

## Induksi Embriogenesis Somatik *Dendrobium mussauense* melalui Teknik Thin Cell Layer (TCL) dengan Penambahan 2,4-D

*Induction of Somatic Embryogenesis of Dendrobium mussauense through Thin Cell Layer (TCL) Technique Supplemented with 2,4-D*

Zozy Aneloi Noli<sup>1\*</sup>, Suwirmen<sup>1</sup> dan Dinya Khairani Aisa Tumanggor<sup>1</sup>

Diterima 18 Juli 2025/ Disetujui 29 Desember 2025

### ABSTRACT

*In vitro culture provides an effective strategy for conserving and mass propagating the endangered orchid *Dendrobium mussauense*. This study aimed to evaluate the effects of different concentrations of 2,4-D on somatic embryogenesis (SE) induction using transverse thin cell layer (TCL) and non-TCL techniques. A factorial Completely Randomized Design (CRD) was employed, involving two factors: culture technique (TCL and non-TCL) and 2,4-D concentrations (1, 2, 3, and 4 mg L<sup>-1</sup>), with four replications for each treatment. Explants were stem segments from 12-month-old *D. mussauense* plantlets. The highest survival and SE formation rates were observed in non-TCL explants treated with 4 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D, reaching 75% and 50%, respectively. The earliest shoot and root emergence occurred at 13–14 and 23–25 days, respectively, under the same treatment. SE development in non-TCL explants treated with 2 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D progressed through globular, scutellar, and coleoptilar stages within two weeks. Overall, 2,4-D concentrations of 2 and 4 mg L<sup>-1</sup> were most effective for SE induction in *D. mussauense* using both TCL and non-TCL techniques,*

*Keywords:* auxin, explant, SE, root induction, shoot induction.

### ABSTRAK

Kultur *in vitro* merupakan strategi efektif untuk konservasi dan perbanyakan massal anggrek langka *Dendrobium mussauense*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi embriogenesis somatik (ES) dengan menggunakan teknik irisan tipis melintang (TCL) dan non-TCL. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor: teknik kultur (TCL dan non-TCL) dan konsentrasi 2,4-D (1, 2, 3, dan 4 mg L<sup>-1</sup>), masing-masing dengan empat ulangan. Eksplan yang digunakan adalah segmen batang dari planlet *D. mussauense* berumur 12 bulan. Tingkat kelangsungan hidup eksplan dan pembentukan SE tertinggi tercatat pada perlakuan non-TCL dengan 4 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D, masing-masing sebesar 75% dan 50%. Tunas dan akar muncul paling cepat pada hari ke-13–14 dan 23–25 setelah penanaman pada perlakuan tersebut. Perkembangan SE pada eksplan non-TCL dengan 2 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D melalui tahap *globular*, *scutellar*, dan *coleoptilar* dalam waktu dua minggu. Secara keseluruhan, konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D paling efektif dalam menginduksi SE pada *D. mussauense* dengan teknik TCL dan non-TCL.

Kata kunci: auksin, eksplan, ES, induksi akar, induksi tunas.

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,  
Jl. Dr. Mohammad Hatta Limau Manis, Padang, Sumatera Barat 25175, Indonesia  
E-mail: zozynoli@sci.unand.ac.id (\*penulis korespondensi)

## PENDAHULUAN

*Dendrobium mussauense* keberadaannya di alam mengalami penurunan. Anggrek ini memiliki ciri bunga berwarna krem dengan labellum ungu (Puccio, 2022). Menurut The International Union for Conservation of Nature (IUCN) (2022), anggrek *Dendrobium mussauense* merupakan spesies yang terancam mengalami kepunahan di alam. Perbanyakannya melalui perkembahan biji memiliki kelemahan, yaitu bibit tidak seragam. Perkembahan biji anggrek sulit dilakukan secara alami karena biji anggrek sangat kecil dan tidak memiliki endosperma (Ulja *et al.*, 2023). Salah satu metode yang dapat dilakukan yaitu induksi embriogenesis somatik (Rofik, 2018).

Embriogenesis somatik adalah proses sel-sel somatik tanaman melakukan pembelahan membentuk embrio yang tumbuh menjadi tanaman baru. Kelebihan dari teknologi embriogenesis somatik dalam produksi bibit adalah kemampuannya menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan karakteristik seragam dalam waktu lebih sedikit dibanding cara konvensional (Mastuti, 2017). Keberhasilan Induksi embriogenesis somatik (ES), dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis eksplan, jenis medium, kondisi kultur, faktor genetik dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Auksin dan sitokin adalah ZPT yang memiliki peran penting dalam menentukan respons embriogenik (Upendri dan Seran, 2021).

Stefenon *et al.* (2020), melakukan penelitian induksi ES dari eksplan tipis dengan ukuran 0.5-1 mm, yang dikenal dengan sebutan teknik TCL (*Thin Cell Layer*). Metode *Thin Cell Layer* (TCL) merupakan teknik mikropropagasi tanaman yang menggunakan eksplan dengan ukuran kurang dari 1-2 mm yang berasal dari potongan organ tanaman (Yulianti *et al.*, 2017; Media *et al.*, 2023). TCL dapat digunakan dalam embriogenesis somatik untuk meningkatkan tingkat produksi embrio somatik serta regenerasi yang efisien (Hany *et al.*, 2023). Keunggulan metode TCL adalah kemampuannya menghasilkan lebih banyak planlet dan efisiensi penggunaan eksplan yang lebih rendah. Dengan teknik TCL, eksplan yang diperlukan lebih sedikit dibanding dengan penggunaan eksplan non TCL (Arli *et al.*, 2023). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai konsentrasi 24-D terhadap induksi embriogenesis somatik (ES) dengan menggunakan teknik irisan tipis melintang (TCL) dan non-TCL.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai bulan Desember 2023 di Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri atas 8 perlakuan dan 4 ulangan sehingga total unit percobaan

adalah 32 botol. Masing-masing botol diisi dengan 4 eksplan. Perlakuan terdiri dari 2 faktor yaitu faktor pertama : TCL (eksplan batang dengan ukuran kurang lebih 1 mm) dan non TCL (eksplan batang dengan ukuran batang kurang lebih 10 mm) dan faktor kedua : 2.4-D dengan konsentrasi 1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, dan 4 mg L<sup>-1</sup>. Kombinasi perlakuan yaitu : (A) a1b1 (Non TCL + 1 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (B) a1b2 (Non TCL + 2 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (C) a1b3 (Non TCL + 3 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (D) a1b4 (Non TCL + 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (E) a2b1 (TCL + 1 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (F) a2b2 (TCL + 2 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); (G) a2b3 (TCL + 3 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); dan (H) a2b4 (TCL + 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D).

Alat yang digunakan adalah botol kultur, *autoclave*, timbangan analitik, pinset, gelas ukur 100 ml, *scalpel*, cawan Petri, *beaker glass* 500 ml, *aluminium foil*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), spatula, *hot plate*, *magnetic stirrer*, gunting, lampu spritus, plastik kaca, pipet tetes, pipet volumetrik, kertas label, karet gelang, tutup botol, *hand sprayer*, *plastic wrap*, kertas tisu, kertas milimeter, dan alat tulis. Bahan yang digunakan adalah planlet *Dendrobium mussauense* yang berasal dari Laboratorium Robiqueta Garden Lab, Padang, Sumatra Barat (0°59'17.7"S 100°22'41.7"E), larutan stok untuk media MS, larutan stok zat pengatur tumbuh auksin 2.4-D, gula, agar, arang aktif, alkohol 70% dan 96%, sodium hypochlorite, spritus, HCl 0.1 N dan NaOH 0.1 N.

### Sterilisasi Peralatan Kultur

Peralatan yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan dicuci pada air mengalir menggunakan sabun anti bakteri. Setelah dicuci, alat-alat dikeringkan menggunakan oven dan disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah dikeluarkan dari autoklaf, peralatan disimpan pada lemari alat sebelum digunakan. Peralatan tanam disterilisasi kembali di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) di bawah penyinaran lampu UV selama 2 jam sebelum digunakan.

### Persiapan Media Tanam

Media yang digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS)(1962). Media ditambahkan dengan ZPT 2.4-D sesuai dengan konsentrasi perlakuan yang digunakan. Media MS disterilisasi menggunakan autoklaf dan diinkubasi pada rak media selama 3 hari sebelum digunakan.

### Penanaman Eksplan pada Media

Planlet *Dendrobium mussauense* diperoleh dari Laboratorium Robiqueta Garden Lab, Kota Padang. Planlet dibersihkan dari percabangan daun dan akar yang menempel pada batang utama. Batang *D. mussauense* diiris tipis dengan ukuran 1 mm secara melintang dan diletakkan pada permukaan media. Setiap botol percobaan terdiri dari satu eksplan TCL. Pengamatan dilakukan terhadap parameter persentase hidup eksplan dan waktu muncul embriogenesis somatik. Persentase

hidup eksplan dihitung dengan rumus: jumlah eksplan yang hidup/jumlah seluruh eksplan x 100%. Pengamatan waktu muncul embriogenesis somatik dilakukan dengan cara diamati setiap hari hingga terbentuk ES pada eksplan.

### Pengamatan Kultur Anggrek

Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu :

- a. persentase hidup eksplan : dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus dan beregenerasi dikalikan 100%
- b. waktu muncul ES : dilakukan dengan cara mengamati hari pertama muncul ES setelah tanam
- c. waktu muncul akar : dilakukan dengan cara mengamati hari pertama muncul akar setelah tanam
- d. persentase eksplan membentuk ES : dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk ES dikalikan 100%,
- e. tahapan pembentukan ES : diamati tahap- tahap pembentukan ES selama pengamatan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Hidup Eksplan (%)

Induksi embriogenesis somatik dari eksplan batang anggrek *D. mussauense* menghasilkan persentase hidup eksplan yang bervariasi setelah 4 minggu kultur (Tabel 1). Perlakuan yang diujikan tidak semuanya berpengaruh meningkatkan persentase hidup eksplan *D. mussauense* (Tabel 1). Penggunaan eksplan non TCL pada media MS ditambah 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D memberikan hasil 1.5 kali lebih baik dibandingkan dengan eksplan TCL + 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D dengan persentase hidup sebesar 75%. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan teknik yang digunakan dalam pengambilan eksplan. Walaupun konsentrasi hormon 2.4-D yang diberikan sama, tetapi respon dari kedua eksplan belum tentu sama. Eksplan dengan teknik non TCL memiliki ukuran yang lebih besar 10 kali dibandingkan dengan eksplan TCL. Perbedaan ukuran eksplan mampu mempengaruhi pertumbuhan eksplan, karena penggunaan eksplan dengan teknik TCL memiliki ukuran 10 kali lebih tipis dan memiliki permukaan yang luka akibat sayatan. Adanya pelukaan pada eksplan dapat mengeluarkan senyawa fenolat yang akhirnya dapat menimbulkan *browning* pada eksplan. Salah satu faktor yang mempengaruhi persentase hidup eksplan adalah *browning*. Hu *et al.* (2022), mengemukakan bahwa tanaman yang mengalami luka akan mengeluarkan senyawa fenolat. Senyawa fenolat tersebut terkumpul dalam media yang akan menyebabkan penghambatan penyerapan unsur hara oleh eksplan yang berdampak pada kematian eksplan. Pencoklatan yang terjadi pada beberapa perlakuan pada penelitian ini

dimungkinkan karena kandungan senyawa fenolik dari setiap individu eksplan yang berbeda-beda.

Beberapa konsentrasi 2.4-D terhadap persentase hidup eksplan menunjukkan bahwa konsentrasi 2 mg L<sup>-1</sup> dan 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D sesuai bagi *D. mussauense* baik menggunakan eksplan TCL maupun non TCL. Pemberian hormon auksin dengan konsentrasi yang sesuai mampu mempengaruhi laju pertumbuhan eksplan, Hal ini sesuai dengan pendapat Wijana dan Lasmini(2021), yang menyatakan bahwa efektivitas auksin sintetis terhadap setiap jenis tanaman berbeda-beda, pada konsentrasi optimal dapat memaksimalkan laju pertumbuhan, sedangkan pada konsentrasi yang terlalu rendah atau tinggi dapat menurunkan laju pertumbuhan. Robles-Martinez *et al.* (2016), menyatakan beberapa manfaat penggunaan hormon 2.4-D dari golongan auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, memacu pertumbuhan dan perkembangan kalus kemampuan sel meningkat, mengurangi tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas serta pengembangan dinding sel.

### Waktu Inisiasi Embriogenesis Somatik dan Tahapan Pembentukan Embriogenesis Somatik

Induksi embriogenesis somatik dari eksplan batang anggrek *D. mussauense* menghasilkan waktu muncul embriogenesis somatik yang bervariasi setelah 4 minggu kultur (Tabel 2). Penggunaan eksplan dengan teknik non TCL dengan pemberian 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D mampu memberikan persentase ES yang tinggi sebesar 75% (Tabel 2). Hal ini dapat terjadi karena eksplan non TCL memiliki efektifitas yang berbeda dengan eksplan TCL dalam penyerapan hormon 2.4-D yang diberikan. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Agisimanto (2015), yang menyatakan bahwa eksplan TCL lebih efektif daripada eksplan konvensional yang besar. Eksplan tipis memfasilitasi kontak dan difusi media ke dalam jaringan, lebih baik daripada irisan eksplan yang tebal. Hal ini dikarenakan eksplan dengan irisan tipis memudahkan proses difusi media ke dalam jaringan (Agisimanto, 2015). Eksplan TCL dengan pemberian 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D menghasilkan persentase ES yang lebih rendah dibanding eksplan non TCL. Hal ini dapat terjadi karena pelukaan pada eksplan yang menyebabkan terakumulasinya senyawa fenolat. Senyawa fenolat akan menyebabkan penghambatan penyerapan unsur hara oleh eksplan dan menyebabkan *browning* yang berujung kematian terhadap eksplan.

Pemberian 2.4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik non TCL memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian 2.4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik TCL dalam menginduksi ES anggrek *D. mussauense* (Tabel 2). Pemberian 2.4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik non TCL mampu menginduksi ES anggrek *D. mussauense* pada hari keenam setelah eksplan dikultur. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan efektivitas penyerapan hormon 2.4-D

Tabel 1. Pengaruh beberapa konsentrasi 2.4-D dalam menginduksi ES terhadap persentase hidup eksplan anggrek *Dendrobium mussauense* melalui teknik TCL dan non TCL setelah 4 minggu kultur

| Perlakuan                                      | Percentase Hidup Eksplan (%) |  | Keterangan      |
|--|------------------------------|--|-----------------|
|  | 4 MST                        |  |                 |
| A. a1b1 (Non TCL + 1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 25                           |  | -               |
| B. a1b2 (Non TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 50                           |  | -               |
| C. a1b3 (Non TCL + 3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 0                            |  | <i>Browning</i> |
| D. a1b4 (Non TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 75                           |  | -               |
| E. a2b1 (TCL + 1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 0                            |  | <i>Browning</i> |
| F. a2b2 (TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 50                           |  | -               |
| G. a2b3 (TCL + 3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 25                           |  | -               |
| H. a2b4 (TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 50                           |  | -               |

Keterangan: MST (Minggu Setelah Tanam)

Tabel 2. Pengaruh beberapa konsentrasi 2.4-D dalam menginduksi ES terhadap waktu muncul embriogenesis somatik anggrek *Dendrobium mussauense* melalui Teknik TCL dan non TCL setelah 4 minggu kultur.

| Perlakuan                                      | Percentase eksplan membentuk ES 4 MST (%) | Kisaran waktu muncul ES (hari) |
|--|---|--------------------------------|
| A. a1b1 (Non TCL + 1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 25  | 7                              |
| B. a1b2 (Non TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 50  | 6-13                           |
| C. a1b3 (Non TCL + 3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 0   | 0                              |
| D. a1b4 (Non TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 75  | 6-9                            |
| E. a2b1 (TCL + 1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 0   | 0                              |
| F. a2b2 (TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 50  | 11-13                          |
| G. a2b3 (TCL + 3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 25  | 14                             |
| H. a2b4 (TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | 50  | 11-17                          |

Keterangan: MST (Minggu Setelah Tanam)

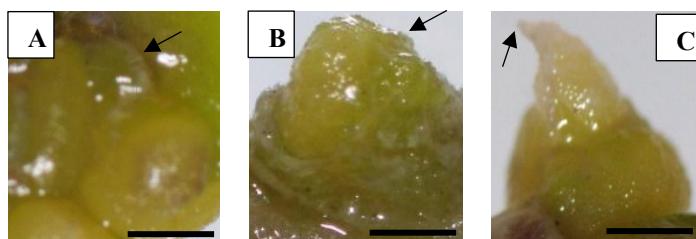
yang diberikan. Eksplan dengan teknik non TCL mampu menginduksi ES 1-1.5 kali lebih cepat, hal ini dapat terjadi karena hormon endogen dan hormon eksogen memiliki konsentrasi yang sesuai. Pada eksplan TCL hormon 2.4-D yang diberikan dan hormon endogen yang diproduksi oleh tanaman kemungkinan berada pada posisi yang kurang sesuai sehingga menyebabkan sel membelah dan membesar secara lambat (Yuniati *et al.*, 2018). Embriogenesis somatik pada anggrek *D. mussauense* terjadi secara langsung (*direct* ES). *Direct* ES dapat terjadi pada satu jenis tumbuhan yang sama bergantung pada jenis eksplan dan spesies tertentu. Pada *direct* ES tahapan embriogenik kurang jelas, karena tidak adanya fase kalus (Fehér, 2015).

Pemberian 2.4-D sebanyak 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik non TCL mampu menginduksi ES pada anggrek *D. mussauense* yang dapat diamati dari fase globular, skutelar dan koleoptilar (Gambar 1). Menurut Alcantara *et al.* (2014), fase globular terbentuk setelah terjadinya pembelahan sel (proembrio) dan menempel pada permukaan eksplan karena adanya suspensor. Perkembangan dari fase globular akan mulai membentuk fase selanjutnya yaitu fase skutelar. Menurut Dewanti *et al.* (2020), embrio yang berkembang pada fase

skutelar akan berdiferensiasi pada bagian apikal embrio yang memiliki susunan sel-sel berukuran kecil sehingga masih aktif membelah. Setelah itu akan memasuki fase koleoptilar yang dimana fase koleoptilar tersebut akan membentuk primordia.

#### Waktu Muncul Tunas dan Waktu Muncul Akar

Induksi embriogenesis somatik dari eksplan batang anggrek *D. mussauense* menghasilkan waktu waktu muncul tunas dan akar yang bervariasi setelah 4 minggu kultur (Tabel 3). Penggunaan eksplan *D. mussauense* dengan teknik non TCL memberikan hasil yang lebih baik untuk waktu muncul tunas pertama dengan kisaran 13-14 hari dan waktu muncul akar pertama dengan kisaran 23-24 hari dibandingkan dengan eksplan TCL (Tabel 3). Hal ini terjadi karena eksplan dengan teknik non TCL memiliki daya tahan hidup yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan TCL. Eksplan non TCL mampu bertahan hidup hingga memiliki tunas dan akar yang akhirnya membentuk planlet. Sebanyak 31.25 % eksplan TCL mampu bertahan hidup hingga membentuk ES pada fase skutelar. Setelah melewati fase tersebut, beberapa hari

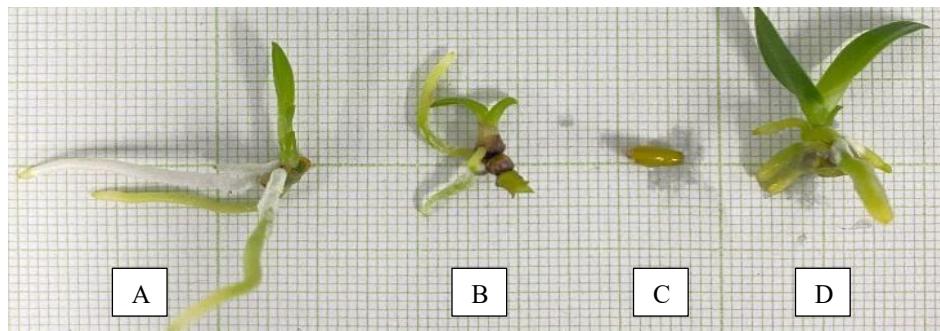


Gambar 1. Perkembangan embriogenesi somatik anggrek *D. mussauense* menggunakan teknik non TCL dengan pemberian  $2 \text{ mg L}^{-1}$  2.4-D setelah 2 minggu kultur. (a) fase globular; (b) fase skutelar; (c) fase koleoptilar. Garis (skala: 0.5 mm).

Tabel 3. Pengaruh beberapa konsentrasi 2.4-D dalam menginduksi ES terhadap waktu muncul tunas dan akar anggrek *Dendrobium mussauense* melalui Teknik TCL dan non TCL.

| Perlakuan                                      | Kisaran waktu muncul tunas (hari) | Kisaran waktu muncul akar (hari) |
|--|-----------------------------------|----------------------------------|
| A. a1b1 (Non TCL+1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)   | 14                                | 24                               |
| B. a1b2 (Non TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 13-17                             | 23-28                            |
| C. a1b3 (Non TCL+3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)   | -                                 | -                                |
| D. a1b4 (Non TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D) | 13-14                             | 23-25                            |
| E. a2b1 (TCL + 1 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | -                                 | -                                |
| F. a2b2 (TCL + 2 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | -                                 | -                                |
| G. a2b3 (TCL + 3 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | -                                 | -                                |
| H. a2b4 (TCL + 4 mg L <sup>-1</sup> 2.4-D)     | -                                 | -                                |

Keterangan: a1b1 (Non TCL + 1 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); a1b2 (Non TCL + 2 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); a1b3 (Non TCL + 3 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); dan a1b4 (Non TCL + 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D); Tanda (-) menunjukkan eksplan tidak membentuk akar.



Gambar 2. Perbandingan morfologi planlet anggrek *Dendrobium mussauense* dengan teknik pengambilan eksplan non TCL dengan pemberian beberapa konsentrasi 2.4-D setelah 8 minggu kultur. (A) 1 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D (B) 2 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D (C) 3 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D (D) 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D.

setelahnya eksplan TCL mengalami *browning* yang akhirnya menyebabkan kematian pada eksplan. Hal ini dapat terjadi karena masih adanya senyawa fenolat yang terakumulasi walaupun eksplan TCL telah mampu berkembang. Pelukaan atau pemotongan eksplan mengakibatkan pelepasan senyawa fenol yang kemudian dioksidasi menjadi *kuinon* oleh *polifenol oksidase* (PPO) dan *peroksidase* (POD). Hal tersebut menyebabkan pencoklatan jaringan dan media (Singh, 2018). Kuinon ini berikatan dengan protein sel menyebabkan gangguan metabolisme sel, penghambatan pertumbuhan yang akhirnya mengakibatkan kematian eksplan (Zhao *et al.*, 2021).

Pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik non TCL mampu memunculkan tunas anggrek *D. mussauense* pada hari ke-13 setelah eksplan dikultur. Yelnititis (2019), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, pertumbuhan tanaman semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman akibat adanya luka irisan sehingga 2,4-D yang ditambahkan akan membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel terutama sel disekitar area luka. Penambahan 2,4-D pada konsentrasi tertentu juga berhasil meningkatkan pertumbuhan beberapa jenis *Dendrobium*. Penelitian Ma *et al.* (2020), menunjukkan

bahwa konsentrasi 2.4-D dalam konsentrasi tinggi sebesar 10 mg L<sup>-1</sup> mampu meningkatkan persentase induksi tunas anggrek *Dendrobium auranticum*.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa anggrek *D. mussauense* yang diberikan 2.4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan eksplan non TCL memiliki akar yang sudah mulai muncul pada minggu keempat setelah kultur (Gambar 2). Pemberian 2.4-D dengan konsentrasi 2 dan 4 mg L<sup>-1</sup> dengan teknik non TCL mampu memunculkan akar anggrek *D. mussauense* pada hari ke-23 setelah eksplan dikultur. Sulasiah *et al.* (2015), menyatakan bahwa media perlakuan dengan penambahan auksin jenis 2.4-D menunjukkan akar tumbuh paling bagus diantara auksin jenis IAA dan NAA. Auksin jenis 2.4-D merupakan auksin sintetis yang memiliki sifat reaksi lebih besar daripada auksin jenis IAA dan NAA.

## KESIMPULAN

Konsentrasi 2 mg L<sup>-1</sup> dan 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D terbukti paling efektif dalam menginduksi ES. Hasil terbaik diperoleh pada perlakuan non-TCL + 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D dengan persentase hidup eksplan 75%, pembentukan ES 75%, waktu muncul tunas 13–14 HST dan pembentukan akar 23–25 HST. Kombinasi teknik non-TCL dan penambahan 4 mg L<sup>-1</sup> 2.4-D memberikan hasil paling optimal untuk induksi ES pada *D. mussauense*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas yang sudah memberikan dukungan selama pelaksanaan kegiatan penelitian ini, sehingga penelitian ini berjalan dengan baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D. 2015. *Thin Cell Layer* Mempercepat Pembuatan Populasi Genotip Unggul. J. Iptek Hort. 11: 67-72.
- Alcantara, G., Dibax, R., de Oliveira, R. A., Bosphalok Filho, J. C., dan Daros, E. 2014. Plant regeneration and histological study of the somatic embryogenesis of sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivars RB855156 and RB72454'. Acta Sci. Agron. 36(1): 63–72. [Doi: https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i1.16342](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i1.16342)
- Arli, N. M., Noli, Z. A., dan Idris, M. 2023. The Application of Plant Growth Regulators in Propagation of *Dendrobium* Orchid with Thin Cell Layer (TCL) Technique: A Review. Int. J. Prog. Sci. Techno. (IJPSAT). 39(2) : 283-290. [Doi: https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5473](https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5473)
- Dewanti, P., Maryam, S. A., Widuri, L.I., Okviandri, P. 2020. Performance of Somatic Embryogenesis Development Under Different 2.4-D and Coconut Water Concentration in Sugarcane Var. Bululawang. Biovalentia. 6(1): 48-54. [Doi: https://doi.org/10.24233/BIOV.6.1.2020.155](https://doi.org/10.24233/BIOV.6.1.2020.155)
- Fehér, A. 2015. Somatic embryogenesis - stress-induced remodeling of plant cell fate. Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech. - Gene Regulatory Mechanisms. 1849(4). [Doi: https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005](https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005)
- Hany, I. P., Noli, Z. A., dan Idris, M. 2023. An Overview: Somatic Embryogenesis Through Thin Cell Layer (TCL) Technique. Int. J. Prog. Sci. Techno. (IJPSAT). 39(2):283-290. [Doi: https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5473](https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5473)
- Hu, W. S., Guan, Y., dan Feng, K. 2022. Biosynthesis of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Fresh-Cut Fruits and Vegetables. Front. Microbiol. 13(906069): 1-8.. [Doi: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.906069](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.906069)
- IUCN 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org> Diakses pada tanggal 14 September 2023.
- Ma, N. L., Khoo, S. C., Lee, J. X., Soon, C. F., dan AB Shukor, N. A. 2020. Efficient micropropagation of *Dendrobium aurantiacum* from shoot explant. Plant Sci. Today. 7(3): 476–482. [Doi: https://doi.org/10.14719/pst.2020.7.3.724](https://doi.org/10.14719/pst.2020.7.3.724)
- Mastuti, R. 2017. *Dasar-dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. UB Press. Malang. Indonesia.
- Media, Noli, Z.A., dan Idris, M. 2023. An Overview: Effect of Plant Growth Regulatory on Orchid Propagation through The Thin Cell Layer technique. Int. J. Prog. Sci. Techno. (IJPSAT). 39(2): 340-345. [Doi: https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5506](https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5506)
- Puccio, P. 2022. *Dendrobium mussauense* Description and Classification. <https://www.monaconatureencyclopedia.com/dendrobium-mussauense-2/?lang>. Diakses pada tanggal 18 September 2023.

- Robles-Martinez, M., Barba-de la Rosa, A.P., Gueroud, F., Negre Salvayre, A., Rossognol, M., Santos Diaz, M.S. 2016. Establishment of Callus and Cell Suspensions of Wild and Domesticated Opuntia Species: Study on Their Potential as A Source of Metabolite Production. Plant Cell Tissue Organ Cult. 124(1): 181–189. [Doi: https://doi.org/10.1007/s11240-015-0886-0](https://doi.org/10.1007/s11240-015-0886-0)
- Rofik, A. 2018. Peluang wirausaha budidaya anggrek *Dendrobium hybrid*. Abdimas Mahakam 2:2549–5755. [Doi: https://doi.org/10.24903/jam.v2i1.288](https://doi.org/10.24903/jam.v2i1.288)
- Singh, C. R. 2018. Review on problems and its remedy in plant tissue culture. Asian J. Bio. Sci. 11(4): 165–172. [Doi: https://doi.org/10.3923/ajbs.2018.165.172](https://doi.org/10.3923/ajbs.2018.165.172)
- Stefenon, V., Ree, J., Pinheiro, M., Goeten, D., Steiner, N., dan Guerra, M. 2020. Advances and constraints in somatic embryogenesis of *Araucaria angustifolia*, *Acca sellowiana*, and *Bactris gasipaes*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 143(2): 1-23. [Doi: https://doi.org/10.1007/s11240-020-01928-w](https://doi.org/10.1007/s11240-020-01928-w)
- Sulasiah, A., Tumilisar, C., dan Lestaria, T. 2015. Pengaruh Pemberian Jenis dan Konsentrasi Auksin terhadap Induksi Perakaran pada Tunas *Dendrobium* sp secara *In Vitro*. BIOMA. 11(2). [Doi: https://doi.org/10.21009/Bioma11\(2\).5](https://doi.org/10.21009/Bioma11(2).5)
- Ulia, S., Z.A. Noli dan M. Idris. 2023. Micropropagation of *Bulbophyllum* Orchids. Int. J. Prog. Sci. Techno. (IJPSAT). 39(2): 319-329. [Doi: https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5492](https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5492)
- Upendri, H.F.L. dan T.H. Seran. 2021. In vitro propagation of turmeric (*Curcuma longa* L.) through direct somatic embryogenesis with reference to types of explants and plant growth regulators: A review. Rev. Investig. Fac. Cienc. Agrar. UNR. 21(38): 1-17. h
- Wijana, W. A., dan Lasmini, S. A. 2021. Pengaruh konsentrasi perendaman auksin terhadap pertumbuhan stek pucuk jambu air (*Syzygium aquaeum* Burn F) varietas madu deli. Agrotekbis. 9(6) : 1542-1549.
- Yelninitis. 2019. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) [Friable callus induction from leaf explant of ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.)]. J. Pemul. Tanam. Hut. 6(3). [Doi: https://doi.org/10.20886/jpth.2012.6.3.181-194](https://doi.org/10.20886/jpth.2012.6.3.181-194)
- Yulianti, F., Arisah, H., dan Agisimanto, D. 2017. Pengujian stabilitas genetik planlet *Citrumelo* hasil TCL dari kultur *in vitro* dengan menggunakan teknik sekuen berulang. J. Hort. Indonesia 27(2): 165-172. [Doi: https://doi.org/10.21082/jhort.v27n2.2017.p165-172](https://doi.org/10.21082/jhort.v27n2.2017.p165-172)
- Yuniati, F., Haryanti, S., dan Prihastanti, E. 2018. Pengaruh hormon dan ukuran eksplan terhadap pertumbuhan mata tunas tanaman pisang (*Musa paradisiaca* var. Raja Bulu) secara *in vitro*. Bul. Anat. Fisio. 3(1), 20–28. [Doi: https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.20-28](https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.20-28)
- Zhao, S., Wang, H., Liu, K., Li, L., Yang, J., An, X., Li, P., Yun, L., dan Zhang, Z. 2021. The role of JrPPOs in the browning of walnut explants. Plant Bio. 21(9):1-12. [Doi: https://doi.org/10.1186/s12870-020-02768-8](https://doi.org/10.1186/s12870-020-02768-8)