

Pertumbuhan Tunas Temu Putih secara *In Vitro* pada Beberapa Komposisi Zat Pengatur Tumbuh

Growth of White Ginger Shoots In Vitro on Several Compositions of Plant Growth Regulator

Amalia Nazhira¹, Diny Dinart^{2*}, Sudarsono²

¹Program Studi Agronomi dan Hortikultura Departemen Agronomi dan Hortikultura,
Institut Pertanian Bogor (IPB University)

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, (IPB University)
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

*Penulis Korespondensi: dinyagh@apps.ipb.ac.id

Disetujui: 9 April 2024 / *Published Online* Mei 2024

ABSTRACT

White ginger rhizomes have a dormancy period of 2-3 months. This research aimed to determine a plant growth regulator (PGR) composition that is suitable for in vitro shoot multiplication of white ginger. The experiment was conducted at the Tissue Culture Laboratory 3 AGH from March to August 2022. The research used a one-factor randomized complete block design (RCBD) with 5 levels of PGR composition on MS base media, namely MSo media without the addition of PGR (control); 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA; 9 ppm BAP; 1.5 ppm TDZ; 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA. Each treatment was repeated 5 times, each experimental unit consisted of 2 bottles and one explant was planted in each bottle. The addition of 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA and 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA gave the highest results in shoot multiplication, namely 6.8 shoots. The addition of PGR to the media did not significantly affect shoot elongation, increase in number of leaves, and root formation. Treatment with the addition of 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA; 9 ppm BAP; and 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA produced plantlets that exhibited 100% survival during a two-week acclimatization period.

Keyword: auxin, cytokinins multiplication, planlet, Zingiberaceae

ABSTRAK

Rimpang jahe putih memiliki masa dormansi selama 2-3 bulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sesuai untuk perbanyak tunas jahe putih secara in vitro. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 3 AGH pada bulan Maret hingga Agustus 2022. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial (RAL) dengan 5 taraf komposisi ZPT pada media dasar MS, yaitu media MSo tanpa penambahan ZPT (kontrol); 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA; 9 ppm BAP; 1.5 ppm TDZ; 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, setiap unit percobaan terdiri dari 2 botol dan setiap botol ditanam satu eksplan. Penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA dan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA memberikan hasil multiplikasi tunas yang paling tinggi, yaitu 6,8 tunas. Penambahan ZPT pada media tidak berpengaruh nyata terhadap pemanjangan tunas, penambahan jumlah daun, dan pembentukan akar. Perlakuan dengan penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA; 9 ppm BAP; dan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA menghasilkan plantlet yang menunjukkan kelangsungan hidup 100% pada masa aklimatisasi dua minggu.

Kata kunci: auksin, multiplikasi, planlet, sitokinin, *Zingiberaceae*

PENDAHULUAN

Famili *Zingiberaceae* merupakan kelompok tanaman yang rimpangnya banyak digunakan sebagai bahan baku rempah dan obat-obatan herbal, salah satunya temu putih (*Curcuma zedoaria*) (Yulizar *et al.*, 2014). Rimpang temu putih mengandung minyak atsiri yang terdiri dari senyawa flavonoid dan seskuiterpen. Senyawa tersebut memiliki fungsi sebagai hepatoprotektor, anti inflamasi, anti kanker, serta antioksidan yang dapat digunakan sebagai obat kanker, demam, diabetes melitus, jantung, maupun kolesterol (Aulia *et al.*, 2020; Silalahi, 2018).

Temu putih termasuk ke dalam genus *Curcuma* yang memiliki lebih dari 80 spesies yang tersebar di daerah tropis, seperti India, bagian Selatan Cina, Asia Tenggara, Papua New Guinea, hingga bagian Utara Australia (Silalahi, 2020). Tanaman dari genus *curcuma* cukup penting secara ekonomi karena termasuk komoditi yang dapat diperdagangkan dan dapat digunakan sebagai tanaman hias (Silalahi, 2018).

Perbanyakan temu putih dilakukan secara vegetatif dengan menanam rimpang. Rimpang rentan terserang busuk rimpang karena bakteri dan jamur serta masa dormansi yang dapat mencapai 2 hingga 3 bulan menyebabkan sulitnya mendapatkan bibit dengan ukuran dan kualitas yang seragam (Bharalee *et al.*, 2005; Murgayanti *et al.*, 2021). Penyediaan bibit temu putih melalui teknik kultur jaringan dapat dilakukan menggunakan tunas maupun rimpang mikro agar menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar dan waktu yang relatif singkat.

Kultur jaringan adalah teknik perbanyakan dengan menggunakan bagian dari tanaman mulai dari sel hingga organ agar dapat dikembangkan dalam media aseptik sehingga tumbuh menjadi tanaman baru dengan organ yang lengkap (Karjadi, 2016). Metode ini efektif untuk menyediakan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak, bebas penyakit, dan seragam. Perbanyakan bibit secara kultur jaringan tidak membutuhkan lahan yang luas dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat serta tidak terpengaruh musim karena dilakukan pada lingkungan yang aseptik sehingga dapat dilakukan sepanjang tahun (Duroh dan Winarti, 2020)

ZPT merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro* karena kandungan hormon endogen dari tanaman yang dibudidayakan secara *in vitro* tidak sebesar pada budidaya *in vivo* (Almeida *et al.*,

2020). ZPT golongan sitokinin umum digunakan pada multiplikasi tunas karena memiliki peran dalam proses pembelahan sel dan multiplikasi tunas. Jenis sitokinin yang sering digunakan untuk multiplikasi adalah BAP dan TDZ karena sifatnya yang cenderung stabil (Aulia *et al.*, 2020; Dinani *et al.*, 2018).

Penelitian yang dilakukan Murgayanti *et al.* (2021) menunjukkan bahwa penggunaan 1.5 ppm TDZ dan 4% sukrosa dapat menghasilkan rata-rata jumlah tunas temu putih sebanyak 4.67 tunas dengan waktu pengamatan selama 12 MST. Penelitian pada tanaman jahe yang dilakukan oleh Abbas *et al.* (2014) menunjukkan bahwa penggunaan 60 g L⁻¹ sukrosa dan 9 mg L⁻¹ BAP dapat menghasilkan hingga 66 tunas. Penggunaan BAP pada temu putih dilakukan oleh Bharalee *et al.* (2005), respon terbaik ditunjukkan pada penggunaan 1 mg L⁻¹ BAP dan 0.5 mg L⁻¹ NAA menghasilkan rata-rata 4,5 tunas dalam waktu pengamatan 45 hari. Pada penelitian ini diuji pengaruh berbagai jenis sitokinin dengan beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan tunas *C. zedoaria*. Penelitian temu putih *in vitro* di Indonesia masih terbatas dan belum dipublikasikan, sehingga diperlukan penelitian untuk mendapatkan informasi terkait metode perbanyakan tunas temu putih *in vitro*. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh komposisi ZPT terhadap pertumbuhan tunas *in vitro* temu putih.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 3, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor pada bulan Maret hingga Agustus 2022.

Bahan yang digunakan adalah eksplan tunas steril temu putih bahan penyusun media dasar MS, vitamin dan asam amino, gula, agar sebagai pematat, aquadestilata steril, HCl, KOH alkohol 96% dan 70%, cefotaxime, NaOCl 5.25%, benzil amino purin (BAP), thidiazuron (TDZ), kinetin, dan naphthaleneacetic acid (NAA). Alat yang digunakan adalah botol kultur, *laminar air flow cabinet* (LAFC), *autoclave*, timbangan analitik, gelas ukur, pH meter, erlenmeyer, *magnetic stirrer*, kompor, cawan petri, pipet, tisu, pinset, plastik, label, alat tulis, dan kamera ponsel.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) satu faktor komposisi ZPT. Terdapat 5 taraf perlakuan yaitu media MS dengan penambahan gula 30 g L⁻¹ tanpa penambahan ZPT (kontrol); 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA, dan gula 45 g L⁻¹; 9 ppm

BAP dan gula 60 g L⁻¹ (Abbas *et al.*, 2014); 1.5 ppm TDZ dan gula 40 g L⁻¹ (Murgayanti *et al.*, 2021); 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA dan gula 45 g L⁻¹. Terdapat 5 ulangan pada setiap taraf perlakuan sehingga terdapat 25 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 2 botol kultur yang masing-masing ditanam satu eksplan tuinas, sehingga terdapat 50 satuan pengamatan.

Sterilisasi botol kultur dilakukan dengan mencuci botol kultur menggunakan sabun, kemudian direndam menggunakan 10% kloroks selama 6 jam. Sterilisasi alat tanam dilakukan dengan mencuci alat tanam menggunakan sabun, kemudian alat tanam dibungkus menggunakan kertas. Botol kultur dan alat tanam dimasukkan ke dalam *autoclave* dan disterilisasi pada suhu 121 °C selama 30 menit dengan tekanan 17.5 psi.

Pembuatan media perlakuan dilakukan dengan memipet sejumlah larutan stok MS berupa stok A, B, C, D, E, F, myo-inositol, dan vitamin, larutan ZPT dipipet sesuai konsentrasi yang dibutuhkan, dan menambahkan gula pasir sesuai perlakuan, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1,000 ml yang telah diisi 500 ml aquadestilata. Setelah bahan-bahan larut, ditambahkan kembali aquadestilata hingga volume mencapai 1,000 ml. Larutan media diukur pHnya menjadi 5.8 dengan penambahan KOH atau HCl. Agar-agar ditimbang sebanyak 7 g dan dimasukkan ke dalam panci berisi media. Larutan media lalu dipanaskan dan diaduk hingga agar-agar larut. Setelah mendidih, media dituangkan ke dalam botol ukuran 200 ml kira-kira 25-30 ml per botol. Botol kultur ditutup rapat dengan plastik dan karet gelang, kemudian diberi label setelah semua larutan media selesai dituangkan. Botol yang telah ditutup kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* dan disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 17.5 psi.

Sterilisasi ruang tanam *laminar air flow cabinet* (LAFC) dilakukan dengan penyinaran ultraviolet pada LAFC selama satu jam sebelum digunakan. LAFC disterilkan lagi dengan menyemprotkan alkohol 70% lalu dikeringkan menggunakan tisu. Botol kultur dan alat tanam yang akan digunakan disemprot dengan alkohol 70% sebelum masuk ke dalam LAFC.

Eksplan steril tunas temu putih disubkultur dan ditanam pada media MSo. Eksplan yang telah disubkultur kemudian disimpan selama empat minggu untuk menghilangkan pengaruh ZPT sebelum perlakuan. Eksplan temu putih yang digunakan dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu besar (1-2 cm) dan kecil (0.5-1 cm). Eksplan yang telah disimpan dalam MSo selama empat minggu kemudian ditanam pada media perlakuan.

Penanaman dilakukan dengan meletakkan satu eksplan per botol ke dalam media perlakuan. Botol kultur yang telah ditanami eksplan ditutup menggunakan plastik dan diikat menggunakan karet.

Kultur diinkubasi di ruang kultur pada kondisi suhu ruangan 23 ± 2 °C, kelembapan ruangan 70%, penyinaran 24 jam, dan intensitas cahaya 1,000 lux, botol kultur dan rak kultur disemprot dengan alkohol 70% secara berkala untuk mencegah dan mengurangi kontaminasi. Subkultur eksplan dilakukan saat eksplan berumur 6 minggu setelah tanam (MST). Subkultur dilakukan dengan memisahkan tunas baru yang tumbuh dari tunas induknya dan memotong akar yang telah tumbuh. Eksplan disubkultur dan ditanam kembali ke media perlakuan yang sama untuk ketersediaan unsur hara bagi eksplan.

Aklimatisasi dilakukan pada planlet temu putih yang sudah memiliki minimal 3 akar dan 1 daun yang telah membuka sempurna. Media yang digunakan untuk aklimatisasi adalah arang sekam dan *cocopeat* dengan perbandingan 1:1. Media yang telah dicampur kemudian dipanaskan di atas wajan selama 20 menit dengan api sedang, kemudian didiamkan selama 15-20 menit sebelum digunakan. Planlet dikeluarkan dari botol kultur dan dibilas menggunakan air mengalir untuk membersihkan media agar yang menempel pada akar planlet. Planlet kemudian direndam dalam larutan bakterisida streptomisin sulfat 20% dan fungisida 80% dengan konsentrasi 1 g L⁻¹ selama 10 menit, kemudian planlet direndam kembali dalam larutan 100 ppm IBA selama 20 menit. Planlet ditanam pada gelas plastik berukuran 300 ml berisi media tanam dan ditutup menggunakan sungkup gelas plastik untuk menjaga kelembapan media tanam. Pemberian pupuk daun dilakukan dengan menyemprotkan larutan pupuk ke planlet pada 1 MSA untuk menambah asupan hara bagi planlet.

Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 12 MST. Waktu muncul tunas, diamati dengan cara mencatat waktu; Waktu muncul akar; Jumlah tunas, diamati dengan cara menghitung jumlah tunas terinisiasi; Jumlah akar, diamati dengan cara menghitung jumlah akar terinisiasi; Jumlah daun, diamati dengan cara menghitung setiap daun yang telah membuka sempurna; Panjang daun, diamati dengan cara mengukur daun terpanjang dari pangkal hingga ujung daun. Panjang daun diukur menggunakan penggaris dari luar botol. Persentase eksplan bertunas, perhitungan dilakukan satu minggu sekali dimulai dari 1 MST sampai 12 MST.

$$\% \text{ bertunas} = \frac{\text{Jumlah eksplan bertunas}}{\text{Total eksplan}} \times 100$$

Persentase daun senesen, perhitungan dilakukan satu minggu sekali selama 12 MST.

$$\% \text{ senesen} = \frac{\text{Jumlah daun senesen}}{\text{Total eksplan}} \times 100$$

Persentase planlet hidup, perhitungan dilakukan satu kali saat 2 MSA.

$$\% \text{ planlet hidup} = \frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Total eksplan}} \times 100$$

Jumlah planlet berimpang, diamati dengan cara menghitung jumlah tunas yang telah muncul rimpang mikro. Pengamatan dilakukan satu kali saat 2 MSA.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F pada taraf nyata $\alpha = 5\%$ dengan perangkat lunak SAS (*Statistical Analysis System*). Hasil uji F yang berpengaruh nyata diuji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Pengamatan menunjukkan bahwa kondisi eksplan tunas temtemu putih pada 5 taraf perlakuan dalam keadaan baik, dengan persentase eksplan hidup pada 12 MST 100%. Hal ini diduga karena eksplan yang digunakan merupakan eksplan steril yang disubkultur sehingga kemungkinan untuk kontaminasi rendah. Menurut Yulizar *et al.* (2014), penggunaan medium MSo yang digunakan juga dianggap telah menyediakan nutrisi yang cukup untuk eksplan temu putih yang tergolong dalam tanaman *herbaceous*, terindikasi kultur memiliki bagian yang berklorofil dan segar. Penelitian tanaman *herbaceous* lain yaitu *Boesenbergia pulcherrima* (Zingiberaceae) dilakukan oleh Anish dan Bejoy (2008) menggunakan media MSo

dengan kombinasi Kinetin dan BAP dapat menghasilkan 80% eksplan hidup.

Eksplan Bertunas

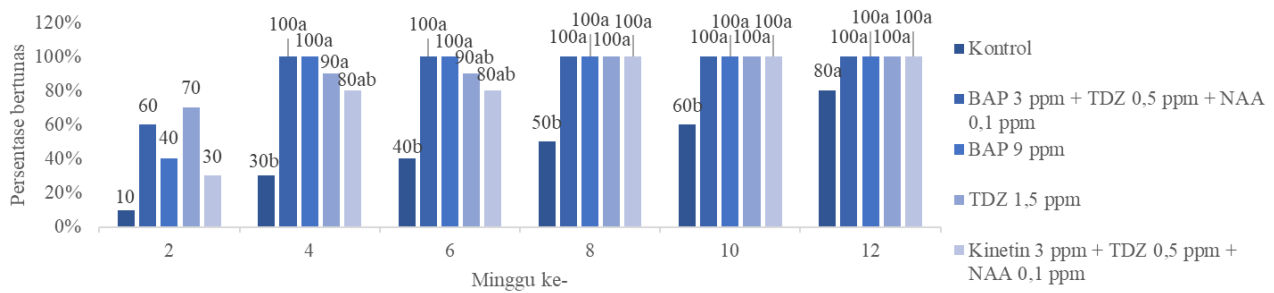
Multiplikasi tunas dengan teknik kultur *in vitro* merupakan teknik alternatif untuk memperbanyak bibit tanaman dalam waktu yang singkat (Praseptiana *et al.*, 2017). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan ZPT pada media memberikan pengaruh yang sangat nyata pada minggu 4 sampai 12 MST terhadap multiplikasi tunas. Media yang diberi penambahan ZPT menunjukkan pertumbuhan tunas yang terus meningkat hingga 12 MST (Tabel 1). Penambahan ZPT pada media menghasilkan antara 6-7 tunas yang tidak berbeda nyata antara perlakuan kecuali kontrol. Penambahan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA menghasilkan peningkatan tunas yang paling tinggi dari 6 MST ke 12 MST dibanding perlakuan komposisi ZPT lainnya. Persentase eksplan temu putih yang membentuk tunas dapat dilihat pada Gambar 1.

Penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang lebih sedikit yaitu 4,2 tunas bila dibandingkan dengan penambahan 1 ppm BAP + 0,5 ppm NAA pada penelitian Bharalee *et al.* (2005) dalam waktu pengamatan yang sama yaitu 6 MST. Hal ini diduga karena konsentrasi dan jenis sitokinin yang diberikan pada penelitian ini terlalu tinggi. Pada temu putih diduga dibutuhkan sitokinin BAP dalam konsentrasi yang lebih kecil. Rataan tunas yang dihasilkan dengan penambahan 9 ppm BAP cenderung lebih sedikit dibanding perlakuan ZPT lainnya.

Tabel 1. Rataan jumlah tunas temu putih pada 2-12 MST

Perlakuan	Jumlah tunas					
	Umur (MST)					
	2	4	6	8	10	12
Kontrol	0.1	0.4b	0.5b	0.7b	0.9b	1.3b
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	0.9	3.3a	4.2a	5.8a	6.2a	6.8a
9 ppm BAP	0.8	2.6a	3.0a	3.9ab	5.2ab	6.0ab
1.5 ppm TDZ	1.4	3.3a	3.7a	4.3a	5.5a	6.4a
3 ppm Kin. + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	0.3	2.2a	2.8a	5.0b	5.8a	6.8a
UJI F perlakuan	tn	**	**	**	**	*
UJI F ulangan	tn	**	*	tn	tn	*
KK (%)	26.59	17.38	23.61	20.01	19.62	18.5

Keterangan: (tn) tidak berpengaruh nyata, (*) berpengaruh nyata, (**) berpengaruh sangat nyata, data yang diolah ditransformasikan ke $(x + 0.5)^{1/2}$, angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf $\alpha = 5\%$.



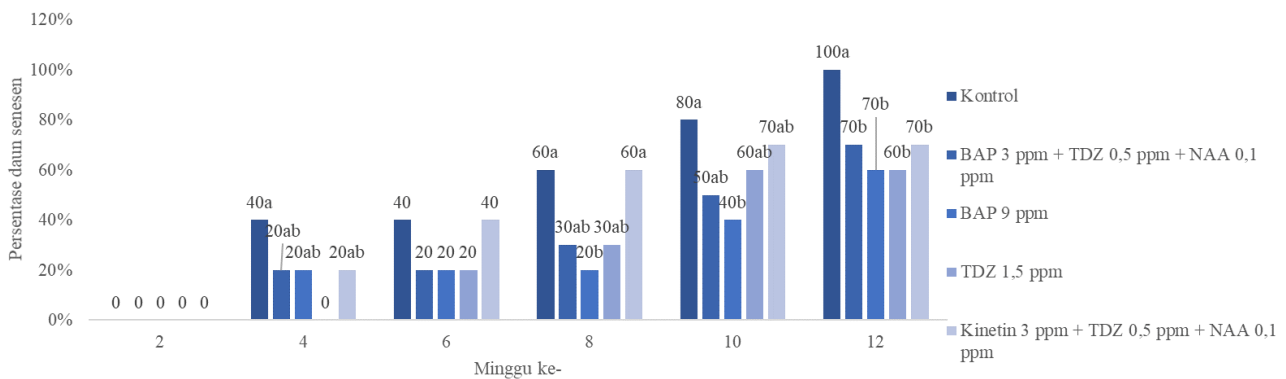
Gambar 1. Persentase eksplan temu putih yang membentuk tunas pada 2-12 MST

Penambahan BAP dapat meningkatkan multiplikasi tunas, namun konsentrasi yang tinggi dapat menurunkan kemampuannya untuk membentuk tunas baru, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Naz *et al.* (2009) bahwa penambahan konsentrasi BAP yang cukup tinggi pada *C. longa* menyebabkan jumlah tunas yang dihasilkan lebih sedikit. Menurut Dinani *et al.* (2018) zat pengatur tumbuh TDZ merupakan golongan sitokinin yang dapat mempengaruhi kinerja hormon sitokinin lainnya, sehingga penambahan TDZ pada konsentrasi BAP yang tepat dapat menghasilkan multiplikasi tunas yang lebih banyak.

Hasil analisis juga menunjukkan bahwa pengelompokkan berdasarkan ukuran tunas memberikan pengaruh yang nyata terhadap multiplikasi tunas. Pada penelitian ini ukuran eksplan tunas dikelompokkan berdasarkan ukuran. Eksplan yang berukuran lebih besar menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang lebih banyak. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Jualang *et al.* (2015) pada *Etlingera coccinea* yang berasal dari famili *Zingiberaceae* dan Lo-apirukkul *et al.* (2012) pada *Curcuma comosa* yaitu eksplan yang berasal dari tunas lebih kecil dapat menghasilkan jumlah tunas lebih

banyak. Perbedaan ini diduga terjadi karena perbedaan asal eksplan yang digunakan. Eksplan yang digunakan pada penelitian Jualang *et al.* (2015) dan Lo-apirukkul *et al.* (2012) merupakan tunas yang berasal dari rimpang utuh yang tumbuh di alam sehingga tunas dengan ukuran lebih besar telah banyak berkontak dengan patogen dan menyebabkan eksplan lebih sulit untuk membentuk tunas.

Tunas pada media yang diberi ZPT mulai membentuk tunas baru pada 1 MST, sedangkan pada media MSo tanpa penambahan ZPT mulai membentuk tunas baru pada 2 MST. Hasil analisis menunjukkan bahwa media dengan penambahan BAP menghasilkan perbedaan yang nyata terhadap media tanpa penambahan ZPT mulai dari 3 MST, namun tidak menunjukkan perbedaan terhadap eksplan dengan penambahan TDZ dan Kinetin. Tunas yang ditanam pada media tanpa penambahan ZPT menunjukkan persentase multiplikasi paling sedikit yaitu 80%, dapat dilihat pada Gambar 2. Hal ini disebabkan penambahan ZPT sitokinin pada media dapat memicu multiplikasi tunas. Menurut Rustikawati *et al.* (2021) penambahan ZPT auksin maupun sitokinin dapat mempercepat pertumbuhan tanaman, salah satunya adalah multiplikasi tunas.



Gambar 2. Persentase eksplan tunas temu putih senesen pada 2-12MST

Penambahan BAP dinilai paling efektif dalam memicu multiplikasi tunas, terlihat pada Gambar 2 bahwa seluruh eksplan berhasil mengalami multiplikasi pada 4 MST. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua eksplan pada media dengan penambahan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA membentuk kalus pada 1 MST dan beregenerasi menjadi tunas pada 3 MST. Pembentukan kalus berkaitan dengan zat pengatur tumbuh, khususnya auksin dan sitokinin. Kombinasi ZPT golongan auksin dan sitokinin yang tepat dapat bekerja merangsang pembentukan kalus, organogenesis, dan menjaga pertumbuhan kalus (Lestari, 2011).

Panjang Tunas

Berdasarkan hasil pengamatan selama 12 MST, penambahan ZPT ke dalam media tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap panjang tunas. Media tanpa penambahan ZPT

menghasilkan rata-ran panjang tunas terpanjang (Tabel 2), hal ini disebabkan oleh penambahan ZPT ke dalam media berperan untuk mengatur pembelahan sel serta merangsang pembentukan tunas dan tidak berfungsi untuk memacu pertumbuhan panjang tunas. Kandungan ZPT endogen yang terdapat dalam eksplan diduga mampu bekerja secara optimal dengan media MS tanpa penambahan ZPT untuk pertumbuhan panjang tunas namun belum mampu untuk merangsang pembentukan tunas.

Jumlah Daun per Botol

Hasil pengamatan terhadap jumlah daun menunjukkan bahwa seluruh perlakuan menumbuhkan daun, namun penambahan ZPT tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pembentukan daun (Tabel 3). Penambahan BAP dan Kinetin dengan konsentrasi yang sama menunjukkan pertumbuhan daun yang secara statistik sama.

Tabel 2. Rataan panjang tunas temu putih pada 2-12 MST

Perlakuan	Panjang tunas (cm)					
	Umur (MST)					
	2	4	6	8	10	12
Kontrol	4.50	7.73	10.40	12.35	12.93	13.50
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	4.34	7.15	8.56	9.31	10.59	11.27
9 ppm BAP	3.07	5.11	6.91	8.62	9.30	10.17
1.5 ppm TDZ	3.81	5.55	6.83	7.30	8.14	9.04
3 ppm Kin. + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	3.11	4.68	5.69	6.51	6.91	7.36
UJI F perlakuan	tn	tn	tn	tn	tn	tn
UJI F ulangan	*	*	*	*	tn	tn
KK(%)	16.76	17.83	18.29	18.39	19.33	19.73

Keterangan: (tn) tidak berpengaruh nyata, (*) berpengaruh nyata, (**) berpengaruh sangat nyata, , angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf $\alpha = 5\%$. data yang diolah ditransformasikan ke $(x + 0.5)^{1/2}$

Tabel 3. Rataan jumlah daun temu putih pada 2-12MST

Perlakuan	Jumlah daun (helai)					
	Umur (MST)					
	2	4	6	8	10	12
Kontrol	1.1	1.7	2.8	5	5.6	6.8
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	1.8	2.5	5.2	7.2	8.8	12.0
9 ppm BAP	0.8	1.4	2.7	6	7.6	9.8
1.5 ppm TDZ	0.9	1.8	3.6	5.2	7.6	8.3
3 ppm Kin. + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	0.9	1.6	3.9	4.5	6.7	9.9
UJI F perlakuan	tn	tn	tn	tn	tn	tn
UJI F ulangan	tn	tn	tn	tn	tn	*
KK (%)	25.76	28.33	18.89	18.24	17.46	19.01

Keterangan: (tn) tidak berpengaruh nyata, (*) berpengaruh nyata, (**) berpengaruh sangat nyata, angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf $\alpha = 5\%$. data yang diolah ditransformasikan ke $(x + 0.5)^{1/2}$.

Tunas temu putih yang baik ditandai dengan daun yang berwarna hijau. Daun yang kehilangan klorofil akan mengalami perubahan warna dari hijau menjadi kecoklatan atau menguning (Lizawati, 2009). Hasil penelitian menunjukkan beberapa daun pada media tanpa penambahan ZPT dan dengan penambahan ZPT mengalami perubahan warna menjadi kekuningan akibat senesen mulai dari 4 MST yang dapat dilihat pada Gambar 2. Media tanpa penambahan ZPT menunjukkan persentase daun senesen tertinggi yaitu 100%. Hal ini dapat terjadi karena tidak seimbangnya kandungan auksin dan sitokinin endogen dalam jaringan tanaman. Lizawati (2009) juga menyatakan bahwa kandungan auksin endogen yang tinggi dalam tanaman dapat meningkatkan aktivitas etilen yang menyebabkan daun menjadi layu atau gugur.

Senesen pada daun dapat terjadi karena adanya auksin endogen sehingga kerja hormon sitokinin yang juga berfungsi untuk membentuk klorofil menjadi terhambat. Proses senesen dalam kultur *in vitro* juga dapat terjadi karena kekurangan nutrisi dari media tanam pada kultur sehingga perlu dilakukan subkultur agar eksplan mendapatkan nutrisi yang tercukupi dari media yang baru. Kelebihan etilen juga dapat menjadi salah satu penyebab senesen pada daun. Kandungan etilen dalam kultur *in vitro* dapat memberikan dampak positif seperti membantu induksi kalus, organogenesis, pembentukan akar, dan embriogenesis, namun penumpukan etilen dapat berdampak negatif bagi tanaman seperti terhambatnya pembentukan tunas dan pemanjangan daun, hipertrofi, senesen, dan pengecilan luas daun (Mendrofa *et al.*, 2021).

Jumlah Akar

Tunas memiliki kemampuan untuk berakar yang beragam, tergantung pada umur eksplan yang digunakan, jenis tanaman, lingkungan, dan perlakuan yang diberikan kepada eksplan (Fitriani dan Efendi, 2018). Hasil sidik ragam pada Tabel 4 menunjukkan bahwa penambahan ZPT pada media tanam memberikan hasil yang tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar yang dihasilkan. Media tanpa penambahan ZPT menghasilkan rata-rata jumlah akar tertinggi sebanyak 9.2 akar, sedangkan media dengan penambahan 1.5 ppm TDZ menghasilkan rata-rata jumlah akar terendah yaitu 1.6 akar pada pengamatan 6 MST. Menurut Dinani *et al.* (2018) hal ini dapat terjadi karena secara umum, pemberian TDZ pada media dapat menghambat pertumbuhan akar dengan berperan sebagai auksin antagonis yang dapat bekerja untuk regenerasi, embriogenesis somatik, organogenesis, dan perkembangan tunas adventif. Konsentrasi hormon sitokinin yang diberikan pada media tanam menyebabkan pembentukan tunas baru meningkat, namun menurunkan kemampuan dalam pembentukan akar. Penurunan data jumlah akar pada 8 MST terjadi karena dilakukannya subkultur pada eksplan temu putih.

Aklimatisasi

Perbanyak tunas temu putih secara *in vitro* menghasilkan 42 planlet yang siap diaklimatisasi. Tabel 5 menunjukkan bahwa seluruh planlet yang diaklimatisasi dapat bertahan hidup dengan persentase hidup mencapai 100% pada 2 minggu setelah aklimatisasi (MSA). Rataan panjang tunas terpanjang dan jumlah tunas terbanyak dihasilkan oleh planlet yang berasal dari perlakuan 9 ppm BAP yaitu 16.46 cm dan rata-rata tunas sebanyak 1.20 tunas.

Tabel 4. Rataan jumlah akar temu putih pada 2-12 MST

Perlakuan	Jumlah akar					
	Umur (MST)					
	2	4	6	8	10	12
Kontrol	0.7	1.6	9.2	0.0	0.9	1.7
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	0.4	1.6	4.0	0.0	1.7	5.0
9 ppm BAP	0.4	1.4	7.3	0.3	1.5	3.4
1,5 ppm TDZ	0.6	0.8	1.6	0.0	1.1	3.8
3 ppm Kin. + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	0.2	1.2	5.2	0.3	3.3	7.7
UJI F perlakuan	tn	tn	tn	tn	tn	tn
UJI F ulangan	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	8.61	10.75	17.03	15.24	43.29	44.05

Keterangan: (tn) tidak berpengaruh nyata, (*) berpengaruh nyata, (**) berpengaruh sangat nyata, angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$. data yang diolah ditransformasikan ke $(x + 0.5)^{1/2}$.

Tabel 5. Rataan panjang tunas dan jumlah tunas planlet temu putih pada 2 MSA

Perlakuan	Jumlah botol	Jumlah planlet	Persentase hidup (%)	Panjang tunas (cm)	Jumlah tunas (buah)
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	1	7	100	10.73 ± 3.21	0.57 ± 0.79
9 ppm BAP	1	5	100	16.46 ± 2.16	1.20 ± 1.10
3 ppm Kin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	1	10	100	13.05 ± 3.34	0.90 ± 0.99
	2	11	100	9.26 ± 3.10	0.73 ± 1.49
	3	9	100	10.12 ± 3.64	0.33 ± 0.71

Tumbuhnya tunas baru pada masa aklimatisasi ini dapat terjadi karena masih adanya pengaruh ZPT dari media kultur dan kebutuhan hara pada tanaman yang tercukupi sehingga planlet dapat membentuk tunas baru.

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa planlet yang berasal dari media dengan penambahan 9 ppm BAP memiliki rata-rata jumlah akar terbanyak yaitu 47 akar pada 2 MSA. Rataan jumlah daun terbanyak diperoleh dari planlet dengan penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA yaitu sebanyak 16.11 helai. Beberapa planlet yang diaklimatisasi mengalami pertumbuhan rimpang, rata-rata jumlah rimpang terbanyak dihasilkan oleh planlet yang berasal dari media dengan penambahan 9 ppm BAP yaitu sebanyak 0.4 rimpang. Salah satu fungsi rimpang adalah sebagai cadangan makanan (Abdillah *et al.* 2015), diduga rimpang belum dapat tumbuh pada sebagian besar planlet karena umur planlet yang muda. Sukrosa merupakan salah satu sumber karbohidrat yang sering digunakan sebagai bahan

tambahan dalam kultur *in vitro* (Kafindra *et al.* 2015). Penggunaan sukrosa yang cukup tinggi pada media dengan penambahan 9 ppm BAP yaitu sebanyak 60 g diduga menjadi salah satu faktor tumbuhnya rimpang karena planlet telah mampu melakukan penyimpanan cadangan makanan.

Beberapa planlet mengalami penurunan jumlah daun atau jumlah daun yang tidak bertambah ketika pengamatan saat 2 MSA. Hal ini terjadi karena dilakukannya pemotongan daun senesen pada planlet. Pemotongan daun dilakukan untuk mencegah tanaman membusuk akibat pelayuan. Pemotongan daun dilakukan pada 1 MSA sebelum planlet disiram menggunakan pupuk daun untuk mencukupi kebutuhan hara planlet dan mencegah pelayuan daun. Planlet menunjukkan pertumbuhan yang baik selama 2 minggu aklimatisasi. Pemberian pupuk mengakibatkan tinggi tanaman bertambah, daun berwarna hijau, dan akar yang semakin banyak seperti terlihat pada Gambar 3.

Tabel 6. Rataan jumlah daun, akar, dan rimpang planlet temu putih pada 2 MSA

Perlakuan	Jumlah botol	Jumlah tanaman	Jumlah daun (helai)	Jumlah akar (buah)	Jumlah rimpang (buah)
3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	1	7	16.11 ± 0.79	18.00 ± 4.62	-
9 ppm BAP	1	5	11.28 ± 2.05	47.00 ± 12.75	0.40
3 ppm Kin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA	1	10	10.67 ± 2.12	20.10 ± 10.63	0.10
	2	11	10.39 ± 4.47	11.00 ± 7.35	0.18
	3	9	7.80 ± 0.93	24.67 ± 11.26	0.11



Gambar 3. Planlet temu putih yang diaklimatisasi. (a) planlet dari perlakuan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA 0 MSA; (b) planlet dari perlakuan 9 ppm BAP 0 MSA; (c) planlet dari perlakuan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA 0 MSA



Gambar 3. Planlet temu putih yang diaklimatisasi. (d) planlet dari perlakuan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA 2 MSA; (e) planlet dari perlakuan 9 ppm BAP 2 MSA; (f) planlet dari perlakuan 3 ppm Kinetin + 0.5 TDZ + 0.1 ppm NAA 2 MSA (Lanjutan)

KESIMPULAN

Penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA dan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA memberikan hasil tertinggi dalam multiplikasi tunas yaitu 6.8 tunas. Penambahan ZPT pada media tidak meningkatkan pemanjangan tunas, penambahan jumlah daun, dan pembentukan akar. Perlakuan dengan penambahan 3 ppm BAP + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA; 9 ppm BAP; dan 3 ppm Kinetin + 0.5 ppm TDZ + 0.1 ppm NAA menghasilkan planlet yang mampu bertahan hidup 100% selama 2 minggu aklimatisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, M., U. Aly, H. Taha, E.S. Gaber. 2014. *In vitro* production of microrhizomes in ginger (*Zingiber officinale* Rosco). *J Microbiol Biotechnol Food Sci.* 4(2):39-42. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2014.4.2.142-148>
- Abdillah, R.H., R. Rogomulyo, P. Setyastuti. 2015. Pengaruh bobot rimpang dan tempat penyimpanan terhadap mutu bibit rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Vegetalika.* 4(4):57-67. doi: 10.22146/veg.23951
- Almeida, M., R.R. Ersyanti, F.M. Dwivany. 2020. Optimasi dan evaluasi secara fisik kondisi biji tomat (*Lycopersicon esculentum*) yang telah dibawa ke luar angkasa dengan kultur jaringan. *J. Sains Kes.* 2(4):438-443.
- Anish, N.P.M., M. Bejoy. 2008. Conservation using *in vitro* progenies of the threatened ginger *Boesenbergia pulcherima* (Wall.) Kuntze. *International Journal of Botany.* 4(1):93-98. <https://doi.org/10.3923/ijb.2008.93.98>
- Aulia, M.I., Rustikawati, E. Inorih. 2020. Respon temu putih dan temu mangga dengan pemberian BA dan 2,4-D secara *in vitro*. *Gema Agro.* 25(2):92-102.
- Bharalee, R., A. Das, M.C. Kalita. 2005. *In vitro* clonal propagation of *Curcuma caesia* Roxb and *Curcuma zedoaria* Rosc from rhizome bud explants. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 14:61-63. <https://doi.org/10.1007/BF03263228>
- Dinani, E.T., M.R. Shukla, C.E. Turi, J.A. Sullivan, P.K. Saxena. 2018. Thidiazuron: modulator of morphogenesis *in vitro*. *Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator.* 1-36. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8004-3_1
- Durroh, B., Y. Winarti. 2020. Pemanfaatan air kelapa dan aplikasi pupuk organik untuk merangsang pertumbuhan bibit tebu G3 hasil kultur jaringan. *Agro Bali Agric J.* 3(1):21-27. <https://doi.org/10.37637/ab.v3i1.548>
- Fitriani, V., D. Efendi. 2018. Pengaruh paclobutrazol dan Benzyl Adenin terhadap pertumbuhan dan multiplikasi tunas bawang merah (*Allium cepa* L.) varietas Bima brebes secara *in vitro*. *Comm. Hort. J.* 2(2):22-27. <https://doi.org/10.29244/chj.2.2.22-27>
- Jualang, A.G., H.T.A. Nurul, D. Devina, M. Hartinie. 2015. *In vitro* shoot regeneration from rhizome bud of native ginger in Borner, *Etilingera coccinea*. *J. Trop Plant Physiol.* 7:36-46.
- Kafindra, L., N. Khumaida N, S.W. Ardie. 2015. Induksi rimpang mikro *Kaempferia parviflora* secara *in vitro* dengan penambahan BAP dan sukrosa. *J. Hort. Indones.* 6(1):54-63. <https://doi.org/10.29244/jhi.6.1.54-63>

- Karjadi, A. 2016. Kultur jaringan dan mikropropagasi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.). Balai Peneliti Tanam Sayuran. 8(8):1-10.
- Khaerasani, I., E. Prihatani, S. Haryanti. 2017. Pertumbuhan kalus eksplan rimpang jahe merah (*Zingiber Officinale* Rosc.) pada berbagai konsentrasi sukrosa secara *in vitro*. Buletin Natomi dan Fisiologi. 2(1):43-49. <https://doi.org/10.14710/baf.2.1.2017.43-49>
- Khalida, A., S.Z. Noli. 2019. Induksi kalus anggrek lilin (*Aerides odorata* L.) dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D). Jurnal Biologi Universitas Andalas. 7(2):109-117.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Jurnal Agrobiogen. 7(1):63-68. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Lizawati, T. Novit, R. Purnamaningsih . 2009. Induksi dan Multiplikasi tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in vitro*. J. Agron. Indonesia. 37(1):78-85
- Lo-appirukul, S., T. Jenjittikul, P. Saralamp, S. Prathanturug. 2012. Micropropagation of a Thai medicinal plant for women's health, *Curcuma comosa* Roxb. via shoot and microrhizome inductions. J. Nat Med. 66:265-270. <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0577-z>
- Mendrofa, F.N.E., N.W. Saputro, L. Afifah. 2021. Induction shoots from callus of cucumber apple (*Cucumis* sp.) using a combination of benzil amino purine and naphtalene acetic acid concentrations *in vitro*. Jurnal Mangifera Edu. 5(2):103-120. <https://doi.org/10.31943/mangiferaedu.v5i2.102>
- Murgayanti, A.A. Putri, A. Nuraini. 2021. Multiplikasi tunas tanaman temu putih pada berbagai jenis karbohidrat dan sitokinin secara *in vitro*. Jurnal Kultivasi. 20(3):189-195. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v20i3.33296>
- Naz, S., S. Ilyas, S. Javad, A. Ali. 2009. In vitro clonal multiplication and acclimatization of different varieties of turmeric (*Curcuma longa* L). Pak J Bot. 41(6):2807-2816.
- Praseptiana, C., S. Darmanti, E. Prihastanti. 2017. Multiplikasi tunas tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. Bululawang) dengan perlakuan konsentrasi BAP dan kinetin secara *in vitro*. Buletin Anatomi dan Fisiologi. 2(2):153-160. <https://doi.org/10.14710/baf.2.2.2017.153-160>
- Rustikawati, C. Herison, E. Inorih, V. Dwisari. 2021. Effect of BAP (6-Benzyl Aminopurine) on *in vitro* shoot growth of curcumas. Agritropica: Journal of Agriculture Science. 4(1):82-92. <https://doi.org/10.31186/j.agritropica.4.1.82-92>
- Silalahi, M. 2018. *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe (manfaat dan bioaktivitas). Jurnal pro-life. 5(1):515-525.
- Silalahi, M. 2020. *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe: benefits and bioactivity. Eureka Herba Indonesia. 1(2):41-48. <https://doi.org/10.37275/ehi.v1i2.10>
- Yulizar, D.M., Z.A. Noli, M. Idris. 2014. Induksi tunas kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi BAP dan sukrosa secara *in vitro*. J. Bio. UA. 3(4):310-316.