pengatur tumbuh endogen yang terkandung didalam eksplan yang mampu mencukupi pertumbuhan tinggi tunas, sehingga dengan penambahan konsentrasi TDZ justru menyebabkan adanya penghambatan dalam proses fisiologis yang terjadi pada eksplan. Konsentrasi ZPT yang terlalu tinggi akan menjadi toksik pada pertumbuhan tanaman (Gaba, 2004).



**Gambar 3.** Hasil Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh TDZ Terhadap Tinggi Tanaman Anggrek *Grammatophyllum* Sp. (Angka Yang Diikuti Oleh Huruf Yang Sama Diatas Standard Error Menunjukkan Tidak Berpengaruh Nyata Berdasarkan Uji DMRT 5%)



**Gambar 4.** Pertambahan Tinggi Tanaman Pada Tunas Eksplan Anggrek *Grammatophyllum* Sp.: (A) P1 (VW+TDZ 0ppm), (B) P5 (VW+TDZ 20ppm)

Thidiazuron (TDZ) memiliki peran dalam memicu produksi sitokinin endogen dan juga dapat berperan sebagai penghambat sitokinin oksidase yang merupakan enzim yang dapat menonaktifkan sitokinin tipe adenin bebas (Gao et al., 2003). Hal ini menunjukkan bahwa pada eksplan *Grammatophyllum* sp. terdapat sitokinin endogen yang mampu menghasilkan tunas dengan tinggi optimal, namun justru terhambat aktivitasnya dengan adanya penambahan zat pengatur tumbuh TDZ dalam media kultur.

Hasil terbaik untuk pemberian konsentrasi TDZ terhadap multiplikasi tunas anggrek *Grammatophyllum* sp. pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 5ppm. Pemilihan konsentrasi terbaik tersebut berdasarkan pada jumlah tunas yang dihasilkan. Menurut (Fitriani et al., 2015), salah satu faktor keberhasilan dari perbanyakan kultur in vitro adalah banyaknya jumlah tunas yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan dengan semakin banyaknya tunas yang dihasilkan dalam multiplikasi tunas maka semakin banyak tunas dan planlet baru yang dihasilkan, sehingga dapat berpotensi untuk mendukung upaya pelestarian anggrek *Grammatophyllum* sp.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan pemberian TDZ dengan konsentrasi 5ppm mampu menyebabkan banyaknya jumlah tunas yang dihasilkan dengan rerata jumlah tunas sebesar 5,20. Hal ini dikarenakan TDZ memiliki kemampuan untuk mendorong perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi lebih aktif sehingga akan menginduksi munculnya tunas. Pemberian TDZ dengan variasi konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan tinggi tanaman dari 3,42cm menjadi 0,7cm. Hal ini diduga karena TDZ menghambat aktivitas sitokinin endogen yang terdapat didalam eksplan anggrek *Grammatophyllum* sp.

## REFERENSI

- Anwar, N. (2007). *Pengaruh media multiplikasi terhadap pembentukan akar pada tunas in vitro nenas, Ananas comosus (L.) Merr. cv. Smooth Cayenne di media pengakaran*. Skripsi, Institut Pertanian Bogor.
- Artina, Y. (2014). *Pengaruh konsentrasi BAP (Benzylaminopurine) dan TDZ (thidiazuron) terhadap inisiasi tunas serta konsentrasi kinetin dan TDZ terhadap multiplikasi tunas tanaman pisang kepok kuning (Musa paradisiaca L.) secara in vitro*. Skripsi, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
- Fitriani, D., Miswar, & Sholikhah, U. (2015). Pengaruh Pemberian Asam Amino (glisin, sistein dan arginin) terhadap Pembentukan Tunas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara in vitro. *Berkala Ilmiah PERTANIAN*, 1(1), 1-5.
- Gaba, V. P. (2004). Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development. In R. N. Trigiano & D. J. Gray (Eds.), *Plant Development and Biotechnology* (pp. 87-99). CRC Press.
- Gao, H. H., W Li, J Yang, Y Wang, G Q Guo, & G C Zheng. (2003). Effect of 6-benzyladenine and casein hydrolysate on micropropagation of *Amorpha fruticosa*. *Biologia Plantarum*, 1(47), 145-148.
- George, E. F., Hall, M. A., & Clerk, G.-J. De. (2008). *Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development* (G. Edwin F., M. A. Hall, & G.-J. De Clerk, Eds.; 3rd ed., Vol. 1, pp. 1-28). Springer.
- Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb, A., Xu, L. L., & Wei, Y. H. (2011). Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. In *African Journal of Biotechnology* (Vol. 10, Issue 45, pp. 8984-9000). Academic Journals. <https://doi.org/10.5897/ajb11.636>
- Kari, R., Lukman, A. L., Zainuddin, R., & Ja'afar, H. (2010). Basal Media for In Vitro Germination of Red-Purple Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *J. Agrobiotech*, 1, 87-93.
- Kasi, P. D., & Semiarti, E. (2016). Pengaruh Thidiazuron dan Naphtalene Acetic-Acid untuk Induksi Embriogenesis Somatik dari Daun Anggrek *Phalaenopsis* "Sogo Vivien." *Jurnal Dinamika*, 07(1), 31-40. <https://www.researchgate.net/publication/316644331>

- Lestari, E. G. (2015). Peran Thidiazuron dalam Peningkatan Kemampuan Proliferasi Tanaman secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 34(2), 87–93. <https://www.researchgate.net/publication/291975027>
- Restanto, D. P., Kriswanto, B., Nur Khozim, M., & Soeparjono, S. (2018). Kajian Thidiazuron (TDZ) dalam Induksi PLB Anggrek *Phalaenopsis* sp secara In Vitro. *Agritop*, 16(1), 176–185. <http://jurnal.unmuhjember.ac.id/>
- Sari, D. I., Suwirman, & Nasir, N. (2015). Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) dan Arang Aktif pada Sub Kultur Tunas Pisang Kepok Hijau (*Musa paradisiaca* L.). *Online Journal of Natural Science*, 4(3), 280–289.
- Untari, R., & Puspitaningtyas, D. M. (2006). Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur In Vitro. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 7(4). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d070409>
- Zulkarnain. (2011). Kultur Jaringan Tanaman: Solusi perbanyak tanaman budi daya. In R. Rachmatika (Ed.), *Kultur Jaringan Tanaman* (1st ed.). Bumi Aksara.