

Multiplikasi Tunas dan Induksi Perakaran Pada Perbanyakan *Rhododendron radicans* J.J.Sm (Ericaceae) Secara *In Vitro* [Shoot Multiplication and Root Induction on *In Vitro* Propagation of *Rhododendron radicans* J.J.Sm (Ericaceae)]

Tri Warseno dan Dyan Meiningsasi Siswoyo Putri

Balai Konservasi Tumbuhan Kebun raya 'Eka Karya' Bali - LIPI, Candikuning, Batutiri, Tabanan, Bali, Indonesia 82191

E-mail: tri_06April@yahoo.co.id/triw007@gmail.com

Diterima: 6 Juni 2017; direvisi: 14 Mei 2018; disetujui: 15 Juni 2018

ABSTRAK. *Rhododendron radicans* merupakan tanaman hias yang hanya ditemukan di Sulawesi Tengah dan Utara. Perbanyakan secara massal diperlukan untuk komersialisasi tanaman tersebut. Penelitian bertujuan mendapatkan teknik mikropropagasi secara *in vitro* yang tepat untuk *R. radicans* melalui percobaan pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) pada media kultur. Penelitian terdiri atas dua tahap percobaan. Percobaan 1 perlakuan kombinasi ZPT untuk proliferasi tunas disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan satu faktor, yaitu media (delapan kombinasi media) dengan menggunakan dua konsentrasi IAA (0,1 mg/l dan 1,0 mg/l) dan empat konsentrasi 2iP (0, 6, 7, dan 8 mg/l). Percobaan 2 adalah perlakuan IBA untuk pertumbuhan tunas dan pengakaran menggunakan lima variasi media (M1 = media WPM (kontrol), M2 = media WPM + 0,25 mg/l IBA, M3 = media WPM + 0,5 mg/l IBA, M4 = media WPM + 1 mg/l IBA, M5 = media WPM + 5 mg/l IBA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa media WPM dengan penambahan 1,0 mg/l IAA dan 7,0 mg/l 2iP merupakan media terbaik untuk induksi tunas pada *R. radicans*, dengan jumlah tunas rata-rata $15,80 \pm 3,45$ cm dan tinggi tunas rata-rata $2,36 \pm 0,25$ cm, sedangkan media terbaik untuk induksi akar adalah media M4 (WPM + 1,0 mg/l IBA), dengan persentase eksplan berakar 63,33% dan panjang akar rata-rata 4,7 mm. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai acuan awal untuk melakukan perbanyakan secara massal *R. radicans* dan diharapkan penelitian lebih lanjut dapat dilakukan sampai dengan tahap aklimatisasi.

Kata kunci: Auksin; Media; Mikropropagasi; *Rhododendron radicans*

ABSTRACT. *Rhododendron radicans* is an ornamental plant that found only in Sulawesi (Central and North). Commercialization of this species requires mass propagated plant materials. This study aimed to determine the proper technique for *R. radicans* micropropagation *in vitro*. This study used two stages of treatment i.e (1) treatment of IAA on shoot proliferation *R. radicans* arranged in completely randomized design with one factor (eight medium combination), the concentration of plant growth regulators IAA which consisted of two levels: 0.1 mg/l, and 1 mg/l and concentration of growth regulators 2iP consisting of four levels (0,6, 7, and 8 mg / l); (2) IBA treatment on shoot growth and rooting using five variations of the medium (M1 = WPM (control), M2 = WPM + 0.25 mg/l IBA, M3 = WPM + 0.5 mg/l IBA, M4 = WPM + 1 mg/l IBA; M5 = WPM + 5 mg/l IBA). The results showed that the WPM added with 1 mg/l IAA and 7 mg/l 2iP was the best medium for shoot induction initiated from seed culture, with the average number of shoots 15.80 ± 3.45 cm and an average shoot height of 2.36 ± 0.25 cm. While the best medium for root induction was M4 (WPM + 1 mg / l IBA), with a percentage of 63.33% rooted explants and the average root length of 4.7 mm. The results of this study can be used as a starting point to conduct mass propagation *R. radicans*.

Keywords: Auxin; Medium; Micropropagation; *Rhododendron radicans*

Rhododendron radicans J.J. Sm. merupakan salah satu anggota suku Ericaceae yang berasal dari daerah Sulawesi Tengah dan Utara. Spesies tersebut memiliki potensi sebagai tanaman hias karena memiliki bunga yang unik. Bunganya tersusun secara menyebar ke arah luar dari titik pusat (Argent & Mitchell 2006). Masa berbunga dan berbuah dari jenis tersebut hampir terjadi sepanjang tahun. Lama waktu tunas bunga hingga terbentuk bunga sempurna mencapai 2–3 minggu dan bunga dapat bertahan selama 4–5 minggu hingga terbentuk bakal buah, sedangkan buah bertahan selama 5 minggu sampai dapat menghasilkan biji (Warseno & Putri 2010; Putri 2011). Beberapa penelitian menginformasikan bahwa jenis tersebut diketahui memiliki beberapa varian, yaitu *R. radicans* var.

minahasae (Sleumer) dan *R. radicans* var. *pubitubum* (Sleumer) Argent comb. nov. Keseluruhan varian tersebut hanya dapat ditemukan di Sulawesi Tengah dan Sulawesi Utara. Jenis tersebut termasuk jenis liar yang cukup berpotensi untuk dikembangkan dan dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias (Putri 2011). Koleksi *Rhododendron radicans* J.J. Sm. di Kebun Raya Eka Karya Bali No. akses E200408222, no koleksi 117 diperoleh pada tahun 2004 dalam kegiatan penelitian eksplorasi di kawasan Cagar Alam Tinombala, Desa Labonu, Kecamatan Basidondo, Kabupaten Toli-Toli, Sulawesi Tengah.

Rhododendron memiliki potensi sebagai tanaman hias dan obat-obatan, telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Menurut beberapa penelitian

yang telah dilakukan di Indonesia, potensi lain dari *Rhododendron* adalah sebagai antibakterial (*R. konori* dan *R. macgregoriae*) dan penghasil senyawa flavonoid (*R. javanicum* dan *R. macgregoriae*) (Heyne 1987).

Perbanyak jenis *Rhododendron* alam (*wild type*) secara vegetatif (konvensional) pada umumnya menunjukkan hasil yang sama dengan perbanyak melalui biji, di mana tingkat keberhasilan germinasi bijinya sangat rendah. Propagasi tanaman secara *in vitro* (mikropropagasi) adalah salah satu teknik yang berpotensi untuk memperbanyak koleksi plasma nutfah dan membantu upaya mengkonservasi *Rhododendron* alam yang langka dan dilindungi. Mikropropagasi memberikan keuntungan untuk memperbanyak dan mempertahankan keturunan yang identik dengan induknya secara cepat dan dalam jumlah yang banyak serta dapat disimpan dalam waktu yang lama selama masa kultur dari jenis-jenis tanaman yang berisiko, mempunyai keterbatasan kemampuan reproduksi, dan yang hidup pada habitat yang terancam oleh kerusakan alam (Fay 1992; Singh & Gurung 2009).

Informasi mengenai teknik mikropropagasi jenis *Rhododendron* masih sangat terbatas. Beberapa penelitian mengenai perbanyak jenis *Rhododendron* secara *in vitro* telah dilakukan antara lain pada *R. niveum* Hook. F. (Singh, Rai & Nepal 2013), dan *R. maddenii* Hook. f. (Singh 2008; Singh & Gurung 2009), *R. dalhousiae* var. *rhabdotum*, *R. elliotii*, dan *R. johnstoneanum* (Mao *et al.* 2011), *R. ponticum* subsp. *baeticum* (Boissier & Reuter) (Cantos *et al.* 2007), *R. catawbiense* serta beberapa kultivar *Rhododendron* lainnya (Tomsone & Gertnere 2003; Tomsone, Gertnere & Novikova 2004; Sicuranza & Mitkowski 2007; Vejsadová 2008; Pavingerová 2009). Penelitian-penelitian tersebut dilakukan untuk memperbanyak jenis *Rhododendron* yang memiliki nilai ornamental, endemisitas tinggi, langka, atau yang hampir punah. Penelitian tersebut pada umumnya telah menggunakan eksplan yang berasal dari biji hasil silangan (*hybrid*) dan mikropropagasi jenis *Rhododendron* alam belum banyak dilaporkan sehingga teknik tersebut berpotensi untuk diaplikasikan pada jenis *Rhododendron* alam (*wild type*) terutama untuk tujuan konservasi secara *ex-situ* maupun komersial.

Kehadiran zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat nyata pengaruhnya dalam teknik mikropropagasi (Zulkarnaen 2009). Auksin dan sitokinin merupakan ZPT yang dibutuhkan dalam media kultur jaringan dan diberikan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan. Pada mikropropagasi *Rhododendron* alam, informasi mengenai penelitian penambahan ZPT dalam medium masih sangat kurang. Beberapa penelitian menginformasikan: (1) memperbanyak *R. indicum* menggunakan kombinasi ZPT 2iP, zeatin, dan

thidiazuron TDZ, dengan hasil perlakuan kombinasi 10 mg/l 2iP dan 0,1 mg/l zeatin adalah perlakuan terbaik untuk meningkatkan tinggi tunas dan jumlah nodus, sedangkan perlakuan kombinasi antara 10 mg/l 2iP dan 0,2 mg/l TDZ adalah perlakuan terbaik untuk meningkatkan jumlah tunas pada kultur *R. indicum* (Rahimi 2013), (2) memperbanyak *R. ponticum* subsp. *baeticum* (Boisses & Reuter) menggunakan kombinasi *benzyl adenine* (BA) dan *naphtalene acetic acid* (NAA), dengan hasil eksplan dapat tumbuh baik pada media Anderson dengan penambahan 0,072 mg/l BA dan 0,036 mg/l NAA walaupun tidak membentuk akar (Cantos *et al.* 2007), dan (3) menggunakan kombinasi IAA dan Zeatin untuk jenis *Rhododendron* yang sama, dengan hasil terbaik dalam hal pengakaran secara *in vitro* diperoleh dengan medium Anderson yang dimodifikasi dengan pengurangan hara makro menjadi setengah konsentrasinya, terlepas dari jenis auksin yang digunakan atau konsentrasinya dalam medium (Almeida, Gonçalves & Romano 2005).

Penelitian bertujuan mengetahui jenis dan konsentrasi auksin yang sesuai untuk mikropropagasi *R. radians*, secara khusus untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi *indole acetic acid* (IAA) dan 2iP terhadap proliferasi *R. radians* dan pengaruh penambahan IBA untuk perakaran kultur *R. radians*. Melalui penelitian diharapkan teknologi perbanyak massal *R. radians* yang optimal berhasil ditemukan dan dapat digunakan untuk pengembangan dan perbanyak koleksi *R. radians* lebih lanjut, maupun untuk jenis *Rhododendron* lain yang nantinya diharapkan dapat meningkatkan jumlah koleksi *Rhododendron* Kebun Raya Eka Karya Bali dan pemanfaatannya oleh masyarakat.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan sejak bulan Januari 2015 hingga Desember 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Karya Bali – LIPI. Bahan yang digunakan adalah biji *R. radians* yang berasal dari tumbuhan koleksi Kebun Raya Eka Karya Bali (No. Akses E200408222) yang diperoleh dari Sulawesi Tengah yang ditanam pada ketinggian tempat 1.200 m dpl.

Prosedur Penelitian

Pemanenan biji

Biji dipanen pada tanggal 02 Januari 2015 dari buah matang asal koleksi *R. radians* (*wild type*) yang ditanam di *Nursery* Kebun Raya Bali. Biji diambil menggunakan pinset kemudian dibersihkan

dari kulit buah dan kotoran yang melekat. Biji yang telah dibersihkan disimpan dalam kertas kalkir sebelum disterilisasi dan ditanam dalam media kultur. Untuk mengetahui viabilitas biji dan ada tidaknya embrio, dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop.

Sterilisasi dan Perkecambahan

Biji disteril dengan menggunakan metode sterilisasi permukaan. Biji dimasukkan ke dalam 5% larutan clorox (kandungan bahan aktif 5,25% NaOCl) yang telah ditambahkan dengan Tween 20 sebanyak dua tetes selama 5 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Media MS0 (Murashige & Skoog tanpa penambahan ZPT) yang ditambahkan dengan 2% sukrosa dan 0,7% (w/v) agar dengan pH 5,8 digunakan sebagai media perkecambahan (Murashige & Skoog 1962). Kultur dipelihara pada rak kultur dalam ruang inkubasi dengan diberi cahaya lampu TLD 18 watt 12 jam dalam sehari dan suhu ruangan berkisar antara 20–25°C hingga biji berkecambah (ditandai dengan membukanya bagian kulit biji dan munculnya tunas yang terlihat seperti titik-titik berwarna hijau). Biji yang sudah berkecambah dipindahkan ke media perlakuan induksi tunas dan siap digunakan untuk perlakuan proliferasi. Pada tahap tersebut dilakukan pengamatan terhadap waktu/lama perkecambahan, morfologi kecambah, dan keberhasilan/persentase perkecambahan.

Percobaan 1. Pengaruh IAA dan 2iP Terhadap Proliferasi Tunas *R. radicans* J.J. Sm.

Tahapan ini bertujuan mengetahui media terbaik untuk proliferasi tunas *R. radicans* yang berasal dari kecambah biji. Induksi tunas dilakukan pada media *woody plant medium* (WPM) atau media Anderson (AM) (Anderson 1984) dengan penambahan ZPT 2iP dan IAA pada berbagai taraf konsentrasi dan senyawa anti oksidan yaitu 100 mg/l *polyfinyl pyrrolidone* (PVP) (Singh & Gurung 2009).

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan faktor tunggal, yaitu media. Penelitian menggunakan delapan kombinasi perlakuan media, yaitu media MS dengan penambahan ZPT, yaitu IAA (0,1 dan 1,0 mg/l) dan 2iP (0, 6, 7, dan 8 mg/l). Semua media perlakuan ditambahkan sukrosa 20 g/l dan pematik gelrite 3,5 g/l dan media diatur pada pH 5,8 setiap perlakuan diulang 10 kali. Peubah yang diamati adalah jumlah tunas per eksplan dan tinggi tunas/planlet (cm). Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas dan tinggi tunas/planlet pada saat subkultur (3 minggu setelah tanam) ke botol kultur baru yang berisi media perlakuan yang sama. Pengamatan terhadap jumlah tunas yang terbentuk diamati setiap 2 minggu sekali hingga minggu kedelapan. Pengamatan tinggi

tunas dilakukan pada bulan ketiga dan keenam setelah tanam. Tinggi tanaman diukur dari bagian pangkal tunas sampai ujung tunas tertinggi.

Percobaan 2. Pengaruh *Indole Butiric Acid* (IBA) Terhadap Pertumbuhan Akar

Induksi akar dilakukan dengan mengkultur tunas pada media WPM dengan penambahan lima konsentrasi IBA, yaitu M1 = media WPM (kontrol), M2 = media WPM + 0,25 mg/l IBA, M3 = media WPM + 0,5 mg/l IBA, M4 = media WPM + 1 mg/l IBA, dan M5 = media WPM + 5 mg/l IBA. Keseluruhan media perlakuan ditambahkan senyawa anti oksidan, yaitu 100 mg/l PVP, 100 mg/l asam askorbat, dan 10 mg/l asam sitrat (Singh & Gurung 2009). Sumber karbon yang digunakan adalah sukrosa (20 g/l) dipadatkan dengan menggunakan agar gelrite 3,5 g/l (pH media 5,8).

Pengamatan dilakukan pada bulan keenam setelah tanam untuk mengetahui persentase eksplan yang berakar dan panjang akar (cm). Persentase eksplan yang berakar dihitung dengan membandingkan antara jumlah eksplan yang menunjukkan tumbuhnya akar dengan jumlah eksplan yang ditanam secara keseluruhan.

Analisis Data

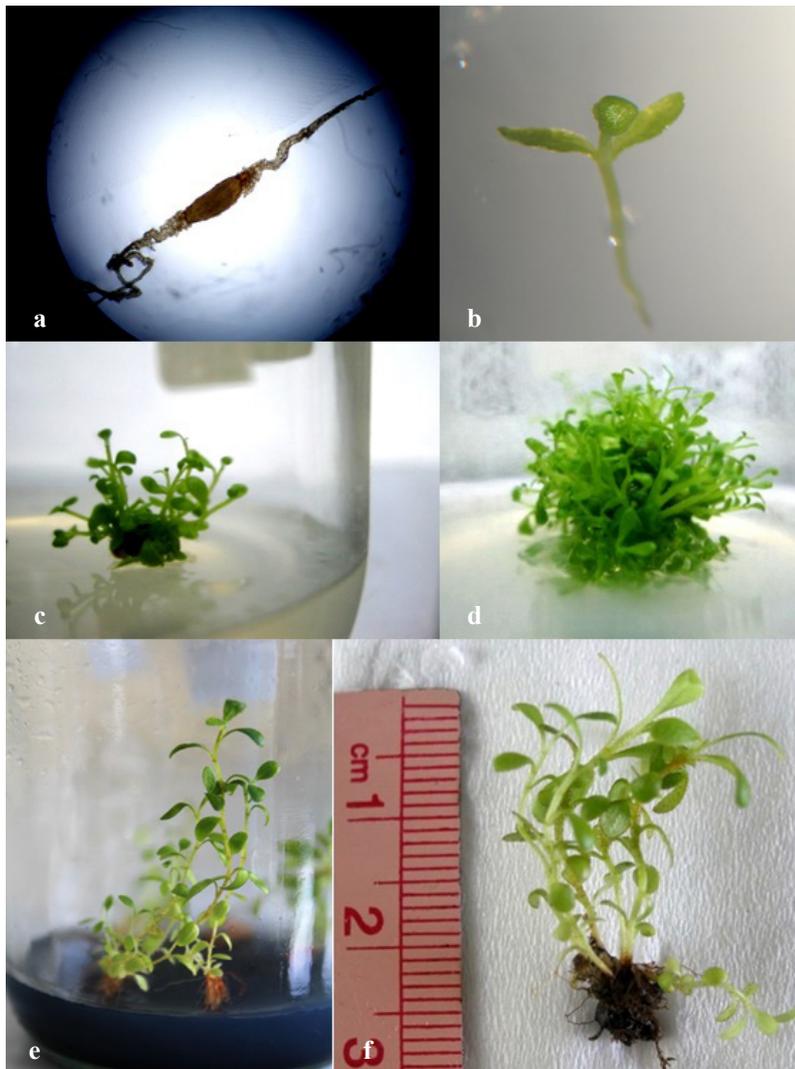
Data yang diperoleh pada penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS 15 untuk uji sidik ragam. Apabila ada nilai yang berbeda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0,05.

$$\% \text{ eksplan berakar} = \frac{\text{Jumlah eksplan berakar}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkecambahan Biji (Kultur biji)

Hasil pengamatan perkecambahan biji (kultur biji) menunjukkan bahwa biji *R. radicans* yang dikultur pada media MS tanpa penambahan ZPT mulai terjadi pada 30–36 hari setelah semai (HSS) dengan tingkat keberhasilan berkecambah sebesar 85%. Morfologi biji *R. radicans* yang berkecambah dapat dilihat pada Gambar 1b. Waktu biji berkecambah yang disemai secara kultur *in vitro* dengan menggunakan metode ini lebih lama dibandingkan dengan hasil penelitian Singh & Gurung (2009), yaitu biji mampu berkecambah pada 15–21 HSS. Perbedaan lama waktu berkecambah tersebut dikarenakan biji yang digunakan juga berbeda, di mana pada penelitian Singh &



Gambar 1. Proses perkecambahan, proliferasi, dan pertumbuhan tunas pengakaran *R. radians*. (a) penampakan mikroskopis biji *R. radians* (pengamatan menggunakan mikroskop, perbesaran 40 X). (b) biji *R. radians* yang berkecambah pada media MS (umur 30 hari) (pengamatan menggunakan mikroskop stereo, perbesaran: 20 X). (c) dan (d) tunas baru. (e) *Plantlet R. radians*. (f) pengukuran panjang akar [(a) *microscopic sightings R. radians seeds (observation using microscope, magnification 40 X)*. (b) *R. radians seeds are germinated on MS medium (age 30 days) (observation using stereo microscope, magnification: 20 X)*, (c) dan (d) *multiple shoots*, (e) *plantlet R. radians*, and (f) *measurement of root length*)

Gurung (2009) biji yang digunakan adalah *R. maddenii* walaupun media perkecambahan yang digunakan sama. Hasil uji perkecambahan secara *in vitro* pada penelitian tersebut lebih cepat apabila dibandingkan dengan biji *Rhododendron* yang disemai secara konvensional yang membutuhkan waktu sekitar 21–30 hari (Warseno & Putri 2010).

Pengaruh Kombinasi 2iP dan IAA Terhadap Proliferasi Tunas *R. radians* J.J.Sm.

Tanaman berkayu pada umumnya sangat sulit beregenerasi sehingga diperlukan manipulasi di dalam media tumbuhnya supaya eksplan mampu melakukan regenerasi membentuk tanaman utuh.

Morfologi tunas *R. radians* yang terbentuk pada media perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1 (c–d). Waktu inisiasi proliferasi tunas dapat dilihat saat pengamatan 14 hari setelah tanam (HST) yang ditandai dengan munculnya daun baru pada ruas atau ketiak daun. Tunas akan tumbuh dan mengeluarkan daun. Dalam satu eksplan tanaman, tunas dapat tumbuh lebih dari 1 sehingga pengamatan jumlah tunas dilakukan tiap 2 minggunya setelah tunas pertama tumbuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan 2iP yang dikombinasikan dengan IAA pada media proliferasi tunas memberikan pengaruh yang signifikan dan berbeda nyata terhadap tinggi tunas *R. radians* jika dibandingkan dengan media tanpa

Tabel 1. Pengaruh kombinasi 2iP dan IAA terhadap jumlah proliferasi tunas pada *R. radicans* (Effect of 2iP in combination with IAA on shoot number of *R. radicans*)

Perlakuan (Treatments)	Zat pengatur tumbuh (Plant growth regulator)	Jumlah tunas (Number of shoot)
0,1 mg/l IAA	0 mg/l 2iP	7,2 ± 2,34 a
	6 mg/l 2iP	9,9 ± 3,72 ab
	7 mg/l 2iP	10,4 ± 3,23 b
	8 mg/l 2iP	10,6 ± 1,89 b
1 mg/l IAA	0 mg/l 2iP	10,2 ± 3,04 b
	6 mg/l 2iP	11 ± 2,90 b
	7 mg/l 2iP	15,8 ± 3,45 c
	8 mg/l 2iP	12,2 ± 4,02 b

Keterangan (Remarks): Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak beda nyata pada uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf uji 5 %, (Mean followed the same letter in the same column are not significantly difference based on Duncan multiple range test (DMRT) $p=0,05$)

Tabel 2. Pengaruh kombinasi 2iP dan IAA terhadap tinggi tunas pada *R. radicans* (Effect of 2iP in combination with IAA on shoot lenght of *R. radicans*)

Perlakuan (Treatments)	Zat pengatur tumbuh (Plant growth regulator)	Tinggi tunas (Shoot length), cm
0,1 mg/l IAA	0 mg/l 2iP	1,4 ± 0,27 a
	6 mg/l 2iP	2,03 ± 0,41 bc
	7 mg/l 2iP	2,09 ± 0,30 bc
	8 mg/l 2iP	2,0 ± 0,74 bc
1 mg/l IAA	0 mg/l 2iP	1,76 ± 0,40 ab
	6 mg/l 2iP	2,04 ± 0,35 bc
	7 mg/l 2iP	2,36 ± 0,25 c
	8 mg/l 2iP	2,05 ± 0,42 bc

Keterangan (Remarks): Lihat Tabel 1 (See Table 1)

Tabel 3. Pengaruh IBA terhadap pembentukan akar pada *R. radicans* (Effect of IBA on root induction on *R. radicans*)

Perlakuan (Treatments)	Persentase eksplan berakar (Percentage of rooting explant), %	Panjang akar (Root Length), mm
Media WPM (Kontrol/ M1)	10,00 a	1,0 a
Media WPM + 0,25 mg/l IBA (M2)	36,67 b	4,0 c
Media WPM + 0,5 mg/l IBA (M3)	40,00 b	4,2 c
Media WPM + 1 mg/l IBA (M4)	63,33 c	4,7 c
Media WPM + 5 mg/l IBA (M5)	26,67 ab	2,4 b

Keterangan (Remarks): Lihat Tabel 1 (See Table 1)

penambahan 2iP (kontrol). Namun, untuk media yang ditambahkan 2iP antarperlakuan tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata (nilai rata-rata jumlah dan tinggi tunas ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2).

Kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas (Flick & Sharp 1993). Penggunaan sitokinin dan auksin dalam satu media perlakuan dapat memacu proliferasi tunas karena adanya pengaruh sinergisme antara ZPT tersebut (Davies 1995).

Pada penelitian media WPM dengan penambahan 1 mg/l IAA dan 7 mg/l 2iP merupakan media terbaik

untuk induksi tunas pada *R. radicans* yang diinisiasi dari kultur biji, dengan jumlah tunas rata-rata 15,80 ± 3,45 cm dan tinggi tunas rata-rata 2,36 ± 0,25 cm, sedangkan media yang menghasilkan jumlah dan tinggi tunas terendah (7,2 ± 2,34 tunas dan 1,4 ± 0,27 cm) adalah media WPM dengan penambahan 0,1 mg/l IAA dan tanpa penambahan 2iP.

Menurut Skoog & Miller (1957), keseimbangan antara sitokinin dan auksin mengatur pertumbuhan bentuk akar, tunas, dan kalus pada kultur *in vitro*. Pembelahan sel dipengaruhi oleh nisbah sitokinin dan auksin yang ditambahkan ke dalam media. Penggunaan auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang tepat dapat

memacu pertumbuhan eksplan, terutama pembentukan daun, tunas, dan ruas pada kultur *in vitro* (Gunawan 1988). Hasil penelitian Vejsadová (2008) membuktikan bahwa ZPT 2iP dan IAA secara signifikan dapat meningkatkan induksi organogenesis dari jaringan meristem tunas vegetatif pada masing-masing kultivar yang digunakan.

Zat pengatur tumbuh 2iP merupakan salah satu sitokinin alami yang banyak digunakan dalam kultur jaringan selain sitokinin yang lain, yaitu zeatin. Dalam kegiatan kultur jaringan sitokinin telah terbukti dapat menstimulasi terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus dan pembentukan tunas, mendorong terjadinya proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar, serta mendorong terjadinya pembentukan klorofil pada kalus. Namun, beberapa laporan menyatakan bahwa pada banyak jenis tanaman lain, ZPT 2iP merupakan sitokinin yang mempunyai daya aktivitas lebih lemah jika dibandingkan dengan sitokinin lainnya sehingga jarang digunakan dalam kultur *in vitro* (Seswita, Mariska & Lestari 1996). Menurut Singh & Gurung (2009), ZPT 2iP merupakan sitokinin yang lebih efektif untuk menginduksi tunas majemuk daripada BA dan kinetin, walaupun pada beberapa kelompok *Rhododendron* lain seperti *Rhododendron Fragrantissimum Improved* ternyata TDZ dengan konsentrasi rendah yang dikombinasikan NAA lebih efektif (Hebert *et al.* 2010).

Pengaruh IBA Terhadap Perakaran

Proses pembentukan akar yang menghasilkan perakaran dengan kualitas yang baik sangat menentukan keberhasilan dalam tahap aklimatisasi pada mikropropagasi tumbuhan secara *in vitro*. Formulasi media yang tepat sangat menentukan kualitas akar tumbuhan hasil mikropropagasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan IBA pada media induksi akar memberikan pengaruh yang signifikan dan berbeda nyata terhadap persentase eksplan yang berakar dan terhadap panjang akar rata-rata dibandingkan dengan media tanpa penambahan IBA (kontrol). Perlakuan media yang ditambahkan dengan IBA juga memberikan pengaruh nyata antar perlakuan lain kecuali pada media M2 (media WPM + 0,25 mg/l IBA) dan M3 (media WPM + 0,5 mg/l IBA). Nilai rata-rata persentase eksplan berakar dan panjang akar ditunjukkan pada Tabel 3.

Pada penelitian ini media yang terbaik untuk proses induksi akar pada mikropropagasi *R. radians* J.J. Sm. adalah media M4 (WPM + 1 mg/l IBA) dengan persentase eksplan berakar 63,33% dan panjang akar rata-rata 4,7 mm, sedangkan media yang menghasilkan persentase eksplan berakar dan panjang akar rata-rata yang terendah (10% dan 1 mm) adalah media M1,

yaitu media WPM tanpa penambahan IBA (kontrol). Hal tersebut membuktikan bahwa adanya penambahan IBA dalam media dapat meningkatkan proses terbentuknya akar pada eksplan. Pengaruh IBA pada mikropropagasi tumbuhan telah banyak dilaporkan dapat meningkatkan pengakaran melalui translokasi karbohidrat dan nutrisi lainnya ke zona perakaran (Middleton, Jarvis & Booth 1980). Himanen *et al.* (2002) dan Pierik (1987) menyatakan bahwa auksin dalam hal ini adalah IBA dapat memicu terjadinya pemanjangan dan pembelahan sel meristem di dalam jaringan kambium sehingga diperlukan untuk pembentukan akar dalam mikropropagasi tumbuhan secara *in vitro*. IBA merupakan auksin sintetik yang sering digunakan untuk menginduksi perakaran *in vitro* dalam konsentrasi yang rendah selain NAA (Doldds 1995). Konsentrasi yang diperlukan dalam menginduksi akar bervariasi, tergantung dari jenis tumbuhan, jenis eksplan, dan jenis auksin yang digunakan.

Persentase eksplan yang berakar hasil penelitian ini lebih kecil daripada hasil penelitian Singh & Gurung (2009) pada konsentrasi IBA yang sama. Penelitian Singh & Gurung (2009) menunjukkan bahwa persentase eksplan yang berakar terbanyak dihasilkan pada media AM (Anderson medium)/ WPM dengan penambahan 0,5 mg/l IAA (55%) dan 0,2 mg/l IBA (93%) dengan jumlah akar terbanyak ($6,3 \pm 0,33$) juga dihasilkan pada media dengan penambahan 0,2 mg/l IBA. Hasil penelitian Singh (2008) menunjukkan bahwa induksi akar secara *in vitro* *R. maddenii* Hook. f. terbaik dihasilkan pada media Anderson cair dengan penambahan arang aktif 1% (w/v) dan 0,2 mg/l IBA.

Penggunaan media Anderson/WPM dengan $\frac{1}{2}$ konsentrasi ($\frac{1}{2}$ AND) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada media AND dengan konsentrasi penuh dalam hal pengakaran secara *in vitro* *R. ponticum* L. subsp. baeticum (Boissier & Reuter). Media $\frac{1}{2}$ AND dengan ZPT 2 mg/l NAA menunjukkan frekuensi pengakaran sebesar 79% dan rata-rata jumlah akar per planlet adalah tujuh, sedangkan planlet yang memiliki rata-rata akar terpanjang terdapat pada perlakuan media $\frac{1}{2}$ AND + 1 mg/l IBA yaitu 26,9 mm (Almeida, Gonçalves & Romano 2005).

KESIMPULAN DAN SARAN

Media WPM dengan penambahan 1 mg/l IAA dan 7 mg/l 2iP merupakan media terbaik untuk induksi tunas majemuk pada *R. radians* yang diinisiasi dari kultur biji di mana jumlah tunas rata-rata yang dihasilkan adalah $15,80 \pm 3,45$ cm dan tinggi tunas rata-rata

2,36 ± 0,25 cm. Media terbaik untuk induksi akar pada mikropropagasi *R. radians* adalah media M4 (WPM + 1 mg/l IBA), dengan persentase eksplan berakar 63,33% dan panjang akar rata-rata 4,7 mm.

Metode propagasi secara *in vitro* dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan awal untuk melakukan perbanyakan secara massal *R. radians*, walaupun masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk tahap aklimatisasi planlet di rumah kaca.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Luh Aryani dan Muhammad Adenan Teknisi Litkayasa BKT Kebun Raya Eka Karya Bali – LIPI yang telah banyak membantu dalam pemanenan biji *R. radians*.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, R, Gonçalves, S & Romano, A 2005, 'In vitro micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. subsp. baeticum (Boissier & Reuter) Handel-Mazzetti', *Biodiversity & Conservation*, vol. 14, no. 5, pp. 1059–1069.
- Anderson, WC 1984, 'A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron*', *Journal American Society for Horticultural Science*, vol. 109, pp. 343–347.
- Argent, G & Mitchell, D 2006, *Rhododendrons of subgenus Vireya*, Royal Botanical Garden, Edinburgh.
- Cantos, M, Juana, L, Jose, LG, Maria, GL, Miguel, AD & Antonio, T 2007, 'The use of *in vitro* culture to improve the propagation of *Rhododendron ponticum* subsp. baeticum (Boisser & Reuter)', *Open Life Sciences*, vol. 2, no. 2, pp. 297–306.
- Davies, PJ 1995, *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*, Kluwen Academic Publisher, Dordrecht, Boston, London.
- Doldds, H. and L. R 1995, 'Experiments in plant tissue culture', *Cambridge University Press*.
- Fay, MF 1992, 'Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods', *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, vol. 28, no. 1, pp. 1–4.
- Flick, C, DA, E & Sharp, W 1993, 'Organogenesis', in Evans, DA, Sharp, WR, Amirato, PV & Yamada, T (eds.), *Handbook of Plant Cell Culture Collier*, Macmillan Publisher, London, pp. 13–18.
- Gunawan, LW 1988, *Teknik kultur jaringan*, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, PAU Bioteknologi, IPB, Bogor.
- Hebert, CJ, Touchell, DH, Ranney, TG & LeBude, A V 2010, 'In vitro shoot regeneration and polyploid induction of *Rhododendron* 'Fragrantissimum improved'', *HortScience*, vol. 45, no. 5, pp. 801–804.
- Heyne, K 1987, *Tumbuhan berguna Indonesia*, Cetakan I Terjemahan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan RI, Jakarta.
- Himanen, K, Boucheron, E, Vanneste, S, de Almeida Engler, J, Inzé, D & Beeckman, T 2002, 'Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation', *The Plant Cell*, vol. 14, no. 10, pp. 2339–2351.
- Mao, AA, Kaliamoorthy, S, Ranyaphi, RA, Das, J, Gupta, S, Athili, J, Yumnam, JY & Chanu, LI 2011, 'In vitro micropropagation of three rare, endangered, and endemic *Rhododendron* species of Northeast India', *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, vol. 47, no. 6, pp. 674–681.
- Middleton, W, Jarvis, BC & Booth, A 1980, 'The role of leaves in auxin and boron-dependent rooting of stem cuttings of *Phaseolus aureus* roxb', *New Phytologist*, vol. 84, no. 2, pp. 251–259.
- Murashige, T & Skoog, F 1962, 'A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures', *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, pp. 473–497.
- Pavingerová, D 2009, 'The influence of thidiazuron on shoot regeneration from leaf explants of fifteen cultivars of *Rhododendron*', *Biologia Plantarum*, vol. 53, no. 4, pp. 797–799.
- Pierik, RIM 1987, *In vitro culture of higher plants*, Martinus Nijhoff, Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- Putri, DM 2011, 'Fenologi *Rhododendron* spp.(subgenus Vireya) Koleksi Kebun Raya Eka Karya Bali', *J. Hort.*, vol. 21, no. 3, pp. 232–244.
- Rahimi, S 2013, 'Plant hormones and interaction of plant growth regulator on tissue culture of *Rhododendron indicum* (satsuki azalea)', *Adv. Genet. Eng.*, vol. 2, no. 3.
- Seswita, D, Mariska, I & Lestari, EG 1996, 'Mikropropagasi nilam penampakan khimera hasil radiasi pada kalus', *Prosiding Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Jakarta, pp. 9–10.
- Sicuranza, J & Mitkowski, NA 2007, 'The production of callus, shoot, and rooted plantlets of *Rhododendron catawbiense* 'English Roseum' from Florets', *HortScience*, vol. 42, no. 2, pp. 410–411.
- Singh, KK 2008, 'In vitro plant regeneration of an endangered Sikkim Himalayan *Rhododendron* (*R. maddenii* Hook. f.) from Alginateencapsulated shoot tips', *Biotechnology*, vol. 7, no. 1, pp. 144–148.
- Singh, KK & Gurung, B 2009, 'In vitro propagation of *R. maddenii* Hook. F. an endangered *Rhododendron* species of Sikkim Himalaya', *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, vol. 37, no. 1, p. 79–83.
- Singh, KK, Rai, LK & Nepal, LH 2013, 'In vitro propagation of *Rhododendron niveum* Hook F (state tree of Sikkim) an endangered *Rhododendron* species of Sikkim Himalaya', *Cibtech J Biotechnol*, vol. 2, no. 1, pp. 53–60.
- Skoog, F & Miller, CO 1957, 'Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro', *Symposia of the Society for Experimental Biology*, vol. 11, pp. 118–131.
- Tomsone, S & Gertnere, D 2003, 'In vitro shoot regeneration from flower and leaf explants in *Rhododendron*', *Biologia plantarum*, vol. 46, no. 3, pp. 463–465.
- Tomsone, S, Gertnere, D & Novikova, D 2004, 'The influence of thidiazuron on shoot regeneration and proliferation of *Rhododendrons* in vitro', *Acta Universitatis Latviensis Ser. Biologia*, vol. 676, pp. 239–242.
- Vejsadová, H 2008, 'Growth regulator effect on in vitro regeneration of *Rhododendron* cultivars', *Horticultural Science*, vol. 35, no. 2, pp. 90–94.

29. Warseno, T & Putri, D 2010, 'Studi sterilisasi *Rhododendron* radians J.J Smith secara In Vitro', *Prosiding Nasional Hortikultura Indonesia*, Perherti, Bali, pp. 786–791.
30. Zulkarnaen 2009, *Kultur jaringan tanaman : Solusi perbanyakan tanaman budaya*, Bumi Aksara, Jakarta.