

KAJIAN THIDIAZURON (TDZ) DALAM INDUKSI PLB ANGGREK *Phalaenopsis* sp SECARA IN VITRO

(The Study Of Thidiazuron (Tdz) Hormone In Induction Of Phalaenopsis sp Plb In Vitro)

Didik Pudji Restanto, Budi Kriswanto, Mohammad Nur Khozim dan Sigit Soeparjono
Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Jember
email : restanto.lemlit@unej.ac.id

ABSTRAK

Anggrek *Phalaenopsis sp* merupakan jenis anggrek endemik di hutan tropis Kalimantan yang mempunyai nilai eksotik yang tinggi. Indonesia adalah negara tropis yang mempunyai plasma nutfah anggrek sekitar 6000. Pengembangan anggrek ini di Indonesia masih secara tradisional sehingga belum mampu bersaing dengan negara lain Taiwan, Malaysia, Singapur dan china. Perkembangan anggrek akan lebih pesat dengan kemajuan teknologi yaitu sistem bioreaktor sehingga mampu menghasilkan dalam skala industri. Tujuan dari pada penelitian ini adalah ingin mengetahui peran TDZ dalam perkembangan induksi PLB. Pemberian TDZ 1 ppm meningkatkan berat basah PLB dan jumlah PLB sebesar masing-masing 34 g dan 40. Pada perlakuan kontrol (tanpa TDZ) akan membentuk sistem perakaran yaitu jumlah akar (5,5) dan panjang akar (16 cm).Sebaliknya, dengan pemberian TDZ justru tidak memunculkan system perakaran melainkan terjadi perkembangan PLB yang terjadi.

Kata kunci : *Phalaenopsis sp, Protocorm Like Bodies (PLB), Thidiazuron (TDZ)*

ABSTRACT

Phalaenopsis sp is an endemic species of orchid in tropical forest of Kalimantan which it has high exotic value. Indonesia is a tropical country that has orchid germplasm around 6000. Orchid development in Indonesia is still traditional so it has not been able to compete with other countries like Taiwan, Malaysia, Singapura and china. The development of orchids will be more rapid with the advancement of technology with bioreactor system to produce for industry scale. The purpose of this research is to know the effect of TDZ hormone in the development of PLB induction. The application of TDZ 1 ppm can increases of parameter like: wet weight of PLB and PLB number are 34 g and 40, respectively. In contrast, control treatment (without TDZ) will form root system like root number (5.5) and root length (16 cm).

Keywords: *Phalaenopsis sp, Protocorm Like Bodies (PLB), Thidiazuron (TDZ)*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang luar biasa, salah satunya adalah anggrek, diperkirakan sekitar 5000 jenis anggrek spesies tersebar di hutan wilayah Indonesia. Potensi ini sangat berharga bagi pengembang dan pecinta anggrek di Indonesia, khususnya potensi genetik untuk menghasilkan anggrek silangan yang memiliki nilai komersial tinggi. Potensi tersebut akan menjadi tidak berarti bila penebangan hutan dan eksploitasi besar-besaran terjadi hutan kita, belum lagi pencurian terang-terangan ataupun “terselubung” dengan dalih kerjasama dan sumbangan penelitian baik oleh masyarakat kita maupun orang asing. Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) atau puspa pesona adalah salah satu bunga nasional Indonesia yang pertama kali ditemukan oleh seorang ahli botani Belanda, Dr. C.L. Blume.

TDZ merupakan sitokinin yang juga bersifat merangsang multiplikasi pucuk dalam konsentrasi rendah dan dapat menghasilkan tunas kerdil dengan kualitas rendah pada konsentrasi yang tinggi. Devilana (2005) menyatakan bahwa pada kultur jaringan nenas, TDZ dengan konsentrasi 1×10^{-1} ppm menghasilkan jumlah tunas aksilar dan tunas adventif tertinggi yaitu sekitar 35 buah pada lima minggu setelah tanam. Thidiazuron juga masuk dalam kelompok ZPT sitokinin sintetik sama seperti BAP. TDZ dapat berperan dalam menstimulasi produksi sitokinin endogen dan memiliki peran sebagai inhibitor sitokinin oksidase yang merupakan enzim menghilangkan keaktifan sitokinin tipe adenin bebas. Oleh karena itu TDZ dapat meningkatkan kerja sitokinin lain, baik sitokinin eksogen ataupun sitokinin endogen (Bilal *et al.*, 2011). TDZ telah dilaporkan efektif untuk regenerasi beberapa jenis anggrek *oncidium* (Chen dan Chang 2001) dan *Dendrobium* (Sujjaritthurakarn dan Kanchanapoom, 2011).

BAP dan TDZ adalah dua jenis sitokinin dengan tipe urea yang berbeda. Menurut Huettman dan Preece dalam Anwar (2007) sitokinin tipe urea seperti TDZ, memiliki aktivitas lebih kuat dibanding tipe adenin atau purin seperti BAP. Penggunaan TDZ dan BAP sebagai salah satu zat pengatur tumbuh pada komoditas pisang dilaporkan oleh Sukmadjaja *et. al.*, (2007) yang menyatakan bahwa pemberian

0.1 ppm TDZ tanpa penambahan BAP serta pemberian BAP pada konsentrasi rendah (0.5 ppm) yang dikombinasikan dengan TDZ 1.5 ppm merupakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang memberikan hasil penambahan jumlah tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya.

Pemberian TDZ dengan konsentrasi rendah lebih cepat menginduksi kalus daripada pada konsentrasi yang tinggi, untuk regenerasi kalus lebih baik mengkombinasikan TDZ dan NAA dengan konsentrasi rendah daripada TDZ saja (Oláh *et al.*, 2003). Menurut (Erisen *et al.*, 2011) menyatakan bahwa kombinasi NAA dan TDZ dapat memacu pertumbuhan regenerasi tunas adventif dari daun dan tangkai daun *Astragalus cariensis*. TDZ dapat mendorong multiplikasi pucuk lebih baik dibandingkan dengan IBA, atau IBA dikombinasikan dengan NAA. Juga telah dilaporkan oleh (Sujjaritthurakarn dan Kanchanapoom, 2011) penambahan TDZ 18 μ M adalah konsentrasi optimal untuk induksi PLB *Dendrobium*.

METODE PENELITIAN

Bahan tanam

Anggrek *Phalaenopsis* berlidah merah dan berlidah putih disilangkan untuk mendapatkan biji (seedpod), setelah 3-4 bulan pot telah masak. Sterilisasi dilakukan dengan memasukan pot kedalam ethanol 95% dan dibakar. Kemudian dipotong bagian ujung dan di belah secara longitudinal untuk mendapatkan biji.pembakaran dilakukan bisa membunuh kontaminan pada bagian luar kulit pot tanta membunuh bijinya.

Media tanam

Media MS digunakan untuk menumbuhkan biji yang mengandung gula 3%, agar (8,2 g/l) dan air kelapa 15%. pH ditentukan 5,5 dan media diautoklaf pada temperature 121°C tekanan 17,5 psi selama 20 menit. Semua kultur diinkubasi pada 25°C dibawah penyinaran 16 jam terang dan 8 jam gelap. Protocorm muncul setelah inkubasi selama 2 bulan.

Induksi PLB

PLB 2 bulan digunakan sebagai bahan tanam untuk ditanam dalam media MS dengan suplemen TDZ sebesar 0 (control), 0,1 ppm, 1 ppm, 3 ppm dan 5 ppm). Adapun parameter yang diamati anantara lain pembentukan PLB, berat basah PLB, jumlah akar, panjang akar dan kandungan klorofil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan tanam berasal dari persilangan anggrek *Phalaenopsis* berlidah merah dan kuning. Persilangan dilakukan dengan cara memasukan benang sari kedalam collumnya masing masing sehingga sekitar satu bulan terbentuk pot yang terlihat dengan tanda panah (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil persilangan terlihat pot dengan tanda panah

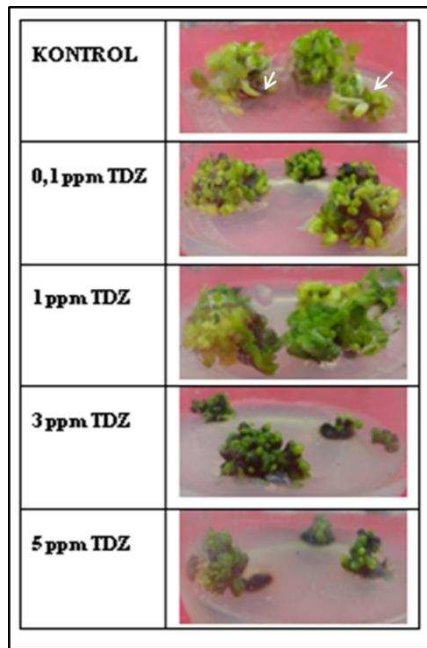
Pendewasaan pot sekitar 3-4 bulan setelah polinasi ditandai dengan warna pot agak kekuningan dan siap untuk ditumbuhkan secara in vitro.

PLB anggrek *Phalaenopsis* berumur 4 bulan digunakan sebagai bahan tanan. Diharapkan dengan pemberian TDZ akan berpengaruh terhadap induksi PLB yang lebih banyak. PLB tersebut kemudian disubkultur pada media $\frac{1}{2}$ MS padat dengan penambahan air kelapa (CW) 15% untuk membentuk PLB yang lebih besar digunakan sebagai bahan tanam. Menurut (Sulistiyorini *et al.*, 2012), menyatakan bahwa air kelapa adalah salah satu bahan alami yang didalamnya terkandung hormon seperti; sitokinin 5,8 mg/l, auksin 0,07 mg/l, dan giberelin dalam jumlah yang sedikit yang dapat menstimulasi perkecambahan dan pertumbuhan. Air kelapa kaya akan potasium (kalium) hingga 17 %. Selain kaya mineral, air kelapa juga mengandung

gula antara 1,7% sampai 6 % dan protein 0,07 hingga 0,55 %. Mineral lainnya antara lain natrium (Na), kalsium (Ca), magnesium (Mg), ferum (Fe), cuprum (Cu), fosfor (P) dan sulfur (S). Selain itu air kelapa juga mengandung vitamin seperti asam sitrat, asam nikotinat, asam pantotenat, asam folat, niacin, riboflavin, dan thiamin. Pemberian air kelapa 15% sangat optimal untuk mendorong terbentuknya PLB, hal ini dikarenakan didalam air kelapa terkandung bahan makanan seperti asam amino, asam organik, gula, vitamin dan zat pengatur tumbuh.

Dalam penelitian ini menggunakan zat pengatur tumbuh TDZ dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 3 ppm dan 5 ppm untuk induksi PLB yang lebih banyak.

Menurut (Khawar *et al.*, 2004), menyatakan bahwa TDZ memiliki sifat paling aktif dari sitokinin seperti zat, dan mampu menginduksi lebih besar dalam proliferasi tunas *in vitro* dari sitokinin lainnya pada beberapa jenis tanaman. Hasil aplikasi TDZ terhadap perkembangan PLB terlihat pada Gambar 2.

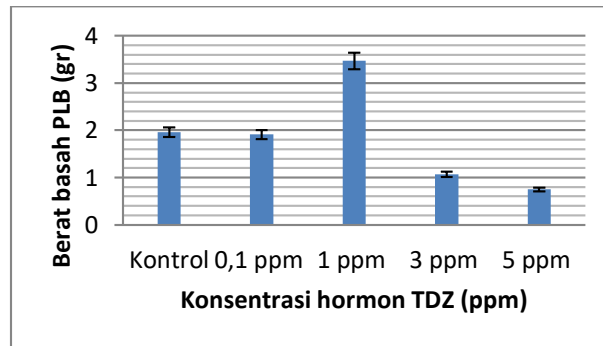


Gambar 2. Pengaruh TDZ pada kontrol (0 ppm), 0,1 ppm, 1 ppm, 3 ppm dan 5 ppm terhadap pembentukan PLB pada umur 3 bulan.

Pada Gambar 2 terlihat dengan pemberian TDZ akan meningkatkan pembentukan PLB baru, tetapi pada perlakuan kontrol terlihat muncul sistem perakaran (tanda panah).

Pengaruh TDZ terhadap berat basah PLB

Berat basah akan mencerminkan keadaan yang sebenarnya pertumbuhan PLB dengan aplikasi TDZ bisa dilihat pada Gambar 3.

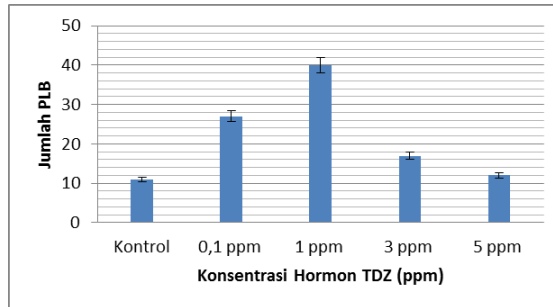


Gambar 3 Rata-rata berat basah eksplan anggrek yang dipengaruhi oleh konsentrasi hormon TDZ pada umur 4 bulan

Hasil parameter berat basah PLB menunjukkan suatu peningkatan sampai dengan penambahan TDZ 1 ppm kemudian berat basahnya mengalami penurunan dengan semakin bertambahnya konsentrasi TDZ. Rendahnya berat basah PLB pada konsentrasi 3 ppm dan 5 ppm dikarenakan pada konsentrasi tersebut diduga sudah mengalami keracunan ditandai dengan pertumbuhan mengalami terhambat (Gambar 1) terjadi penghambatan pertumbuhan PLB. Hal ini didukung oleh pernyataan (Niknejad *et al.*, 2011) yang menyatakan bahwa pemberian TDZ berpotensi dalam induksi PLB anggrek *Phalaeonopsis* dari eksplan daun secara langsung, dengan peningkatan sampai 5 ppm akan terjadi penghambatan pembentukan PLB yang ditandai dengan penurunan berat PLB.

Jumlah Protocorm Like Body (PLB)

Jumlah PLB mempunyai pola yang sama dengan parameter berat basah PLB (Gambar 4).

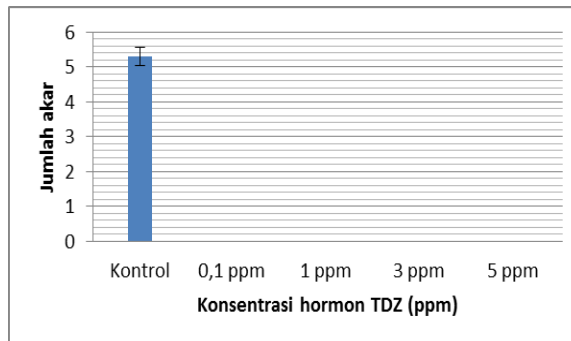


Gambar 4. Rata-rata jumlah PL yang dipengaruhi konsentrasi TDZ pada umur 4 bulan

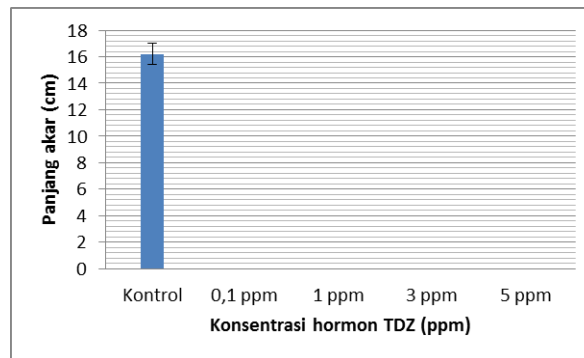
Jumlah PLB menunjukkan peningkatan pada penambahan TDZ 0,1 ppm dan tertinggi dicapai pada konsentrasi TDZ 1 ppm dan mengalami penurunan jumlah PLB dengan penambahan TDZ 3 ppm dan 5 ppm. Hal ini seiring dengan parameter berat PLB. Menurut Sujjaritthurakarn *et., al* (2011) melaporkan induksi PLB tertinggi (86 %) dicapai pada pemberian TDZ 18 uM pada anggrek *Dendrobium*

Pengaruh Konsentrasi TDZ Terhadap Sistem Perakaran (jumlah dan panjang akar)

Sistem perakaran terbentuk tanpa aplikasi TDZ (kontrol) dengan pemberian TDZ justru tidak bisa memunculkan sistem perakaran (Gambar 5 dan Gambar 6).



Gambar 5. Rata-rata jumlah akar pada pembentukan PLB anggrek *onchidium*

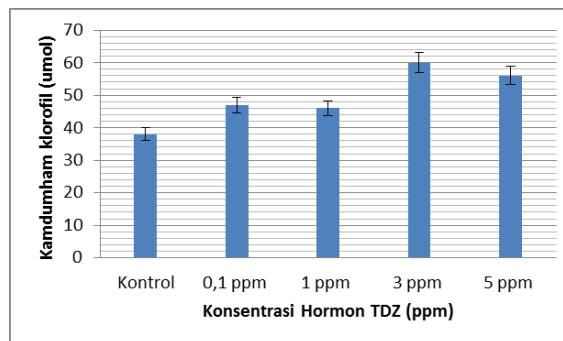


Gambar 6. Rata-rata panjang akar pada pembentukan PLB anggrek *onchidium*

Pada gambar di atas menunjukkan pada pemberian TDZ 0ppm (kontrol) memacu sistem perakaran dengan rata-rata jumlah akar 5,3 dan rata-rata panjang akar mencapai 16,5 cm, sedangkan pada pemberian TDZ tidak muncul system perakaran (didiukung Gambar 1) Hal ini sesuai dengan penelitian (Ahmad *et al.*, 1996) yang menyatakan Meskipun TDZ merupakan sitokinin yang paling aktif untuk pertunasan tetapi hormon ini juga dapat menghambat suatu sistem perakaran pada tanaman anggrek. Hal ini juga didukung oleh penelitian (Parveen dan Shahzad, 2010) bahwa TDZ sangat dominan pada induksi tunas *Cassia sophare* dan tidak berpengaruh pada system perakaran.

Pengaruh Beberapa Konsentrasi TDZ Terhadap Kandungan Klorofil

Aplikasi TDZ ada kecenderungan dalam sintesa klorofil semakin tinggi akan terjadipeningkatan kandungan klorofil (Gambar 7)



Gambar 7. Rata-rata Jumlah Kandungan Klorofil Pada Beberapa Konsentrasi TDZ Pada pembentukan PLB

Pada Gambar 7, menunjukkan bahwa jumlah kandungan klorofil yang dihasilkan tidak terlalu jauh dari kontrol sampai konsentrasi TDZ 5 ppm yaitu pada kontrol, 0,1ppm, 1ppm, 3ppm, dan 5ppm masing-masing kandungan klorofil sebesar 37µg chl/ml, 47µg chl/ml, 46µg chl/ml, 60µg chl/ml dan 55µg chl/ml tetapi ada kecenderungan bahwa semakin tinggi TDZ terjadi peningkatan kandungan klorofil (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa apabila pemberian konsentrasi TDZ maka kandungan klorofil yang dihasilkan suatu tanaman akan baik, hal ini sesuai dengan penelitian (Parveen dan Shahzad, 2010) bahwa pemberian konsentrasi TDZ dapat meningkatkan kandungan klorofil yang sangat baik pada kultur in vitro tanaman sayur-sayuran. Juga melaporkan bahwa pemberian TDZ sampai konsentrasi 5 ppm meningkatkan kandungan total klorofil (klorofil a dan b) apabila ditingkatkan sampai 10 ppm akan terjadi penurunan kandungan klorofil pada tanaman *Bryum argenteum* (*Bryaceae*).

KESIMPULAN

Pemberian TDZ sangat berpengaruh terhadap perkembangan PLB anggrek *Phalaenopsis*. Penambahan TDZ 1 ppm akan meningkatkan parameter berat basah PLB (34 g), jumlah PLB (40) sedangkan 3 dan 5 ppm perkembangan PLB terhambat. Tanpa penambahan TDZ (kontrol) justru memunculkan system perakaran yaitu jumlah akar (5,5) dan panjang akar (16 cm).

DAFTAR PUSTAKA

- B, G., Bilal, H. A., Amir, Z., L, L. X., & Y, H. W. (2011). Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984–9000. <https://doi.org/10.5897/AJB11.636>
- Chen, J. (2001). Effects of auxins and cytokinins on direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium 'Gower Ramsey'*. *Plant Growth Regulation*, 34, 229–232. <https://doi.org/10.1023/A:1013304101647>
- Erlışen, S., Atalay, E., & Yorgancilar, M. (2011). The effect of thidiazuron on the in

vitro shoot development of endemic *Astragalus cariensis* in Turkey, 35, 521–526. <https://doi.org/10.3906/bot-1009-74>

Khawar, K. M., Sancak, C., Uranbey, S., & Özcan, S. (2004). Effect of Thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.) via organogenesis. *Turkish Journal of Botany*, 28(4), 421–426.

Niknejad, A., Kadir, M. A., & Kadzimin, S. B. (2011). In vitro plant regeneration from protocorms-like bodies (PLBs) and callus of *Phalaenopsis gigantea* (Epidendroideae : Orchidaceae), 10(56), 11808–11816. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2597>

Oláh, R., Szegedi, E., Ruthner, S., & Korbuly, J. (2003). Thidiazuron-induced regeneration and genetic transformation of grapevine rootstock varieties. *Vitis*, 42(3), 133–136.

Parveen, S., & Shahzad, A. (2010). TDZ-induced high frequency shoot regeneration in *Cassia sophera* Linn. via cotyledonary node explants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16(2), 201–206. <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0022-x>

Sujjarittharakarn, P., & Kanchanapoom, K. (2011). Efficient Direct Protocorm-Like Bodies Induction of Dwarf *Dendrobium* using Thidiazuron. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(4), 88–92. <https://doi.org/10.15835/NSB346356>

Sulistiyorini, I., Sari, M., & Ibrahim, D. (2012). Penggunaan Air Kelapa Dan Beberapa Auksin Untuk Induksi Multiplikasi Tunas Dan the Use of Coconut Water and Several Auxin for Shoot, 231–238.