

Induksi Tunas Anggrek *Dendrobium discolor* dengan Penambahan Konsentrasi 2,4-D secara *In vitro*

In vitro Shoot Induction of *Dendrobium discolor* added with various concentration of 2,4-D

Iga Permata Hany^a, Zozy Aneloi Noli^{a*}, M. Idris^a

^a Departemen Biologi, Universitas Andalas, Indonesia

INFORMASI

Riwayat naskah:

Accepted: 29 - 11 - 2023

Published: 31 - 12 - 2023

Keyword:

Dendrobium discolor

ZPT

2,4-D

Corresponding Author:

Zozy Aneloi Noli

Universitas Andalas

*email:

zozynoli@sci.unand.ac.id

ABSTRAK

Dendrobium discolor merupakan salah satu anggrek yang memiliki keunikan pada bentuk dan warna bunganya. Bunga yang melengkung ke arah dalam dengan warna kuning keemasan membuat anggrek ini semakin diminati. Kemampuan regenerasi anggrek secara umum sangat lambat jika dibiarkan pada kondisi alamiahnya. Propagasi melalui induksi tunas secara *in vitro* merupakan usaha perbanyakan yang paling tepat untuk memperbanyak anggrek ini. Penggunaan ZPT 2,4-D mampu menginduksi tunas dengan berperan pada pembelahan sel eksplan *D. discolor*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D dan menemukan konsentrasi terbaik dalam menginduksi tunas anggrek *D. discolor* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan beberapa konsentrasi 2,4-D: A (1 mg/L), B (2 mg/L), C (3 mg/L), dan D (4 mg/L). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua perlakuan penambahan 2,4-D dapat memberikan persentase eksplan hidup sebesar 100%. Waktu muncul tunas tercepat ditunjukkan oleh perlakuan 4 mg/L. Propagasi melalui induksi tunas secara *in vitro* dengan penambahan ZPT 2,4-D sebanyak 4 mg/L merupakan protokol perbanyakan yang optimum untuk anggrek *D. discolor*.

ABSTRACT

Dendrobium discolor is an orchid that is unique in the shape and color of its flowers. Flowers that curve inward with a golden yellow color make this orchid even more desirable. Orchid regeneration ability in general is very slow if left in its natural condition. Propagation through *in vitro* shoot induction is the most appropriate propagation effort to reproduce this orchid. The use of 2,4-D ZPT can induce shoots by playing a role in the cell division of *D. discolor* explants. This research aims to see the effect of several concentrations of ZPT 2,4-D and find the best concentration in inducing *D. discolor* orchid shoots *in vitro*. This study used a completely randomized design (CRD) with several concentrations of 2,4-D: A (1 mg/L), B (2 mg/L), C (3 mg/L), and D (4 mg/L). The results of this study indicated that all treatments with the addition of 2,4-D could give a 100% survival rate of explants. The fastest shoot emergence time was shown by the 4 mg/L treatment. Propagation through *in vitro* shoot induction with the addition of 4 mg/L 2,4-D ZPT is the optimum propagation protocol for the *D. discolor* orchid.

PENDAHULUAN

Orchidaceae merupakan kelompok tanaman hias yang paling banyak ditemukan di Indonesia. Salah satu jenisnya adalah anggrek *Dendrobium discolor*. Anggrek *D. discolor* termasuk anggrek epifit, dimana jenis ini memerlukan substrat berupa tanaman lain untuk menopang hidupnya. Terdapat keunikan tersendiri dari anggrek ini, diantaranya bentuk petal bunga yang melengkung ke arah dalam dan berwarna kuning keemasan. Selain itu, anggrek ini memiliki sistem percabangan simpodial sehingga akan didapatkan beberapa bunga mekar dalam satu tangkai. Keunikan ini membuat anggrek *D. discolor* dijadikan sebagai sumber bunga potong dan juga sebagai indukan hibridisasi. Permintaan akan anggrek ini juga semakin meningkat seiring dengan pemanfaatannya yang beragam, sehingga perbanyakan untuk anggrek ini perlu ditingkatkan.

Kultur jaringan secara *in vitro* merupakan salah satu metode yang sangat prospektif untuk perbanyakan anggrek *D. discolor*. Melalui kultur jaringan akan didapatkan hasil lebih banyak dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan pada kondisi alamiahnya (Apriliyani & Wahidah, 2021). Melalui kultur jaringan pertumbuhan tanaman akan terkontrol dan dapat distimulasi sesuai dengan yang diinginkan. Kultur jaringan telah berhasil pada beberapa jenis anggrek dari genus *Dendrobium* seperti *Dendrobium aequum* (Parthibhan *et al.*, 2018), *Dendrobium spectabile* (Ario & Setiawan, 2020), dan *Dendrobium* hibrida (Sasmita *et al.*, 2022).

Propagasi melalui kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Penambahan ZPT pada media *in vitro* dapat mempengaruhi respon pertumbuhan pada eksplan tanaman (Apriliyani & Wahidah, 2021). Salah satu ZPT yang sering ditambahkan pada media kultur *in vitro* adalah auksin jenis 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). 2,4-D berperan dalam pemanjangan dan pembelahan sel pada tanaman (Umami *et al.*, 2022). Auksin jenis 2,4-D banyak digunakan dalam upaya propagasi berbagai jenis tanaman termasuk anggrek.

Selain jenis ZPT yang digunakan, konsentrasi pemberiannya juga mempengaruhi keberhasilan perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Konsentrasi yang berbeda akan memberikan pengaruh berbeda pada tanaman. Hal ini bergantung pada kondisi fisiologis tanaman dalam menerima rangsangan dari luar. Penambahan 4 mg/L 2,4-D mampu menginduksi tunas adventif pada anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Melisa, 2018). Hasil penelitian Budisantoso *et al.* (2017) menyatakan bahwa pemberian 2 mg/L 2,4-D juga memberikan tingkat regenerasi tertinggi pada anggrek *Vanda* sp.. Auksin dalam jumlah rendah juga mampu meningkatkan pembentukan planlet dengan berperan pada pemanjangan sel dan pembentukan akar (Pakum *et al.*, 2021). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D terbaik pada propagasi anggrek *D. discolor* secara *in vitro*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang. Pada penelitian ini digunakan sumber eksplan dari planlet anggrek *D. discolor* koleksi dari Laboratorium Robiquetia Garden Lab, Padang. Larutan stok media MS, larutan stok ZPT 2,4-D, gula, agar, alkohol 96% dan alkohol 70%. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri dari beberapa konsentrasi 2,4-D yaitu: A. 1 mg/L, B. 2 mg/L, C. 3 mg/L, dan D. 4 mg/L.

Pembuatan Media

Media Murashige dan Skoog (MS) dibuat sesuai komposisi dari Murashige & Skoog (1962). Seluruh peralatan yang digunakan dan media yang sudah dibuat disterilisasi selama 15 menit di dalam autoklave dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi. Kemudian media diinkubasi selama 3 hari sebelum digunakan untuk penanaman eksplan.

Penanaman Eksplan

Planlet anggrek *D. discolor* berumur dua tahun kultur digunakan sebagai tanaman uji. Planlet dibersihkan dari bagian daun dan akar hingga didapatkan bagian batang anggrek. Batang anggrek *D. discolor* dipotong dengan ukuran 1 cm dan ditanam pada media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi 2,4-D sesuai dengan perlakuan.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah:

Persentase eksplan hidup

Pengamatan persentase eksplan hidup dilakukan pada minggu ke-4 setelah inisiasi eksplan. Persentase tahap perkecambahan biji dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase eksplan hidup} = \frac{\text{jumlah eksplan hidup}}{\text{jumlah total eksplan}} \times 100\%$$

Waktu muncul kalus

Pengamatan waktu muncul tunas dilakukan setiap hari dari hari pertama setelah inisiasi hingga tunas terbentuk.

Respon pertumbuhan eksplan

Pengamatan respon pertumbuhan eksplan dilakukan pada minggu ke-4 setelah inisiasi eksplan.

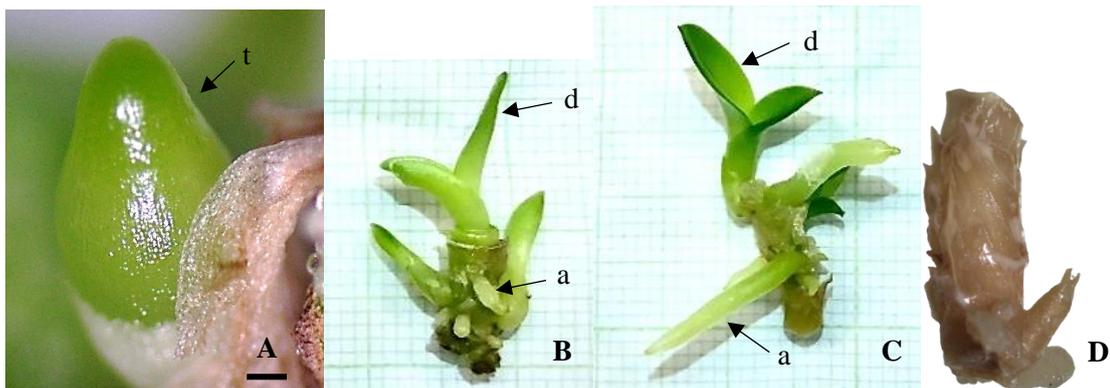
Analisis Data

Data persentase eksplan hidup, waktu muncul kalus, dan respon pertumbuhan eksplan yang didapat dari hasil penelitian ini ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon pertumbuhan eksplan

Respon pertumbuhan eksplan *D. discolor* dengan penambahan beberapa konsentrasi 2,4-D setelah 4 minggu kultur disajikan pada Gambar 1:



Gambar 1. Respon anggrek *D. discolor* terhadap pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D, 4 minggu setelah inisiasi. (A) Tunas; (B,C) Planlet anggrek *D. discolor*; (D) Eksplan terkontaminasi yang sudah membentuk daun dan akar. (t = tunas, a = akar, d = daun). Garis = 500 µm.

Pada Gambar 1a eksplan menunjukkan respon pertumbuhan awal yaitu pembentukan tunas. Tunas berhasil terbentuk pada seluruh perlakuan konsentrasi 2,4-D yang diberikan (Tabel 1). Tunas terbentuk sebagai respon pertumbuhan tanaman dan menjadi cikal bakal pembentukan planlet pada eksplan. Penambahan 2,4-D pada media MS mampu mengatur kadar auksin endogen dan pensinyalan hormon lain secara endogen. Perubahan auksin endogen ini menginisiasi terbentuknya tunas pada

eksplan (Raspor et al., 2021). Tunas akan membelah dan membentuk planlet *D. discolor* (Gambar 1b,c). Tunas yang terbentuk akan berkembang menjadi beberapa organ tanaman seperti daun dan akar (Nisa et al., 2021).

Gambar 1d menunjukkan eksplan yang mengalami kontaminasi selama masa pertumbuhan. Kontaminasi menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan berujung pada kematian eksplan. Kontaminasi dapat terjadi karena kondisi eksplan, organisme yang masuk ke dalam media kultur, alat-alat, lingkungan kerja, dan ruang inkubasi yang kurang steril (Andriani & Heriansyah, 2021).

Persentase eksplan hidup

Persentase eksplan hidup *D. discolor* dengan penambahan beberapa konsentrasi 2,4-D setelah 4 minggu kultur disajikan pada Tabel 1:

Tabel 1. Hasil pengamatan persentase hidup anggrek *D. discolor* pada beberapa konsentrasi 2,4-D setelah 4 minggu kultur.

Perlakuan	Persentase eksplan hidup (%)	Keterangan
A. 1 mg/L 2,4-D	100	Seluruh eksplan hidup
B. 2 mg/L 2,4-D	75	Mati/kontaminasi
C. 3 mg/L 2,4-D	100	Seluruh eksplan hidup
D. 4 mg/L 2,4-D	100	Seluruh eksplan hidup

Persentase eksplan hidup mencapai 100% pada perlakuan 1, 3, dan 4 mg/L 2,4-D (Tabel 1). Eksplan yang hidup ditandai dengan eksplan yang segar, berwarna terang dan tidak mengalami pencoklatan (Gambar 1 b-c). Seluruh eksplan *D. discolor* dapat tumbuh pada rentang konsentrasi 1-4mg/L 2,4-D. Hal ini sesuai dengan penelitian Waryastuti et al. (2017) bahwa konsentrasi auksin 2,4-D yang dibutuhkan untuk tanaman berkisar antara 2-5 mg/L. Keberhasilan pertumbuhan eksplan disebabkan oleh peranan 2,4-D yang mampu merangsang pertumbuhan *D. discolor*. 2,4-D berperan dalam pemanjangan dan pembelahan sel pada eksplan dan berperan dalam mempertahankan kemampuan regenerasi pada eksplan. Penambahan 2,4-D eksogen akan menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein dan permeabilitas sel terhadap air, serta melunakkan dinding sel yang diikuti dengan menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel dan sel akan membesar dan memanjang (Pianova et al., 2021).

Konsentrasi 2 mg/L 2,4-D memberikan persentase hidup terendah yaitu sebesar 75%. Hal ini disebabkan karena adanya eksplan yang mengalami kontaminasi. Kontaminasi yang terjadi pada eksplan dapat menghambat kemampuan eksplan dalam menyerap nutrisi sehingga menyebabkan kematian pada eksplan (Andriani & Heriansyah, 2021).

Waktu muncul tunas

Waktu muncul tunas eksplan *D. discolor* dengan penambahan beberapa konsentrasi 2,4-D setelah 4 minggu kultur disajikan pada Tabel 1:

Tabel 2. Hasil pengamatan rata-rata waktu muncul tunas anggrek *D. discolor* pada beberapa konsentrasi 2,4-D setelah 4 minggu kultur.

Perlakuan	Rata-rata waktu muncul tunas (HSI)
A. 1 mg/L 2,4-D	11,5
B. 2 mg/L 2,4-D	9,25
C. 3 mg/L 2,4-D	10,25
D. 4 mg/L 2,4-D	8,25

Keterangan: HSI = Hari Setelah Inisiasi.

Perlakuan 4 mg/L 2,4-D memberikan waktu muncul tunas tercepat dibanding perlakuan lainnya pada *D. discolor*. Perlakuan dengan konsentrasi 2,4-D yang rendah akan mengakibatkan inisiasi eksplan semakin lambat (Waryastuti et al., 2017). Dalam penelitian Yelnititis (2019) juga dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, pertumbuhan tanaman semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman akibat adanya luka irisan sehingga 2,4-D yang ditambahkan akan membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel terutama sel disekitar area luka.

Penambahan 2,4-D pada konsentrasi tertentu juga berhasil meningkatkan pertumbuhan beberapa jenis *Dendrobium*. Penelitian Ma et al. (2020) menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dalam konsentrasi tinggi sebesar 10 mg/L mampu meningkatkan persentase induksi tunas anggrek *Dendrobium auranticum*. Sedangkan penelitian Sulasiah et al. (2015) menyatakan bahwa pemberian 0,75 g/L 2,4-D berhasil menunjukkan tingkat organogenesis akar tertinggi pada anggrek *Dendrobium* sp. Hal ini menunjukkan setiap eksplan tanaman menunjukkan respon pertumbuhan berbeda-beda tergantung pada kondisi fisiologisnya. Penelitian ini menunjukkan anggrek *D. discolor* menunjukkan pertumbuhan terbaik pada pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 4 mg/L.

KESIMPULAN

Penambahan 4 mg/L 2,4-D merupakan konsentrasi terbaik untuk induksi tunas anggrek *D. discolor* secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Andalas yang telah mendukung selama pelaksanaan hingga keberhasilan penyelesaian dari penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, D., & Heriansyah, P. (2021). Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali : Agricultural Journal*, 4(2). <https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723>
- Apriliyani, R., & Wahidah, B. F. (2021). Perbanyak anggrek *Dendrobium* sp. secara *in vitro*: Faktor-faktor keberhasilannya. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, 1(2). <https://doi.org/10.24252/filogeni.v1i2.21992>
- Ario, A., & Setiawan, S. (2020). The Effect of Benzyl Amino Purine (BAP) Concentration on the Growth Amount of the Explant of *Dendrobium spectabile* Orchid by In-Vitro. *International Journal of Multi Discipline Science (IJ-MDS)*, 3(2). <https://doi.org/10.26737/ij-mds.v3i2.2397>
- Budisantoso, I., Amalia, N., & Kamsinah, K. (2017). In Vitro Callus Induction from Leaf Explants of *Vanda* sp Stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(3). <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11018>
- Ma, N. L., Khoo, S. C., Lee, J. X., Soon, C. F., & AB Shukor, N. A. (2020). Efficient micropropagation of *Dendrobium aurantiacum* from shoot explant. *Plant Science Today*, 7(3), 476–482. <https://doi.org/10.14719/PST.2020.7.3.724>
- Melisa, A. O. (2018). Pemberian Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Induksi Protocorm Like Bodies (PLB) Anggrek *Grammatophyllum scriptum* Secara In Vitro. *Journal Of Biology Education*, 1(1). <https://doi.org/10.21043/job.v1i1.3534>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nisa, N. A., Rahayu, T., & Jayanti, G. E. (2021). Peranan BAP dan Air Kelapa pada Medium VW terhadap Organogenesis *Dendrobium* sp. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(2). <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p14>
- Pakum, W., Inmano, O., & Kongbangkerd, A. (2021). TDZ and 2,4-D on in vitro propagation of panda

- plant from leaf explants. *Ornamental Horticulture*, 27(1). <https://doi.org/10.1590/2447-536X.V27I1.2251>
- Parthibhan, S., Rao, M. V., Teixeira da Silva, J. A., & Senthil Kumar, T. (2018). Somatic embryogenesis from stem thin cell layers of *Dendrobium aqueum*. *Biologia Plantarum*, 62(3). <https://doi.org/10.1007/s10535-018-0769-4>
- Pianova, A. S., Salokhin, A. V., & Sabutski, Y. E. (2021). In vitro propagation and conservation of *Leontopodium palibinianum* Beauverd (Asteraceae), endemic species of Primorye Territory. *Turczaninowia*, 24(4). <https://doi.org/10.14258/TURCZANINOWIA.24.4.10>
- Raspor, M., Motyka, V., Kaleri, A. R., Ninković, S., Tubić, L., Cingel, A., & Ćosić, T. (2021). Integrating the roles for cytokinin and auxin in de novo shoot organogenesis: From hormone uptake to signaling outputs. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 16). <https://doi.org/10.3390/ijms22168554>
- Sasmita, H. D., Dewanti, P., & Alfian, F. N. (2022). Somatic Embryogenesis of *Dendrobium lasianthera* X *Dendrobium antennatum* with the Addition of BA and NAA. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 50(2), 201–207. <https://doi.org/10.24831/jai.v50i2.39715>
- Sulasiah, A., Tumilisar, C., & Lestaria, T. (2015). Pengaruh Pemberian Jenis dan Konsentrasi Auksin terhadap Induksi Perakaran Pada Tunas *Dendrobium* sp secara *In vitro*. *BIOMA*, 11(2). [https://doi.org/10.21009/bioma11\(2\).5](https://doi.org/10.21009/bioma11(2).5)
- Umami, N., Respati, A. N., Rahman, M. M., Umpuch, K., & Gondoe, T. (2022). Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from the Apical Meristem of Wrukwona Napiergrass (*Pennisetum purpureum*) Treated with Thidiazuron and Cupric Sulfate. *Tropical Animal Science Journal*, 45(2). <https://doi.org/10.5398/tasj.2022.45.2.220>
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., & Wardiyati, T. (2017). Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan BAP pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*, 5(1). <http://protan.studentjournal.ub.ac.id/index.php/protan/article/view/362>
- Yelnitis. (2019). Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) [Friable callus induction from leaf explant of ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.)]. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(3). <https://dx.doi.org/10.20886/jpth.2012.6.3.181-194>