

Multiplikasi Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) dengan Menggunakan Thidiazuron dan Sumber Eksplan Berbeda secara *In Vitro*

***In vitro* shoot multiplication of andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) by using thidiazuron treatment and different source of explant**

Eron Swandra, M. Idris^{*)} dan Netty W. Surya

Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, 25163

^{*)}Koresponden : uwakidris@gmail.com

Abstract

The aim of this research was to study the responses of Andalas somaclone explant and to determine the best concentration of thidiazuron (TDZ) for shoot multiplication. It used completely randomized design (CRD) in factorial with two experimental factors and three replications. The first factor was source of nodal explant; explant without colchicine treatment and explant with colchicine treatment (0,1% for 72 hours immersion time). The second factor was five levels of TDZ which were 0; 0.125; 0.250; 0.375 and 0.500 mg/l. The results showed that all treatment gave life percentage of explant 100%. The best timing of shoot formation were 5.33 day after cultured (dac) from explant without colchicine treatment and 5 dac from explant with colchicine treatment. TDZ 0,500 mg/l from explant without colchicine treatment showed the highest number of shoots (12.67) while TDZ 0.375 mg/l for explant with cholchine treatment (10.67). The highest length of shoot were showed in TDZ 0.125 mg/L from explant without colchicine treatment (32.33 mm) and explant with colchicine treatment (38.33 mm). The length of shoot decreased along increasing of TDZ concentration, while the number of shoot increased along increasing of TDZ concentration.

Keywords: *Morus macroura* Miq. var. *macroura*, multiplication, thidiazuron, explant, *in vitro*

Pendahuluan

Keberadaan tumbuhan Andalas saat ini menjadi langka, sementara usaha pelestarian Andalas mengalami hambatan. Hal ini disebabkan faktor endogen (dioceous) yang mana sulit melakukan perbanyakan secara generatif dan faktor eksogen (lingkungan yang kritis dan ekstrim) yang menyebabkan sulitnya dalam pertumbuhan dan perkembangannya. Oleh karena itu, diperlukan suatu upaya perbanyakan klon Andalas dalam waktu relatif singkat dan memiliki sifat yang sama terhadap induknya dengan cara multiplikasi tunas secara *in vitro*

dan penggandaan kromosom, sehingga didapatkan klon somaklonal Andalas yang dapat bertahan pada lingkungan yang kritis dan ekstrim.

Perubahan ploidi (poliploid) menyebabkan terjadinya perubahan karakter vegetatif yang ukurannya lebih besar dibandingkan dengan diploidnya. Namun, sisi negatif dari perubahan ploidi menyebabkan laju regenerasi tunas akan lambat. Sehingga diperlukan ZPT jenis sitokinin untuk memultiplikasi tunas, dan TDZ merupakan yang terbaik dibandingkan dengan sitokinin lainnya (Lu, 1993). Penggunaan TDZ sudah pernah dilakukan oleh beberapa peneliti

seperti Thomas, Bhatnagar, Bhojwani (2000) pada tanaman triploid Mulberry (*Morus alba* L) dengan TDZ 1 μ M yang paling baik dan Husain, Anis dan Shahzad (2007) pada *Pterocarpus marsupium* Roxb dengan TDZ 0,4 μ m yang terbaik serta Tewari, Bhatnagar dan Khurana (1999) mendapatkan konsentrasi TDZ lebih optimal dibandingkan dengan BAP pada beberapa jenis *Morus*

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui respon eksplan Andalas tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1%, konsentrasi TDZ terbaik untuk multiplikasi tunas dan interaksi antara sumber eksplan terhadap pemberian beberapa konsentrasi TDZ.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama perlakuan dari penelitian ini adalah perbedaan sumber eksplan dari nodus Andalas (tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1 % dengan perendaman 72 jam) sedangkan faktor kedua adalah perbedaan konsentrasi thidiazuron (0; 0,125; 0,250; 0,375 dan 0,500 mg/l) dalam memultiplikasi tunas Andalas. Total perlakuan terdiri dari tiga set percobaan dengan 10 perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri atas 3 ulangan. Eksplan Andalas ditempatkan dalam media propagasi (MS komposisi penuh + 3 mg/l BAP + 0,2 mg/l Biotin+ 3% sukrosa). Kemudian disubkultur pada media MS komposisi penuh yang berisi thidiazuron dengan konsentrasi berbeda dan diinkubasi selama 60 hari. Pada periode inkubasi dilakukan pengamatan meliputi persentase hidup eksplan, hari pertama pembentukan tunas, jumlah dan panjang tunas serta pengamatan morfologi dan terbentuknya akar. Kemudian dianalisis secara deskriptif (Persentase hidup eksplan dan pengamatan morfologi) dan statistik (Hari pertama pembentukan tunas, jumlah dan panjang tunas) dan dilanjutkan dengan DNMRT 5% jika perlakuan berbeda nyata.

Hasil dan Pembahasan

Multiplikasi Tunas

Persentase hidup eksplan

Pemakaian TDZ dengan berbagai macam perbedaan konsentrasi eksplan Andalas tanpa induksi kolkisin (A0) dan hasil induksi kolkisin 0,1% (A1) tidak berpengaruh nyata pada persentase hidup eksplan Andalas yang mana pada seluruh perlakuan hidup 100%. Kemampuan hidup eksplan yang baik ini disebabkan eksplan yang digunakan adalah nodus yang bersifat meristematis sehingga daya regenerasi tinggi dan sel-selnya aktif membelah.

Selain pemilihan eksplan, media yang berisi nutrisi dan vitamin juga menjadi salah satu faktor yang menyokong untuk pertumbuhan eksplan. Nutrisi yang cukup dan cocok sangat menentukan dalam pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Semua nutrisi tersebut tercakup dalam media MS, karena MS merupakan media yang universal dan cocok untuk tumbuhan monokotil dan dikotil.

Waktu muncul tunas

Penggunaan TDZ dan perbedaan eksplan tidak berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas (Tabel 1). Pada semua perlakuan, perlakuan A1B0 memperlihatkan paling lambat dalam memunculkan tunas dan perlakuan A1B3 yang tercepat memunculkan tunas. Pada eksplan hasil induksi kolkisin (A1), waktu muncul tunas berbanding lurus dengan tingkat pemberian konsentrasi TDZ, tetapi pada perlakuan A1B4 terjadi sedikit penurunan. Hal ini diduga pada konsentrasi TDZ 0,375 mg/l (B3) merupakan konsentrasi optimum dalam memunculkan tunas. Kemudian pada eksplan tanpa induksi kolkisin, waktu muncul tunas tidak seiring dengan peningkatan konsentrasi TDZ. Chakraborti *et al.* (1998), mendapatkan tanaman diploid *Morus alba* tunas muncul pada hari ketiga, sedangkan yang diinduksi dengan kolkisin pada hari ke 5-8. Hasil ini menunjukkan bahwa muncul tunas yang

diinduksi dengan kolkisin lebih lambat dibandingkan dengan tanpa diinduksi kolkisin.

Perbedaan respon yang diberikan tanaman tanpa dan hasil induksi kolkisin diduga ada hubungannya antara ZPT endogen dan ZPT eksogen yang ditambahkan pada

media tersebut. Tumbuhnya tunas ini disebabkan adanya interaksi antara ZPT endogen dan eksogen sehingga kadar sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin sehingga munculnya tunas dan mereduksi apikal.

Tabel 1. Waktu Muncul Tunas Andalas (*Morus macroua* Miq. var. *macroua*) Tanpa Induksi Kolkisin dan Hasil Induksi Kolkisin secara *In Vitro* setelah 60 hst.

Sumber Tunas	Konsentrasi Thidiazuron (mg/l)				
	B0	B1	B2	B3	B4
A0	7,00	7,33	5,67	7,33	5,33
A1	10,00	6,67	6,00	5,00	5,33

Ket : A0 = tanpa induksi kolkisin, A1= hasil induksi kolkisin 0,1 % selama 72 jam, B0 = 0 mg/l TDZ, B1 = 0,125 mg/l TDZ, B2 = 0,250 mg/l TDZ, B3 = 0,375 mg/l TDZ, B4 = 0,500 mg/l TDZ.

Tabel 2. Jumlah tunas Andalas (*Morus macroua* Miq. var. *macroua*) tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1% secara *in vitro* 60 hari setelah tanam pada media perlakuan.

Sumber Tunas	Konsentrasi Thidiazuron (mg/l)					Rata-rata
	B0	B1	B2	B3	B4	
A0	1,00 ^f	1,67 ^f	7,00 ^d	10,00 ^b	12,67 ^a	6,47A
A1	1,00 ^f	1,67 ^f	3,33 ^e	10,67 ^b	8,67 ^c	5,07B
Rata-rata	1,00A	1,67A	5,17B	10,33C	10,67C	

Ket :Setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf kecil dan besar yang sama menunjukkan hasil pengamatan yang tidak berbeda nyata pada taraf uji DNMR 5%.

Tabel 3. Panjang tunas (mm) Andalas (*Morus macroua* Miq. var. *macroua*) tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1% secara *in vitro* 60 hari setelah tanam pada media perlakuan.

Sumber Tunas	Konsentrasi Thidiazuron (mg/l)					Rata-rata
	B0	B1	B2	B3	B4	
A0	2,67 ^f	32,33 ^b	17,67 ^c	17,00 ^e	21,00 ^d	18,13B
A1	1,33 ^f	38,33 ^a	21,00 ^d	22,67 ^c	18,67 ^e	20,40A
Rata-rata	2,00C	35,33A	19,33B	19,83B	19,883B	

Ket : Setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf kecil dan besar yang sama menunjukkan hasil pengamatan yang tidak berbeda nyata pada taraf uji DNMR 5%.

Jumlah tunas

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemakaian TDZ dengan berbagai konsentrasi menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang dihasilkan, yang ditampilkan pada Tabel 2. Perbedaan sumber eksplan dan konsentrasi TDZ

memperlihatkan perbedaan nyata terhadap jumlah tunas yang dihasilkan dan terlihat adanya interaksi antara kedua perlakuan tersebut.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat jumlah rata-rata tunas pada eksplan tanpa induksi kolkisin (A0) lebih banyak

dibandingkan dengan hasil induksi kolkisin (A1). Kemudian perbedaan konsentrasi TDZ yang diberikan berpengaruh terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Pemberian konsentrasi 0-0,125 TDZ mg/l tidak menampakkan perbedaan signifikan antara tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1%. Kemudian pada pemberian konsentrasi 0,25 TDZ mg/l baru terdapat perbedaan jumlah tunas yang dihasilkan antar kedua sumber eksplan tersebut. Peningkatan Thidiazuron (TDZ) yang diberikan meningkatkan jumlah tunas yang dihasilkan. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa pemberian sitokinin ke dalam media kultur pada konsentrasi yang tinggi dapat memacu pertumbuhan tunas aksilar dan mereduksi apikal pucuk utama pada kultur tumbuhan berkeping dua.

Jumlah tunas yang dihasilkan tanpa induksi kolkisin (A0) lebih banyak dibandingkan dengan hasil induksi kolkisin 0,1% (A1). Pada perlakuan A0B4, paling banyak dalam menghasilkan jumlah tunas yaitu 12,67, dan masih ada kemungkinan dapat dilakukan peningkatan konsentrasi TDZ untuk melihat optimalisasi dalam menghasilkan tunas. Sedangkan pada perlakuan A1B3, paling banyak dalam menghasilkan tunas yaitu berjumlah 10,67. Tiwari *et al.*, (2001) menyatakan bahwa pemberian konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menyebabkan jumlah tunas berkurang.

Pemberian kolkisin diduga masih menghambat jumlah tunas yang dihasilkan, sehingga terjadi perbedaan jumlah tunas tanpa induksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 0,1% dengan perendaman 72 jam, yang mana jumlah tunas tanpa induksi kolkisin lebih banyak dibandingkan dengan hasil induksi kolkisin 0,1% dengan perendaman 72 jam. Swanson (1957) mengatakan bahwa tingkat pertumbuhan yang lambat mungkin karena tingkat penurunan pembelahan sel yang dihasilkan dari gangguan fisiologis disebabkan oleh kolkisin. Meskipun begitu, TDZ dapat merangsang pembelahan sel lebih cepat agar kembalinya pertumbuhan pada eksplan. Chakraborti *et al.*

(1998) mengatakan bahwa pemberian BA pada medium mungkin meningkatkan pembelahan sel dan kembalinya pertumbuhan pada tanaman tetraploid *Morus alba* L., dan sebagaimana TDZ dan BA merupakan hormon sitokinin yang salah satu fungsinya adalah untuk mempercepat pembelahan sel.

Panjang Tunas

Pemakaian TDZ dengan berbagai konsentrasi menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap panjang tunas dan interaksi antara perbedaan sumber eksplan dan konsentrasi TDZ yang dihasilkan, yang ditampilkan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3, rata-rata panjang tunas menunjukkan bahwa eksplan yang berasal dari nodus *Morus macroura* yang ditanam pada media dengan konsentrasi TDZ 0,125 mg/l merupakan yang terbaik, baik tanaman tanpa induksi kolkisin maupun hasil induksi kolkisin. Pada Tabel tersebut dapat dilihat bahwa seiring meningkatnya konsentrasi TDZ yang diberikan maka akan menyebabkan penurunan panjang tunas. Ini diduga dari aktivitas TDZ sendiri, yang mana peningkatan TDZ akan memperbanyak tunas yang dihasilkan sehingga menekan aktivitas auksin dan hormon endogen lainnya dalam elongasi batang dan menyebabkan tanaman terlihat roset.

Pada tanaman Gaharu dengan pemakaian konsentrasi TDZ 0,25, 0,5 dan 0,75 ppm juga planlet menjadi roset (Azwin, Siregar dan Supriyanto, 2006), daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) (Syahid dan Kristina, 2008) dan anis (*Pimpinella anisum* L.) (Rostiana, 2007). Kemudian Lu (1993) juga menambahkan pemberian TDZ pada konsentrasi tertentu akan menghambat pertumbuhan tinggi tanaman. bahwa TDZ diperkirakan memiliki aktivitas auksin.

Karakter Morfologi dan Terbentuknya Akar

Setelah dilakukan inkubasi selama 60 hari karakter morfologi eksplan Andalas masih normal dan terlihat roset. Secara visualisasi ukuran daun pada tanaman tanpa induksi kolkisin lebih kecil dari tanaman hasil induksi

kolkisin. Tanaman hasil induksi kolkisin sudah menunjukkan perubahan ploidi. Perubahan ploidi (tetraploid) tersebut baru terlihat dari kromosom yang diuji pada ujung akar. Sedangkan faktor anatomi dan morfologi secara numerik belum didapatkan data sebagai penunjang perubahan ploidi tersebut. Perbedaan karakter tumbuh menjadi salah satu perbedaan antara tanaman diploid dan poliploid. Perbedaan ukuran diploid dan poliploid terjadi juga *Morus alba* (Chakraborti *et al.*, 1998).



Gambar 1. Kondisi eksplan yang berakar pada medium perlakuan dengan penambahan konsentrasi TDZ 0,125 mg/l

Munculnya akar setelah diinkubasi selama 45 hst pada medium multiplikasi disebabkan adanya rasio hormon auksin endogen yang dimiliki eksplan lebih besar jumlahnya dibandingkan dengan konsentrasi sitokinin yang diberikan, sehingga auksin akan memicu terbentuknya akar. Menurut Darmansyah (1993), pada penelitiannya mengenai kultur daun *M. macroura*, akar muncul dikarenakan tingginya kadar auksin endogen pada tumbuhan tersebut. Selain itu, munculnya akar pada medium dengan 0,125 TDZ ini mungkin disebabkan fungsi hormon TDZ itu sendiri. Meskipun TDZ merupakan hormon yang kerjanya seperti sitokinin. Tetapi hormon ini diduga memiliki aktivitas auksin. Hal ini sesuai dengan Lu (1993).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil diatas, dapat disimpulkan bahwa :

1. Waktu muncul tunas tanpa diinduksi kolkisin paling cepat adalah 5,33 hst dan hasil induksi kolkisin 0,1% 5 hst dengan persentase hidup eksplan tanpa diinduksi kolkisin dan hasil induksi kolkisin 100%.
2. Jumlah tunas tanpa diinduksi kolkisin terbaik adalah 12,67 pada konsentrasi TDZ 0,500 mg/l dan jumlah tunas hasil induksi kolkisin 0,1% terbaik adalah 10,67 pada konsentrasi TDZ 0,375 mg/l. Panjang rata-rata tunas tanpa diinduksi kolkisin terbaik adalah 32,33 mm dan hasil induksi kolkisin 0,1% 38,33 pada medium dengan konsentrasi 0,125 mg/l TDZ.
3. Panjang tunas mengalami penurunan dengan peningkatan konsentrasi TDZ dan sebaliknya jumlah tunas mengalami peningkatan

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Andalas yang telah membiayai penelitian ini melalui dana DIPA UNAND penelitian dosen muda atas nama M. Idris tahun 2011 No. 001/UN.16/PL/DM/III/2011.

Daftar Pustaka

- Azwir, I., Z. Siregar, dan Supriyanto. Penggunaan BAP dan TDZ untuk Perbanyak Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Media Konservasi* XI. (3) : 98-104.
- Chakraborti, S. P., S. M. H. Qadri, K. Vijayan dan B. N. Roy. 1998. *In Vitro* Induction of Tetraploidy in Mulberry (*Morus alba* L). *Plant Cell Report* 17 : 799-803.
- Darmansyah.1993. *Respon Pertumbuhan Potongan Daun Andalas (Morus macroura. Miq) dengan Penambahan IAA dan Kinetin pada Medium*

- Murashige-Skoog*. [Skripsi].
Universitas Andalas. Padang.
- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegenetic Limited. England.
- Husain, M. K., M. Anis dan A. Shahzad. 2007. *In Vitro* Propagation of Indian Kino (*Pterocarpus masupium* Roxb.) Using Thidiazuron. *In Vitro Cell.Dev.Bio. Plant* 43: 59-64.
- Lu, C.Y. 1993. The Use of Thidiazuron in Tissue Culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 29 : 92-96.
- Rostiana, O. 2007. Perbanyak Tanaman Anis (*Pimpinella anisum* l.) secara *In Vitro*. *Bul. Littro*. XVIII (2) : 117 – 126.
- Thomas, T. D., A. K. Bhatnagar, and S. S. Bhojwani. 2000. Production of Triploid Plants of Mulberry (*Morus alba* L) by Endosperm Culture. *Plant Cell Reports* 19 : 395-399.
- Swanson, C. P. 1957. *Cytology and Cytogenetics*. Prentice Hall. New Jersey.
- Syahid, S. F., dan N. V. Kristina. 2008. Multiplikasi Tunas, Aklimatisasi dan Analisis Mutu Simplisia Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L) Asal Kultur *In Vitro* Periode Panjang. *Bul. Littro*. XIX (2) : 117-128.
- Tewari, A., S. Bhatnagar and P. Khurana. 1999. *In Vitro* Response of Commercially Valuable Cultivars of *Morus* Species to Thidiazuron and Activated Charcoal. *Plant Biotechnology* 16 (5) : 413-417.
- Tiwari, V., K. N. Tiwari and B. D. Singh. 2001. Comparative Studies of Cytokinin on *In Vitro* Propagation of *Bacopa Monniera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 66 : 9-16.
- Wiendi, N. M., G. A. Wattimena dan L. V. Gunawan. 1991. *Perbanyak Tanaman. Bioteknologi Tanaman I*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor.