

Response of Shoot Growth of *Pterocarpus indicus* willd. to The Addition of BAP and TDZ *In Vitro*

Atika Sari Nofitria¹, Violita Violita¹, Linda Novita^{2*}, Irni Furnawanthi Hindaningrum², Mardoni Elya², & Roni Kartiman²

¹Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;

²Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset Inovasi dan Nasional, Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan, Indonesia;

Article History

Received : April 25th, 2024

Revised : May 01th, 2024

Accepted : May 13th, 2024

*Corresponding Author:

Linda Novita, Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset Inovasi dan Nasional, Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan, Indonesia;

Email: lind003@brin.go.id

Abstract: *Pterocarpus indicus* Willd. also known as redwood is a native Philippine species belonging to the Fabaceae family that has many uses and high economic value and highly exploited. However, it is not accompanied by good regeneration which causes this species to be categorized as endangered (IUCN v. 2021-1). The in vitro technique is an alternative to overcome this problem. This study aims to determine the response of *P. indicus* Willd. shoot growth to the addition of BAP and TDZ in vitro. The research was conducted from August to December 2023, at the Biotechnology Laboratory, KST BJ. Habibie Puspiptek Serpong, South Tangerang, Banten. This study used a completely randomized design (CRD) consisting of 9 treatments and 14 replications. The treatments consisted of: R0 = Control, R1 = BAP 0,25 ppm, R2 = BAP 0,5 ppm, R3 = BAP 0,75 ppm, R4 = BAP 1 ppm, R5 = TDZ 0,25 ppm, R6 = TDZ 0,5 ppm, R7 = TDZ 0,75 ppm, R8 = TDZ 1 ppm. The results showed that the concentration of BAP 0,5 ppm gave the best results in height of shoot and TDZ 0,25 ppm gave optimum results in the number of shoots compared to the control and other treatment concentrations.

Keywords: BAP, in vitro, *Pterocarpus indicus* Willd, TDZ.

Pendahuluan

Hutan Indonesia memiliki berbagai macam spesies pepohonan, salah satunya yaitu kayu merah (*Pterocarpus indicus* Willd.). *Pterocarpus indicus* Willd. disebut juga dengan kayu merah merupakan spesies asli Filipina yang termasuk dalam famili Fabaceae. Spesies ini dikenal karena kayu yang dihasilkan bersifat keras dan merupakan spesies yang menjanjikan untuk reboisasi karena kemampuannya mengikat nitrogen, sehingga menjadi salah satu spesies yang direkomendasikan untuk program penghijauan nasional (Manipol *et al.*, 2020).

Pterocarpus indicus Willd. memiliki nilai ekonomi dan banyak kegunaan tinggi antara lain untuk furnitur, lantai, pewarna alami kain batik dan bahan dasar pembuatan alat musik. *P. indicus* Willd. ini dapat juga digunakan dalam sistem agroforestri dan pohon peneduh untuk

espresso dan jenis lainnya. Selanjutnya *P. indicus* Willd. Selain itu, digunakan sebagai obat untuk mengobati alergi dan diabetes (Yuskianti *et al.*, 2019).

P. indicus Willd. dengan manfaat yang banyak ini menjadikan *P. indicus* Willd. dieksploitasi cukup tinggi oleh masyarakat. Namun hal ini tidak diiringi dengan kemampuan regenerasi yang baik, sehingga mengakibatkan penurunan populasi (Sulistiyawati & Widyatmoko, 2017). Hal ini telah terjadi selama bertahun-tahun karena penebangan yang tidak selektif dan hilangnya habitat secara keseluruhan. Oleh karena itu, spesies ini dikategorikan dalam kategori terancam punah (IUCN v. 2021-1) dan dikategorikan sebagai sangat terancam punah dalam daftar merah tumbuhan nasional Filipina (Capilitan *et al.*, 2022). Berdasarkan hal tersebut upaya

perlindungan *P. indicus* Willd. menjadi hal yang mendesak dilakukan (Yuliah *et al.*, 2020).

Daya berkecambah *Pterocarpus indicus* Willd. rendah karena mempunyai sifat dormansi kulit benih yang keras (Manurung *et al.*, 2021). Kondisi ini memperparah permasalahan kepunahan tanaman *P. indicus* Willd. Metode regenerasi konvensional seperti pencangkakan dan pemotongan akar sudah banyak dilakukan, namun belum menunjukkan hasil yang baik (Chakraborty *et al.*, 2023). Teknik *in vitro* menjadi alternatif untuk mengatasi masalah tersebut. Kultur jaringan atau kultur *in vitro* adalah kegiatan mengisolasi bagian tumbuhan (protoplas, jaringan, sel, dan organ) kemudian dibiakkan pada media buatan yang steril dan dalam kondisi lingkungan terkendali dikenal. Hal ini memungkinkan bagian tanaman tersebut beregenerasi menjadi tanaman utuh (Oktavianus *et al.*, 2021).

Proses ini sangat penting untuk tanaman berkayu yang sulit diperbanyak melalui metode konvensional. Selanjutnya, metode ini digunakan untuk melindungi dan melestarikan banyak spesies tumbuhan berharga dan terancam punah di seluruh dunia, sebagaimana dibuktikan dari sejumlah besar publikasi penelitian yang menekankan peran dan aplikasinya (Chakraborty *et al.*, 2022). Syarat yang harus dipenuhi adalah pemilihan media kultur yang sesuai untuk kultur *in vitro*. Media MS (*Murashige dan Skoog*) salah satu media yang sering digunakan untuk perbanyakan tanaman (Defiani *et al.*, 2020). Sedangkan media WPM (*Woody Plant Medium*) yang diciptakan oleh Lloyd dan Mc Cown pada tahun 1981 merupakan media dengan fiksasi partikel yang rendah, namun sulfat yang digunakan lebih tinggi dibandingkan sulfat pada media lain. Saat ini WPM banyak digunakan untuk perbanyakan pohon dan semak. (Nurwardani, 2008).

Pemberian media tanam saja belumlah cukup untuk bisa menumbuhkan eksplan tanaman. Eksplan tanaman terbaik didapatkan dengan media kultur harus mengandung sejumlah bahan antara lain vitamin, asam amino, dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Gugus sitokinin salah satu ZPT yang berperan penting dalam memaksimalkan pertumbuhan eksplan. Kelompok sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah Benzyl Amino Purine (BAP) dan Thidiazuron (TDZ). Bila

digunakan dalam jumlah yang tepat, BAP sangat efektif merangsang perbanyakan tunas karena berperan aktif dalam organogenesis alami bila ditambahkan pada media perbanyakan *in vitro*. Pengontrol pengembangan BAP adalah kelas sitokinin yang dapat memperkuat dan memulai tunas. Jenis dan pengelompokan sitokinin ini berubah sesuai dengan spesies tumbuhan (Sagai *et al.*, 2016).

Thidiazuron (TDZ) adalah sitokinin jenis fenil urea yang direkayasa mempunyai kapasitas lebih disukai untuk memulai tunas dibandingkan sitokinin yang berbeda (Prasiwi & Wardiyati, 2018). Penambahan TDZ pada media nutrisi meningkatkan proses pembentukan tunas dengan menyeimbangkan dengan auksin yang diproduksi secara internal oleh eksplan, yang berperan langsung dalam merangsang pembelahan sel yang berkontribusi terhadap pembentukan tunas (Al-Jalihawi *et al.*, 2023). Mengacu pada permasalahan diatas, maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui respon pertumbuhan tunas *P. indicus* Willd. terhadap penambahan BAP dan TDZ secara *in vitro*.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian berlangsung dari Agustus 2023 - Desember 2023, di Laboratorium Bioteknologi, KST BJ. Habibie Puspipetek Serpong, Tangerang Selatan, Banten.

Alat dan bahan

Alat penelitian adalah gelas ukur, gunting tanaman, timbangan digital, *beaker glass*, pH meter, *microwave*, *hotplate stirrer*, *magnetic stirrer*, *shaker*, petridish, tabung dan rak tabung reaksi, autoklaf, mikropipet, tip, scapel, *timer*, *laminar air flow (LAF)*, pinset, bunsen, *hand sprayer*, tisu steril, dan plastik *wrapping*. Bahan penelitian adalah eksplan tunas muda dari tanaman *Pterocarpus indicus* Willd., larutan stok media WPM, sukrosa, myo-inositol, gelzane, bakterisida (agrept), fungisida (antracol, masalgin), asam sitrat, tween 80%, detergen/sunlight, air steril, clorox dan alkohol.

Metode penelitian

Metode penelitian digunakan rancangan acak lengkap (RAL) terbagi menjadi 9 perlakuan

dan 14 kali ulangan. Terdiri dari 126 satuan percobaan. Setiap percobaan terdapat 1 eksplan. Dimana perlakuan terdiri dari: (a) R0 = Tanpa BAP & TDZ (Kontrol), (b) R1 = BAP 0,25 ppm, (c) R2 = BAP 0,5 ppm, (d) R3 = BAP 0,75 ppm, (e) R4 = BAP 1.0 ppm, (f) R5 = TDZ 0,25 ppm, (g) R6 = TDZ 0,5 ppm, (h) R7 = TDZ 0,75 ppm, (i) R8 = TDZ 1.0 ppm

Kegiatan pengamatan dilaksanakan tiap minggu selama 12 minggu setelah tanam (MST). Parameter pengamatan meliputi: warna eksplan, persentase eksplan yang terkontaminasi (%), persentase eksplan membentuk tunas (%), jumlah tunas per eksplan (buah), waktu terbentuk tunas (minggu), dan tinggi tunas per eksplan (cm). Persentase eksplan terkontaminasi dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$\text{Persentase terkontam (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan terkontaminasi}}{\text{Jumlah eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \% \quad (1)$$

Persentase eksplan membentuk tunas dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 2.

$$\text{Persentase tunas (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan membentuk tunas}}{\text{Jumlah eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \% \quad (2)$$

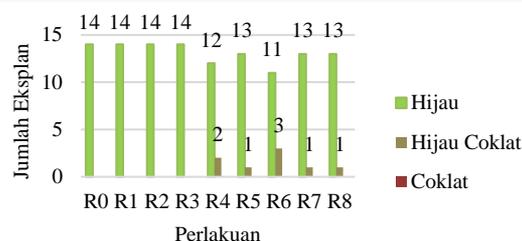
Analisis data

Data dianalisis menggunakan uji *Analisis of Varians* (ANOVA) dan apabila ada perbedaan nyata maka dilanjutkan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) taraf nyata 5%.

Hasil dan Pembahasan

Warna eksplan

Warna eksplan terbentuk diamati pada akhir pengamatan umur 12 minggu setelah tanam (MST). Hasil pengamatan terhadap warna eksplan menunjukkan warna eksplan relatif bewarna hijau dan dapat dikatakan hampir setiap perlakuan eksplan bewarna hijau (Gambar 1). Tidak ada eksplan yang bewarna coklat dalam pengamatan penelitian ini, namun terdapat eksplan yang bewarna hijau coklat. Dimana pada perlakuan R4, R5, R6, R7, dan R8 secara berturut-turut jumlahnya yaitu, 2, 1, 3, 1, dan 1.

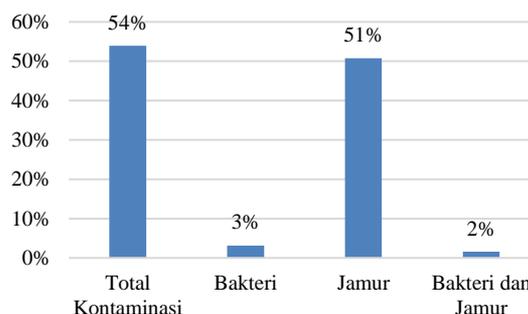


Gambar 1. Warna eksplan selama 12 MST

Keterangan: R0 : Kontrol, R1 : 0,25 ppm BAP, R2 : 0,5 ppm BAP, R3 : 0,75 ppm BAP, R4 : 1 ppm BAP, R5 : 0,25 ppm TDZ, R6 : 0,5 ppm TDZ, R7 : 0,75 ppm TDZ, R8 : 0.10 ppm TDZ

Persentase eksplan terkontaminasi (%)

Eksplan terkontaminasi dengan asumsi terdapat parasit atau mikroorganisme di dalam eksplan atau media kultur. Hasil pengamatan selama 12 MST, didapatkan persentase eksplan secara keseluruhan yang terkontaminasi seperti pada (Gambar 2.). Hasil pengamatan menunjukkan total eksplan mengalami kontaminasi yaitu 54% dari 126 total eksplan yang dikultur. Eksplan yang terkontaminasi oleh jamur menunjukkan hasil yang paling tinggi yaitu sebesar 51%, kontaminasi oleh bakteri terjadi sebesar 3%, sedangkan kontaminasi oleh fungi dan bakteri sebesar 2%.

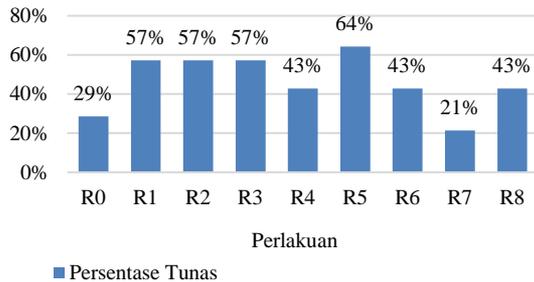


Gambar 2. Persentase eksplan terkontaminasi selama 12 MST

Persentase eksplan membentuk tunas (%)

Munculnya tunas baru pada ruas batang menandai kriteria pembentukan tunas pada eksplan yang berkecambah setelah pengamatan 12 minggu. Tingkat eksplan yang struktur tunasnya seharusnya terlihat pada gambar 3. Persentase eksplan membentuk tunas pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa persentase tertinggi pada perlakuan R5 yaitu sebesar 64%, kemudian persentase tunas

tertinggi selanjutnya yaitu pada perlakuan R1, R2, dan R3 sebesar 57%. Persentase eksplan membentuk tunas terendah pada perlakuan R7 sebesar 21 % dan perlakuan R0 sebesar 29 %.



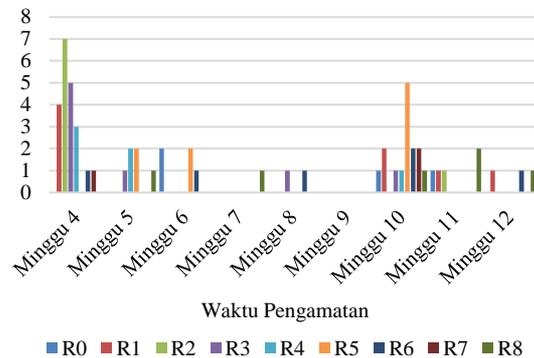
Gambar 3. Persentase eksplan membentuk tunas selama 12 MST

Keterangan: R0 : Kontrol, R1: 0,25 ppm BAP, R2 : 0,5 ppm BAP, R3 : 0,75 ppm BAP, R4 : 1 ppm BAP, R5 : 0,25 ppm TDZ, R6 : 0,5 ppm TDZ, R7 : 0,75 ppm TDZ, R8 : 0.10 ppm TDZ

Waktu terbentuk tunas (buah)

Parameter waktu terbentuknya tunas pertama kali diamati setiap minggu pengamatan. Waktu terbentuknya tunas pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa waktu tercepat terbentuknya tunas yaitu pada 4 MST (Gambar 4). Data pada gambar 4 menunjukkan pemberian TDZ dan BAP pada konsentrasi yang berbeda-beda ke dalam media pada setiap perlakuan menunjukkan tidak adanya pengaruh terhadap waktu terbentuknya tunas. Waktu terbentuknya tunas pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa waktu tercepat terbentuknya tunas pada

perlakuan R1, R2, R3, R4, R6, dan R7 yaitu pada 4 MST, sedangkan waktu terbentuknya tunas yang relatif lambat pada perlakuan R0 yaitu pada 6 MST.



Gambar 4. Waktu keluar tunas pertama per-perlakuan

Keterangan: R0 : Kontrol, R1: 0,25 ppm BAP, R2 : 0,5 ppm BAP, R3 : 0,75 ppm BAP, R4 : 1 ppm BAP, R5 : 0,25 ppm TDZ, R6 : 0,5 ppm TDZ, R7 : 0,75 ppm TDZ, R8 : 0.10 ppm TDZ

Jumlah Tunas Per Eksplan (buah)

Pengukuran jumlah tunas dilakukan setiap minggu selama 12 MST. Hasil analisis annova menunjukkan eksplan dikultur pada media WPM dengan penambahan BAP beberapa konsentrasi dan TDZ beberapa konsentrasi berpengaruh pada jumlah tunas yang dihasilkan pada 4 dan 5 MST, namun tidak berpengaruh pada umur 6 sampai 12 MST. Tabel 1 menampilkan rata-rata jumlah tunas yang terkena uji Duncan dan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP atau TDZ.

Tabel 1. Rerata jumlah tunas *Pterocarpus indicus* willd. pada berbagai konsentrasi BAP dan TDZ beserta notasi hasil Uji Lanjut Duncan pada taraf 5% secara *in vitro*

Perlakuan	Rerata Jumlah Tunas Perminggu (Buah)									
	4 MST	5 MST	6 MST	7 MST	8 MST	9 MST	10 MST	11 MST	12 MST	
R0 (Kontrol)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,21 ^a	0,29 ^a	0,29 ^a	
R1 0,25 ppm BAP	0,29 ^{abc}	0,29 ^{abcd}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,43 ^{ab}	0,50 ^a	0,57 ^a	
R2 0,5 ppm BAP	0,50 ^c	0,50 ^d	0,50 ^b	0,50 ^b	0,50 ^b	0,50 ^b	0,50 ^{ab}	0,57 ^a	0,57 ^a	
R3 0,75 ppm BAP	0,36 ^{bc}	0,43 ^{cd}	0,43 ^{ab}	0,43 ^{ab}	0,50 ^b	0,50 ^b	0,57 ^{ab}	0,57 ^a	0,57 ^a	
R4 1 ppm BAP	0,21 ^{ab}	0,36 ^{bcd}	0,36 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,43 ^{ab}	0,43 ^a	0,43 ^a	
R5 0,25 ppm TDZ	0,00 ^a	0,14 ^{abc}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,64 ^b	0,64 ^a	0,64 ^a	

R6 0,5 ppm TDZ	0,07 ^{ab}	0,07 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,21 ^{ab}	0,21 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,36 ^a	0,43 ^a
R7 0,75 ppm TDZ	0,07 ^{ab}	0,07 ^{ab}	0,07 ^a	0,07 ^a	0,07 ^a	0,07 ^a	0,21 ^a	0,21 ^a	0,21 ^a
R8 1 ppm TDZ	0,00 ^a	0,07 ^{ab}	0,07 ^a	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,21 ^a	0,36 ^a	0,36 ^a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf 5%. MST = Minggu Setelah Tanam

Hasil penelitian menunjukkan semua perlakuan mampu menghasilkan eksplan bertunas, namun tidak semua ulangan dari setiap perlakuan menghasilkan eksplan bertunas. Jumlah tunas planlet *P. indicus* Willd. selama 12 MST, eksplan diberi perlakuan zat pengontrol pertumbuhan TDZ 0,25 ppm (R5) memberikan reaksi terbaik dalam pendaftaran tunas dan memberikan rata-rata jumlah tunas tertinggi 0,64 tunas, sedangkan jumlah rata-rata tunas paling sedikit pada perlakuan TDZ 0,75 ppm (R7) sebanyak 0,21 tunas dan perlakuan kontrol (R1) sebanyak 0,29 tunas.

Perlakuan BAP 0,25 ppm (R1), BAP 0,5 ppm (R2), dan BAP 0,75 ppm (R3) menunjukkan jumlah tunas yang sama sebanyak 0,57 tunas. Perlakuan BAP 1 ppm (R4) dan TDZ 0,5 ppm juga menunjukkan jumlah tunas yang sama yaitu

sebanyak 0,43 tunas. Sementara itu, pada perlakuan TDZ 1 ppm menghasilkan rata-rata jumlah tunas sebanyak 0,36 tunas.

Tinggi Tunas Per Eksplan (Cm)

Pengukuran tinggi tunas dari pangkal tunas selama 12 minggu setelah tanam (MST) yang diukur menggunakan penggaris melalui luar botol. Hasil analisis Anova menunjukkan eksplan dikultur pada media WPM dengan penambahan BAP beberapa konsentrasi dan TDZ beberapa konsentrasi berpengaruh nyata pada tinggi tunas yang dihasilkan pada 4 sampai 11 MST, namun tidak berbeda nyata pada 12 MST. Tabel 2 menampilkan pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP atau TDZ terhadap rata-rata tinggi tunas serta hasil uji Duncan.

Tabel 2. Rerata jumlah tunas *Pterocarpus indicus* willd. pada berbagai konsentrasi BAP dan TDZ beserta notasi hasil Uji Lanjut Duncan pada taraf 5% secara *in vitro*

Perlakuan	Rerata Tinggi Tunas Perminggu (Cm)									
	4 MST	5 MST	6 MST	7 MST	8 MST	9 MST	10 MST	11 MST	12 MST	
R0 (Kontrol)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,01 ^a	0,02 ^{ab}	0,04 ^a	0,06 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,10 ^{ab}	0,16 ^{ab}	
R1 0,25 ppm BAP	0,03 ^{abc}	0,04 ^{ab}	0,06 ^a	0,07 ^{abcd}	0,08 ^{ab}	0,10 ^{ab}	0,19 ^{abc}	0,20 ^{abc}	0,24 ^{ab}	
R2 0,5 ppm BAP	0,05 ^c	0,11 ^c	0,18 ^b	0,19 ^d	0,26 ^c	0,28 ^c	0,32 ^c	0,34 ^c	0,37 ^b	
R3 0,75 ppm BAP	0,04 ^{bc}	0,09 ^{bc}	0,12 ^{ab}	0,16 ^{cd}	0,21 ^{bc}	0,22 ^{bc}	0,26 ^{bc}	0,27 ^{bc}	0,28 ^{ab}	
R4 1 ppm BAP	0,02 ^{ab}	0,09 ^{bc}	0,12 ^{ab}	0,15 ^{bcd}	0,18 ^{abc}	0,18 ^{abc}	0,20 ^{abc}	0,24 ^{abc}	0,24 ^{ab}	
R5 0,25 ppm TDZ	0,00 ^a	0,01 ^{ab}	0,03 ^a	0,04 ^{abc}	0,06 ^{ab}	0,07 ^{ab}	0,14 ^{abc}	0,19 ^{abc}	0,21 ^{ab}	
R6 0,5 ppm TDZ	0,01 ^{ab}	0,01 ^{ab}	0,03 ^a	0,04 ^{abc}	0,07 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,13 ^{abc}	0,13 ^{abc}	0,14 ^a	
R7 0,75 ppm TDZ	0,01 ^{ab}	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,04 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	
R8 1 ppm TDZ	0,00 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,02 ^{ab}	0,02 ^a	0,02 ^a	0,06 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,11 ^a	

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf 5%. MST = Minggu Setelah Tanam

Dampak sebenarnya mulai terlihat pada eksplan berumur 4 MST, dimana obat BAP 0,5 ppm dan BAP 0,75 ppm memberikan efek yang

lebih baik dibandingkan perlakuan lain, sedangkan eksplan berumur 12 MST tidak menunjukkan hasil yang jauh berbeda. Hal ini

diyakini karena perluasan titik api sudah mulai terhenti. Hasil pengamatan menunjukkan tingkat tunas *P. indicus* Willd. untuk 12 MST yang diberi perlakuan dengan pengontrol pengembangan BAP 0,5 ppm (R2) memberikan reaksi terbaik dalam penerimaan tunas dan memberikan peningkatan tipikal tunas paling tinggi yaitu 0,37cm, sedangkan tingkat tipikal tunas paling rendah terdapat pada perlakuan TDZ 0, 0,75 ppm (R7), TDZ 1 ppm (R8) dan TDZ 0,5 ppm, terpisah 0,05cm, 0,10cm dan 0,14cm.

Hasil ini menunjukkan rata-rata tinggi tunas pada perlakuan lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol (R0) sebesar 0,16cm. Perlakuan yang diberi zat pengatur tumbuh TDZ menunjukkan hasil paling baik pada TDZ 0,25 ppm (R5) menghasilkan rata-rata jumlah tunas sebesar 0.21 cm. Perlakuan yang diberi zat pengatur tumbuh BAP menunjukkan hasil BAP 0,25 ppm (R1) dan BAP 1 ppm (R4) menghasilkan rata-rata tinggi tunas yang sama sebesar 0.24cm. Sementara itu, perlakuan BAP 0,75 ppm (R3) memberikan rata-rata tinggi tunas tertinggi kedua setelah BAP 0,5 ppm (R2), yaitu sebesar 0.28cm.

Pembahasan

Warna eksplan

Bahan sterilisasi yang digunakan ketika mengkulturkan suatu tanaman dapat mempengaruhi terhadap warna eksplan. Konsentrasi dari bahan sterilan dapat mempengaruhi warna eksplan. Eksplan yang semula bewarna hijau akan tetap hijau jika bahan sterilan yang digunakan cocok bagi jenis eksplan dan tanaman tersebut, sehingga konsentrasi dari bahan sterilisasi yang digunakan tidak membuat eksplan menjadi rusak.

Perubahan warna yang terjadi pada eksplan dapat dipengaruhi oleh kondisi eksplan saat sebelum dipreparasi atau terkena bahan sterililan seperti clorox dan alkohol. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, eksplan yang terlalu muda atau bagian pucuk lebih rentan menjadi cokelat ketika diberi bahan sterililan dengan konsentrasi yang tinggi. Oleh karena itu, konsentrasi bahan sterililan, bagian eksplan yang digunakan juga sangat berpengaruh terhadap warna eksplan.

Persentase Eksplan Terkontaminasi (%)

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya kontaminasi. Kondisi lingkungan budaya terganggu oleh masuknya bahan pencemar baik jamur maupun bakteri disebut dengan kontaminasi. Organisme dan mikroba masuk dalam iklim kehidupan berasal dari berbagai sumber, salah satunya adalah eksplan tumbuhan itu sendiri (Abdullah *et al.*, 2022). Adanya kontaminasi dapat disebabkan oleh kesterilan alat dan bahan yang digunakan, serta kondisi eksplan. Hal ini seperti yang dijelaskan Andriani & Heriansyah, (2021), bahwa polutan pada kultur jaringan dipengaruhi beberapa faktor seperti kerapuhan perangkat keras, bahan dan eksplan digunakan, perbedaan pengotor parasit pada beberapa masyarakat, disebabkan jenis eksplan yang berbeda.

Kultur eksplan *P. indicus* Willd., persentase kontaminasi tertinggi disebabkan jamur sebesar 51%. Penelitian Wulandari *et al.*, (2017), pencemaran terbesar pada masyarakat eksplan Saninten disebabkan parasit. Hal ini dapat disebabkan adanya zat asing yang berasal dari dalam jaringan tanaman itu sendiri, sehingga tidak dapat dikeluarkan hanya dengan pembersihan permukaan saja. Kemudian, berdasarkan observasi lapangan terhadap eksplan yang terkontaminasi jamur, ditemukan adanya miselia serat putih yang menutupi eksplan dan cepat menyebar dalam waktu beberapa minggu dan kontaminasi bakteri selaput lendir berwarna putih hingga kecoklatan tua yang biasanya mengakibatkan kematian eksplan dalam waktu singkat. Suhu juga menjadi faktor kontaminasi pada kultur jaringan. Kultur jaringan dapat terkontaminasi oleh media dan eksplan yang kurang steril, serta faktor lingkungan lainnya seperti suhu (Hasna *et al.*, 2022). Suhu pendingin ruangan (AC) juga dipengaruhi oleh besar kecilnya ruangan; semakin luas ruangan, semakin tinggi suhunya. Ini adalah elemen yang memungkinkan mikroorganisme mengisi botol kultur.

Persentase Eksplan Membentuk Tunas (%)

Persentase eksplan membentuk tunas memperlihatkan seberapa besar suatu eksplan tanaman dalam merespon pada media tanam yang dikulturkan. Persentase yang tinggi pada suatu perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut adalah yang terbaik untuk pembentukan

tunas suatu eksplan. Jumlah tunas yang terbentuk merupakan salah satu dasar utama jumlah planlet yang dihasilkan. Semua eksplan yang diolah dalam berbagai obat dapat membentuk tunas, namun dalam jumlah bervariasi pada setiap perlakuan. Hal ini diduga karena pemberian zat pengatur tumbuh serta konsentrasi yang berbeda pada setiap perlakuan. Hasil penelitian ini diketahui perlakuan TDZ 0,75 ppm (R7) persentase tunas yang terbentuk hanya 21%, yang berarti persentase ini lebih kecil daripada perlakuan kontrol (R0) yaitu sebesar 29%.

Perlakuan R0 mampu membentuk eksplan bertunas lebih banyak daripada perlakuan R7. Diduga karena adanya hormon endogen dalam eksplan yang menyebabkan eksplan tumbuh lebih cepat (Karyaningtyas *et al.*, 2023). Ketersediaan unsur nutrisi dalam media dan interaksi antara sitokinin eksogen yang ditambahkan pada media (Nursyamsi *et al.*, 2007) dan eksplan berkaitan dengan fakta eksplan yang bertunas lebih cepat mempunyai pertumbuhan lebih baik dan memerlukan perawatan yang lebih sedikit (Nurmaningrum *et al.*, 2017).

Waktu terbentuk tunas (buah)

Waktu perkembangan tunas salah satu unsur yang dapat menentukan hasil perkembangbiakan tanaman dalam kultur jaringan. Semakin cepat struktur tunas, semakin cepat pula tanaman sebenarnya tumbuh kembali. Diduga sitokinin endogen pada eksplan bertanggung jawab merangsang pembentukan tunas karena sitokinin eksogen yang ditambahkan pada media belum berinteraksi dengan eksplan. Pada umur 6 MST, tunas terpanjang dihasilkan oleh eksplan yang dikultur pada media tanpa pemberian sitokinin BAP atau TDZ. Perkembangan tunas pada perlakuan kontrol (R0) disebabkan oleh normalnya sitokinin yang terdapat pada eksplan tanaman. Hal ini sebagaimana diungkapkan (George dan Sherrington, 1984 dalam Nurmaningrum *et al.*, 2017), bahwa eksplan mengandung sitokinin alami dapat menghidupkan eksplan untuk membingkai tunas.

Jumlah Tunas Per Eksplan (buah)

Jumlah tunas yang terbentuk menunjukkan hasil multiplikasi tunas. Menghitung jumlah

tunas yang tumbuh pada setiap eksplan merupakan salah satu cara untuk memperhatikan jumlah tunas. Tunas terbentuk jika terdapat tonjolan pada ujung eksplan atau pada ketiak daun. Jumlah tunas yang berbeda diyakini dipengaruhi oleh kemampuan eksplan dalam menyerap nutrisi dalam media dan kontrol pertumbuhan yang diberikan. Faktor endogen eksplan itu sendiri diduga berperan penting dalam rendahnya pertumbuhan eksplan pembentuk tunas (Ngomuo *et al.*, 2013). Selain itu, terdapat pula tugas pengontrol pengembangan jika kondisi fisiologis eksplan dalam kondisi prima. Pemberian sitokinin BAP dan TDZ dapat menjiwai perkembangan kuantitas tunas. BAP berperan dalam merangsang pembelahan sel dan pemisahan sel, dan TDZ berperan dalam mendorong pembentukan dan pengumpulan sitokinin pada sel meristematis (Sadik *et al.*, 2007).

Jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan TDZ 0,25 ppm (R5). Artinya ada perbandingan perlakuan lainnya, TDZ pada konsentrasi rendah mampu menghasilkan tunas paling banyak. Thidiazuron berbeda dengan zat pengatur tumbuh lainnya, ia bekerja paling baik jika dalam konsentrasi rendah, namun jika konsentrasi tinggi dapat merusak jaringan dan mempersulit benih berkecambah (Lestari, 2015). Namun, dalam penelitian ini perlakuan TDZ 0,75 ppm (R7) menghasilkan tunas normal paling rendah dibandingkan dengan obat lain, artinya perlakuan kontrol (R0) dan perlakuan TDZ 1 ppm menghasilkan jumlah tunas lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh ketersediaan hormon dan nutrisi pada perlakuan tersebut sudah berkurang, sehingga pembentukan tunas baru menjadi terhenti dan terhambat.

Perlakuan BAP 0,25 ppm (R1), BAP 0,5 ppm (R2), BAP 0,75 ppm (R3) menunjukkan rata-rata jumlah tunas yang sama, sedangkan pada BAP 1 ppm menghasilkan rata-rata jumlah tunas lebih sedikit. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi hormon yang diberikan efektif pada jumlah tertentu. Berbagai hasil diperoleh dalam penelitian Herawan dan Ismail (2009) bahwa pemberian BAP 3 ppm memberikan reaksi terbaik terhadap perkembangan kuantitas pucuk sengon. Hasil berbeda juga diperoleh pada penelitian Syatria *et al.*, (2019) bahwa pemberian BAP sebesar 1 ppm memberikan rata-rata tunas terbaik.

Kemungkinan bahwa setiap jenis tanaman memberikan respon yang berbeda terhadap ZPT, meskipun terdapat perbedaan pada jenis eksplan atau bagian yang digunakan (Milah *et al.*, 2023; Syatria *et al.*, 2019).

Tinggi Tunas Per Eksplan (Cm)

Peningkatan tingkat tunas pada eksplan menunjukkan potensi morfogenesis dan kemampuan eksplan dalam menyesuaikan diri dengan iklim dan batasan perkembangan eksplan. Pertambahan tinggi tunas setiap minggunya menunjukkan bahwa hormon dan unsur hara yang terkandung pada eksplan masih tersedia dengan cukup. Namun ketika pertambahan tunas tidak bertambah, menandakan bahwa pertambahan tinggi tunas telah terhenti. Berdasarkan pengalaman, eksplan yang pertumbuhannya telah mengalami stasioner atau terhenti, perlu dilakukan sub kultur atau pemindahan eksplan ke dalam media pertumbuhan baru agar nutrisinya kembali terpenuhi dan hormon yang diberikan dapat merangsang kembali pertambahan tinggi tunas.

Perlakuan BAP 0,5 ppm, pada eksplan *P. indicus* menghasilkan rata-rata respon tinggi tunas (R2) yang terbaik. Sementara itu, pada perlakuan TDZ, rata-rata tinggi tunas yang paling menonjol adalah 0,25 ppm pada perlakuan TDZ. Sejalan dengan Azwin (2016) memperlihatkan planlet gaharu diberi perlakuan BAP 0,5 ppm atau TDZ 0,25 ppm menghasilkan panjang tunas normal terbaik. Penelitian Nursyamsi *et al.*, (2007) juga menemukan bahwa hasil terbaik untuk pertumbuhan tinggi tunas pada planlet jati diperoleh pada konsentrasi 0,5 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa tanaman berkayu tumbuh subur bila diberikan BAP pada konsentrasi 0,5 ppm. Pemanfaatan BAP pada fiksasi sangat berguna dalam menstimulasi augmentasi tunas karena perluasan BAP pada media pembenihan *in vitro* berperan penting pada organogenesis normal, namun jenis dan fokusnya bergantung pada jenis tanaman (Sagai *et al.*, 2016).

Rata-rata tipikal tunas yang paling minimal, selain pada perlakuan kontrol (R0), juga terjadi pada perlakuan TDZ dengan fiksasi lebih tinggi. Hal ini karena penggunaan TDZ yang sentralisasinya lebih tinggi dapat menekan perluasan tunas dan dapat menghasilkan tunas

yang aneh (Bella *et al.*, 2016). Perlakuan BAP yang lebih tinggi, rata-rata tingkat tunas juga lebih rendah. Sejalan dengan Nuraini *et al.*, (2022), fiksasi BAP yang tinggi menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme pada jaringan sehingga panjang tanaman terhambat.

Kesimpulan

Respon pertumbuhan tunas *P. Indicus* Wild. Terhadap penambahan BAP dan TDZ secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa penambahan BAP atau TDZ beberapa konsentrasi pada media WPM berpengaruh terhadap respon tunas *Pterocarpus indicus* Willd. Konsentrasi BAP 0,5 ppm memberikan hasil terbaik dalam rata-rata jumlah tunas dan TDZ 0,25 ppm memberikan hasil yang optimum dalam rata-rata jumlah tunas dibandingkan kontrol dan konsentrasi perlakuan lain.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti ucapkan terimakasih pada Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang, Pusat Riset Botani Terapan – Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, serta Laboratorium Bioteknologi Badan Riset Inovasi dan Nasional atas izin untuk kegiatan penelitian ini.

Referensi

- Abdullah, A. R., Nurokhman, A., Rahayu, S. C., Metalisa, E., & Novitasari, L. (2022). Faktor Kontaminasi Kultur Jaringan Pada Eksplan Biji Duku (*Lansium domesticum* Corr) Menggunakan Media Murashige and Skoog. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi, 2011*, 136–141. <https://proceedings.radenfatah.ac.id/index.php/semnaspbio/article/view/695>
- Al-Jalihawi, W. F. H., Ali, T. J. M., & Nayef, M. N. (2023). Comparative Study Between the Growth Regulators Benzyl Adenine (BAP) and Thydizoronate (TDZ) and Nano Iron in the Growth and Multiplication of Citrumelo Shoots *in Vitro*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1158*, 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/4/042051>

- Andriani, D., & Heriansyah, P. (2021). Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind .) Miq (Identification of Contaminant Fungi in Tissue Culture of Nature Orchid khas , sehingga menimbulkan relaksasi bagi kontaminan jenis. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 4(2), 192–199. <https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723>
- Azwin. (2016). Penggunaan BAP dan TDZ Untuk Perbanyak Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 13(1), 59–69. <https://doi.org/10.31849/jip.v13i1.976>
- Bella, D. R., Suminar, E., Nuraini, A., & Ismail, A. (2016). Pengujian Efektivitas Berbagai Jenis dan Konsentrasi Sitokinin Terhadap Multiplikasi Tunas Mikro Pisang (*Musa paradisiaca* L .) Secara In Vitro. *Jurnal Kultivasi*, 15(2), 74–80. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v15i2.11870>
- Capilitan, K. C., Maldia, L. S. J., Quimado, M. O., Tinio, C. E., & Combalicer, M. S. (2022). Developmental Morpho-Anatomy and Germination of The Seeds of *Pterocarpus indicus* f. *echinatus* Willd. Variants. *Biotropia*, 29(2), 124–133. <https://doi.org/10.11598/BTB.2022.29.2.1656>
- Chakraborty, T., Chaitanya, K. V., & Akhtar, N. (2022). Analysis of regeneration protocols for micropropagation of *Pterocarpus santalinus*. *Plant Biotechnology Reports*, 16(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00728-8>
- Chakraborty, T., Chaitanya, K. V., & Akhtar, N. (2023). Somatic Embryogenesis and Plantlet Regeneration in Red Sandalwood (*Pterocarpus santalinus*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 153(3), 547–558. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02491-w>
- Defiani, M. R., Astarini, I. A., Kriswiyanti, E., & Suriani, N. L. (2020). Perkembangan Bibit Aren (*Arenga pinnata* Merr) Yang Dikulturkan Pada Media MS dan WPM. *Simbiosis*, 8(1), 34–40. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/simbiosis>
- Hasna, A., Septiani, I., Kusmiyati, F., & Kristanto, B. A. (2022). Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Anti Kontaminan Dalam Pertumbuhan Kultur Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Varietas Tedjo MZ. *Agroteknika*, 5(1), 60–74. <https://doi.org/10.55043/agroteknika.v5i1.147>
- Herawan, T., & Ismail, B. (2009). Penggunaan Kombinasi Auksin dan Sitokinin Untuk Menginduksi Tunas Pada Kultur Jaringan Sengon (*Falcataria moluccana*) Menggunakan Bagian Kotiledon. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 3(1), 23–91. [10.20886/jpth.2009.3.1.23-32](https://doi.org/10.20886/jpth.2009.3.1.23-32)
- Karyaningtyas, A. W., Lestari, A., & Sandra, E. (2023). Pengaruh Beberapa Formulasi Sitokinin Terhadap Penyediaan Bibit dan Pertumbuhan Eksplan Tanaman Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) Secara In Vitro. *Jurnal Agroplasma*, 10(1), 237–251. <https://jurnal.ulb.ac.id/index.php/agro/article/view/3914/3243>
- Lestari, E. G. (2015). Peran Thidiazuron Dalam Peningkatan Kemampuan Proliferasi Tanaman Secara In Vitro. *Jurnal Litbang Pertanian*, 34(2), 87–93.
- Manipol, M. M., Tinio, C. E., Maldia, L. S. J., & Combalicer, M. S. (2020). Salinity-induced Changes in the Morphology, Physiology, and Anatomy of Seeds and Seedlings of Smooth Narra (*Pterocarpus indicus* willd. f. *indicus*). *Biodiversitas*, 21(11), 5146–5154. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211120>
- Manurung, M. A., Mardhiansyah, M., & Sribudiani, E. (2021). Pengaruh Lama Perendaman Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Semai Angsana (*Pterocarpus indicus* L.). *Jurnal Ilmu-Ilmu Kehutanan*, 5(1), 7. <https://doi.org/10.31258/jiik.5.1.7-11>
- Milah, S., Sugiyarto, L., Ratnawati, Aloysius, S., & Mercuriani, I. S. (2023). Optimasi Induksi Tunas Aksiler *Dendrobium nobile* Melalui Kombinasi 2-iP dan 2,4-D In Vitro. *AGROISTA : Jurnal Agroteknologi*, 7(1), 45–53. <https://doi.org/10.55180/agi.v7i1.613>
- Ngomuo, M., Mneney, E., & Ndakidemi, P.

- (2013). The Effects of Auxins and Cytokinin on Growth and Development of (Musa sp.) Var. “Yangambi” Explants in Tissue Culture. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 2174–2180.
- Nuraini, A., Aprilia, E., Murgayanti, & Wulandari, A. P. (2022). Pengaruh Konsentrasi Benzylaminopurine Terhadap Pertumbuhan Eksplan Tunas Aksilar Rami Klon Lokal Wonosobo secara In Vitro. *Jurnal Kultivasi*, 21(2), 166–172.
- Nurmaningrum, D., Nurchayati, Y., & Setiari, N. (2017). Mikropropagasi Tunas Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada Kombinasi Benzil amino purin (BAP) dan Thidiazuron (TDZ). *Jurnal Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 2(2), 211–217.
- Nursyamsi, Suhartati, & Qudus, A. (2007). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Pada Perbanyakan Jati Muna secara Kultur Jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam*, IV(4), 385–390.
- Nurwardani, P. (2008). *Teknik Pembibitan Tanaman dan Produksi Benih* (Issue July). Jakarta: Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan.
- Oktavianus, R., Nopsagiarti, T., & Andriani, D. (2021). Pengaruh ZPT (BAP, TDZ, 2 IP) Terhadap Pertumbuhan Globular Pisang Barangan (*Musa acuminata* L) Pada Media MS. *Jurnal Green Swarnadwipa*, 10(2), 252–259.
- Prasiwi, I. D., & Wardiyati, T. (2018). Pengaruh Pemberian Thidiazuron (TDZ) Terhadap Pertumbuhan Tunas Nanas (*Ananassa comosus* (L.) Merr.) cv. “Smooth Cayene” Asal Mahkota Buah. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(1), 9–15.
- Sadik, K., Rubaihayo, P. R., Magambo, M. J. S., & Pillay, M. (2007). *Generation of cell suspensions of East African highland bananas through scalps*. 6(June), 1352–1357.
- Sagai, E., Doodoh, B., & Kojoh, D. (2016). Pengatur Zat Pengatur Tumbuh Benzil Amino Purin (BAP) terhadap Induksi dan Multiplikasi Tunas Brokoli Brassica oleraceae L. Var. Italica Plenck. *Jurnal Natural Science*, 7(6), 1–9. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/cocos/article/download/13885/13459>
- Sulistiyawati, P., & Widyatmoko, A. (2017). Keragaman Genetik Populasi Kayu Merah (*Pterocarpus indicus* Willd) Menggunakan Penanda Random Amplified Polymorphism DNA. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(1), 67–76. <https://doi.org/10.20886/jpth.2017.11.1.67-76>
- Syatria, N., Suhartoyo, H., & Apriyanto, E. (2019). Induksi Tunas Sengon (*Falcataria Moluccana*) Bebas Karat Puru Secara In Vitro Untuk Mendukung Pembangunan Hutan Rakyat Secara Berkelanjutan. *Naturalis: Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumber Daya Alam Dan Lingkungan*, 8(2), 119–127. <https://doi.org/10.31186/naturalis.8.2.9218>
- Wulandari, A. S., Sulistiani, E., & Agustiani, E. L. (2017). Respon Pertumbuhan Tunas Saniten (*Castanopsis argentea* (Blume) A.D.C) Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Secara In Vitro. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 08(3), 208–214.
- Yuliah, Fiani, A., & Yudohartono, T. P. (2020). Pertumbuhan Awal Kayu Merah (*Pterocarpus indicus* Willd) Pada Plot Konservasi Ex-Situ Di Gunungkidul Umur 2 Tahun. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 14(2), 129–135. <https://doi.org/10.20886/jpth.2020.14.2.129-135>
- Yuskianti, V., Rochman, A. P. S., Lingga, N. O., & Daryono, B. S. (2019). Karakter Morfologi dan Pertumbuhan Subspecies Kayu Merah (*Pterocarpus indicus* Willd.) Asal Pulau Seram, Maluku dan Pulau Flores, Nusa Tenggara Timur Di Persemaian. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 13(1), 1–10. [10.20886/jpth.2019.13.1.1-10](https://doi.org/10.20886/jpth.2019.13.1.1-10)