

PENGARUH KOSENTRASI NAA DAN TDZ (THIDIAZURON) TERHADAP ORGANOGENESIS KALUS KENCUR (*Kaempferia galanga* L.)

Nada Kholifah¹, Anis Shofiyani*¹, Agus Mulyadi Purnawanto¹, Ender Puspawiningtyas²
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Perikanan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik dan Sain, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jawa Tengah
e-mail : shofiyanianis@gmail.com

ABSTRACT

The production of kencur (*Kaempferia galanga* L.) with tissue culture is an alternative in kencur plant cultivation as a provider of seeds. In tissue culture, growth regulators can affect the formation of plant organs (organogenesis). The combination of growth regulators NAA and TDZ was used in this study to induce callus kencur organogenesis. The purpose of this research was to determine the effect of giving NAA and TDZ on the organogenesis of kencur callus, as well as the optimal combination of the two in the organogenesis of kencur callus. The design used was factorial RAL with two factors: NAA (0; 0.5 and 1 ppm) and TDZ (0; 2 and 4 ppm). Observation variables included number of shoots, shoot length, number of leaves, leaf length, number of roots, root length, fresh weight, and the first shoots appeared. The results showed that the single NAA treatment affected the number of shoots, number of leaves, number of roots, root length, and fresh weight. In comparison, the single TDZ treatment affected shoot length, leaf length, number of roots, root length, and fresh weight. The optimal treatment combination was 1 ppm NAA and 2 ppm TDZ (NIT2), which gave the highest number of shoots. Higher concentrations of cytokinins can stimulate shoot growth.

Keywords: *Kaempferia galanga* L, organogenesis, TDZ, and NAA

Diterima: 15 November 2022

Diterbitkan: 1 Desember 2022

LATAR BELAKANG

Kencur (*Kaempferia galanga* L) merupakan tanaman dari suku *Zingiberaceae* atau suku temu – temuan yang tergolong ke dalam tanaman obat. Menurut Nie dkk. (2012) kencur berfungsi dalam mengobati radang lambung, muntah – muntah, tetanus, nyeri, memperlancar haid, influenza dan sakit kepala. Kelemahan budidaya kencur menggunakan rimpang diantaranya biaya yang dikeluarkan banyak, rawan akan penyakit dan hama tanaman, serta ketika musim kemarau produktivitas akan menurun (Rahman dkk., 2005). Rimpang akan mengalami dormansi pada musim kemarau sehingga penanaman kencur biasanya dilakukan pada musim hujan (Samanhudi dkk., 2021). Oleh karena itu, bibit harus ada disetiap waktu tidak mengenal musim sehingga budidaya kencur berjalan dengan lancar.

Demi memenuhi kebutuhan bibit untuk menggantikan rimpang, maka pengadaan bibit dapat dilakukan secara kultur jaringan atau *in vitro*. Teknik perbanyak secara *in vitro* khususnya melalui organogenesis kalus tidak membutuhkan waktu yang lama untuk

meningkatkan pembentukan bibit baru. Keberhasilan penyediaan bibit *in vitro* melalui organogenesis kalus salah satunya dipengaruhi penambahan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang mampu mengoptimalkan pembelahan sel untuk pembentukan tanaman. Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan dalam media untuk induksi organogenesis seperti Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Thidiazuron (TDZ). Berdasarkan hasil penelitian Lestari dan Hutami (2005) pemberian TDZ 0,1 mg/L pada media dasar MS dan vitamin serta penambahan BA (3 mg/L dan 5 mg/L) dapat meningkatkan jumlah tunas. Menurut Erisen dkk. (2011) menyatakan bahwa kombinasi TDZ dan NAA dapat menginduksi pertumbuhan regenerasi tunas adventif dari tangkai daun dan daun *Astragalus cariensis*. Dibandingkan dengan IBA yang dikombinasikan dengan NAA atau IBA tunggal, pemberian TDZ menginduksi multiplikasi pucuk lebih baik. Pemberian TDZ 1 ppm meningkatkan berat basah PLB 34 g dan jumlah PLB sebanyak 40, sedangkan pada perlakuan kontrol (tanpa TDZ) akan

membentuk sistem perakaran yaitu jumlah akar dan panjang akar masing-masing 5,5 akar dengan rerata panjang akar 16 cm. Sebaliknya, dengan pemberian TDZ justru tidak memunculkan system perakaran melainkan terjadi perkembangan PLB (Restanto dkk., 2018).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian TDZ dan NAA pada proses organogenesis kalus kencur.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2021 sampai dengan April 2022 di Labolatorium Rekayasa Tanaman dan Labolatorium Agroteknologi Dasar, Fakultas Pertanian dan Perikanan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Beberapa alat yang digunakan meliputi autoklaf seri No. B0010752, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), pH meter Ohaus Starter 3100, timbangan digital Ohaus scout, *beaker glass* pirex, gelas ukur pirex, pipet tetes, mikropipet scilogex iso 9001/13485 certified, *hot plate and magnetic stirrer*. Bahan yang digunakan meliputi eksplan kalus kencur varietas Galesia 2, agar – agar, sukrosa, NAA, TDZ, alkohol 70 %, alkohol 96%, aquades, NaOH 1 N, HCL 1 N, MS dengan vitamin (Media Standar)

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama yaitu NAA dengan 3 taraf (N0: 0 ppm; N0.5: 0,5 ppm; dan N1: 1 ppm) dan faktor kedua yaitu TDZ dengan 3 taraf (T0: 0 ppm; T2: 2 ppm; T4: 4 ppm), sehingga didapatkan 9 perlakuan. Masing – masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali setiap ulangan terdiri dari 3 sampel.

Variabel yang diamati untuk proses organogenesis kalus kencur diantaranya jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, panjang daun, jumlah akar, panjang akar, bobot segar, dan waktu pertama muncul tunas. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif yang dianalisis menggunakan DMRT taraf 5% pada aplikasi SPSS 23.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Tunas

Penambahan NAA secara tunggal berpengaruh nyata pada jumlah daun yang

terbentuk, dimana perlakuan 1 ppm (N1) memberikan jumlah tunas lebih banyak mencapai 2,03 tunas. Terjadi interaksi antara kombinasi perlakuan NAA dan TDZ dimana hasil terbaik pada kombinasi NAA 1 ppm dan TDZ 2 ppm (N1T2) dengan jumlah tunas 3,10. Perlakuan ini tidak berbeda dengan perlakuan NAA 0.5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4) dengan rata – rata jumlah tunas 2,50. Perlakuan dengan jumlah terendah yaitu pada perlakuan NAA 0 ppm dan TDZ 0 ppm (N0T0) dengan jumlah tunas 1,11.

Penambahan auksin dengan konsentrasi rendah memberikan pengaruh pada pembentukan tunas, dimana pada proses pembentukan tunas auksin berperan dalam memobilisasi sel – sel sehingga terjadi pembengkakan eksplan yang mengarah pada terbentuk tunas (Rainiyati dkk., 2009). Hasil penelitian Sutriana dkk (2014) pada eksplan tanaman anggrek secara *in vitro*, dimana penambahan NAA 1 ppm secara tunggal memberikan pengaruh jumlah tunas paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Penelitian lain pada tanaman krisan secara *in vitro* oleh Dinika dkk. (2021), pemberian NAA 1 ppm tanpa penambahan sitokinin eksogen dapat menumbuhkan tunas. Auksin yang diserap oleh jaringan tanaman akan mengaktifkan energi cadangan makanan dan meningkatkan pembelahan sel, pemanjangan dan diferensiasi sel yang pada akhirnya membentuk tunas dan proses pemanjangan tunas (Astutik dkk., 2021). Pada perlakuan tunggal sitokinin berupa TDZ tidak memberikan pengaruh nyata pada hasil penelitian. Hal ini dikarenakan konsentrasi sitokinin yang tinggi akibat adanya sitokinin endogen. Konsentrasi sitokinin yang tinggi akan menghambat pemanjangan meristem adventif dan pembentuka menjadi tanaman lengkap (Buising dkk. 1994).

Panjang Tunas

Penambahan TDZ secara tunggal sebanyak 4 ppm (T4) memberikan pengaruh lebih baik pada panjang tunas dibandingkan dengan penambahan TDZ sebanyak 2 ppm (T2) yaitu masing-masing sebesar 1,16 dan 1,05 cm. Menurut Guo dkk (2011), peran dari TDZ yang tergolong sitokinin yaitu merangsang pemanjangan tunas dan pembentukan tunas.

Tabel 4. 1. Pengaruh konsentrasi NAA dan TDZ terhadap beberapa variabel pengamatan organogenesis kalus kencur dalam penelitian

| PERLAKUAN | VARIABEL PENGAMATAN | | | | | | | |
|------------------|----------------------|--------------------|---------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-----------------|------------|
| | Jumlah Tunas (tunas) | Panjang Tunas (cm) | Jumlah Daun (helai) | Panjang Daun (cm) | Jumlah Akar (akar) | Panjang Akar (cm) | Berat Segar (g) | WPMT (HST) |
| NAA | | | | | | | | |
| N0 | 1,30a | 1,09a | 1,63ab | 0,99a | 2,67a | 1,21a | 1,84a | 26,00a |
| N0.5 | 1,76b | 1,07a | 1,45a | 0,97a | 3,92b | 1,36b | 2,12b | 19,42a |
| N1 | 2,03b | 1,06a | 1,84b | 1,01a | 2,97a | 1,26a | 2,14b | 18,25a |
| TDZ | | | | | | | | |
| T0 | 1,44a | 1,01a | 1,43a | 0,95a | 2,66a | 1,17a | 1,85a | 19,00a |
| T2 | 1,83a | 1,05a | 1,76a | 0,97ab | 3,27b | 1,27b | 2,09b | 20,83a |
| T4 | 1,83a | 1,16b | 1,73a | 1,04b | 3,63b | 1,40c | 2,16b | 23,83a |
| INTERAKSI | | | | | | | | |
| N0T0 | 1,11a | 0,96a | 1,34abc | 0,88a | 2,55a | 1,13a | 1,44a | 28,50a |
| N0T2 | 1,36ab | 1,18b | 1,88cde | 1,03b | 2,56a | 1,13a | 1,80b | 23,75a |
| N0T4 | 1,44ab | 1,16b | 1,65cde | 1,03b | 2,91ab | 1,40de | 2,27ef | 25,75a |
| N0.5T0 | 1,73ab | 0,92a | 1,11a | 0,87a | 2,51a | 1,17ab | 1,95c | 12,50a |
| N0.5T2 | 1,04a | 0,93a | 1,18ab | 0,84a | 4,766c | 1,41de | 2,30f | 20,75a |
| N0.5T4 | 2,50bc | 1,37c | 2,06de | 1,20c | 4,48c | 1,48e | 2,12d | 25,75a |
| N1T0 | 1,47ab | 1,16b | 1,84cde | 1,09b | 2,92ab | 1,20ab | 2,15de | 16,00a |
| N1T2 | 3,10c | 1,06ab | 2,23e | 1,04b | 2,49a | 1,27bc | 2,18ef | 18,00a |
| N1T4 | 1,54ab | 0,96a | 1,46bcd | 0,89a | 3,51b | 1,32cd | 2,08c | 20,75a |

Keterangan :

WPMT = Waktu Pertama Muncul Tunas (HST), Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom variabel yang diamati yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada taraf 5%.

Dibandingkan BAP, TDZ dapat memberikan panjang tunas dan proliferasi tunas yang lebih baik pada tanaman pisang (Gubbuk dkk., 2004).

Perlakuan kombinasi antara NAA dan TDZ memberikan pengaruh yang nyata pada organogenesis kalus kencur. Kombinasi perlakuan optimal pada NAA 0.5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4) dengan panjang tunas mencapai 1,37 cm. Dibandingkan dengan perlakuan NAA 0 ppm dan TDZ 0 ppm (N0T0) dengan panjang tunas 0,96 cm dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 0 ppm (N0.5T0), NAA 0,5 ppm dan TDZ 2 ppm (N0.5T2), NAA 1 dan TDZ 2 ppm (N1T2), NAA 1 ppm dan TDZ 4 ppm (N1T4). Hasil penelitian Supriyadi dkk (2017) pada tanaman sarang semut secara in vitro, kombinasi NAA dan TDZ memberikan pengaruh nyata pada tinggi tanaman. TDZ dan NAA dapat bekerja sama dalam pembelahan dan pemanjangan sel. Menurut Ningrum dkk. (2017) struktur yang dimiliki oleh TDZ mirip dengan basa nukleotida adenin yang merupakan salah satu precursor pembelahan

sel sehingga dapat meingkatkan pembelahan sel. Menurut Mawaddah dkk. (2021) jumlah tunas mempengaruhi tinggi rendahnya panjang tunas eksplan contohnya pada eksplan Globba. Rata – rata panjang tunas semakin rendah seiring dengan penambahan jumlah tunas.

Jumlah Daun

Perlakuan NAA secara tunggal memberikan pengaruh nyata, dimana perlakuan terbaik pada NAA 1 ppm (N1) dengan daun sebanyak 1,84 helai. Sejalan dengan penelitian Weindi dan Yudhanto, (2015), dimana penambahan NAA sebanyak 1 ppm memberikan pengaruh jumlah daun lebih banyak dibandingkan perlakuan 2 ppm pada tanaman kantong semar secara in vitro. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Suminar dkk (2017) menunjukkan pemberian TDZ 0,01 mg/L berpengaruh nyata pada jumlah daun yang terbentuk pada ekplan tanaman benih kedelai secara in vitro. Hasil penelitian Karjadi dan Buchory (2008) pada jaringan meristem tanaman kentang kultivar, pemberian NAA 0,1 ppm secara tunggal menghasilkan jumlah daun

sebanyak 4,67 buah lebih banyak dibandingkan perlakuan lain.

Kombinasi perlakuan NAA dan TDZ yang memberikan jumlah daun terbanyak pada NAA 1 ppm dan TDZ 2 ppm (N1T2) dengan jumlah daun sebanyak 2,23 helai. Sedangkan perlakuan NAA 0,5 ppm dan tanpa pemberian TDZ (N0.5T0) memberikan pengaruh terendah dengan jumlah daun 1,11 helai. Interaksi dan keseimbangan ZPT yang ditambahkan pada media kultur (eksogen) dan ZPT yang telah terkandung pada eksplan (endogen) dapat mengendalikan jumlah daun yang muncul (Shalifah dkk., 2011). Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan hasil penelitian Indriani dkk. (2017) pemberian NAA 1 mg/L dan TDZ 1 mg/L memberikan pengaruh tidak nyata terhadap jumlah daun eksplan kunyit (*Curcuma Domestica* Val). Berdasarkan hasil penelitian Golle dkk. (2010) pada tanaman *Eugenia involucrate* secara *in vitro*, penggabungan NAA dan TDZ tidak efektif dalam mendorong produksi daun *E. involucrate*. Menurut Silva dkk (2013) konsentrasi TDZ yang tinggi dapat memberikan rata – rata terkecil pada kultur tanaman *Caesalpinia pyramidalis* (Leguminosae).

Panjang Daun

Perlakuan TDZ secara tunggal memberikan pengaruh pada panjang daun. Pemberian TDZ 4 ppm (T4) memberikan panjang daun paling panjang mencapai 1,04 cm. Kombinasi perlakuan NAA dan TDZ memberikan pengaruh nyata pada panjang daun dengan perlakuan optimal yaitu NAA 0,5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4). Sedangkan perlakuan paling rendah yaitu pada perlakuan NAA 0.5 ppm dan TDZ 2 ppm (N0.5T2) dengan panjang 0,84 cm. Perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0.5 ppm dan TDZ 0 ppm (N0.5T0) dan perlakuan tanpa penambahan ZPT (N0T0) dengan panjang daun 0,88 cm.

Sakina dkk. (2019) melaporkan pemberian NAA sebanyak 2,5 ppm memberikan pengaruh pada panjang daun terpanjang sebesar 1,03 cm. Hasil penelitian Widiastoety (2014) interaksi antara auksin dan sitokinin pada planlet anggrek memberikan pengaruh panjang tunas mencapai 6 cm. Lebih lanjut Widiastoety

(2014), panjang daun meningkat akibat adanya percepatan pembelahan sel sehingga mendorong adanya diferensiasi. Proses pembelahan ini membutuhkan adanya energi yang berasal dari auksin dan sitokinin serta nutrisi pada media. Pada hasil penelitian yang dilakukan penambahan auksin berupa NAA pada kalus kencur dengan konsentrasi 0,5 ppm memberikan pengaruh ketika dikombinasikan dengan TDZ pada konsentrasi 4 ppm. Menurut Suhentaka dan Sobir (2010) interaksi antara auksin berpengaruh pada peningkatan ukuran dan pertumbuhan sel karena auksin berperan dalam pembesaran sel sedangkan sitokinin berperan dalam pembelahan sel. Pemanjangan sel yang terjadi akibat adanya interaksi kedua ZPT mempengaruhi organ daun memanjang sehingga mengakibatkan adanya pertumbuhan panjang daun (Sakina dkk. 2019). Menurut Lestari dkk. (2017) pemanjangan sel akibat adanya perenggangan dinding sel merupakan pengaruh adanya kerja hormon auksin. Pertumbuhan panjang daun dipengaruhi oleh konsentrasi auksin yang optimal. Hormon auksin pada dosis yang optimum akan mempengaruhi pertumbuhan panjang daun.

Jumlah Akar

Pada kombinasi antara NAA dan TDZ menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap variabel pengamatan jumlah akar. Perlakuan terbaik dengan rata – rata tertinggi pada kombinasi perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 2 ppm (N0.5T2) yaitu sebanyak 4,76 akar dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4) dengan jumlah akar sebanyak 4,48 akar. Sedangkan jumlah akar pada perlakuan tanpa pemberian ZPT (N0T0) mencapai 2,55 akar.

Pembentukan tunas pada eksplan secara langsung akibat adanya rasio antara sitokinin:auksin dengan level tinggi. Akar cenderung akan terbentuk akibat adanya pemberian auksin secara tunggal. Apabila rasio auksin sitokinin tinggi maka pada umumnya akan terbentuk akar (Friedman dkk., 1985). Menurut Sari dkk. (2015) Naphthaleneacetic Acid (NAA) adalah kelompok auksin yang berperan dalam menginisiasi akar dan mendorong pembentangan. Pemberian NAA 0.5 ppm dapat memberikan pengaruh dikarenakan adanya hormon sitokinin endogen pada kalus

sehingga dapat mengoptimalkan. Menurut Saptari (2017) hormon sitokinin dan auksin secara endogen atau eksogen akan mempengaruhi meristem unipolar yaitu adanya pertumbuhan primordia akar atau primordia tunas. Sedangkan perlakuan dengan rata – rata paling rendah yaitu pada perlakuan kontrol (N0T0) dengan jumlah akar 2,55 buah. Pada perlakuan ini tidak ada penambahan ZPT baik NAA maupun TDZ.

Panjang Akar

Kombinasi perlakuan NAA dan TDZ berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan panjang akar. Rata – rata panjang akar terpanjang yaitu pada kombinasi perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4) dengan panjang akar mencapai 1,48 cm. Perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 4 ppm (N0.5T4) tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0 ppm dan TDZ 4 ppm (N0T4) dengan panjang akar 1,40 cm dan NAA 0,5 ppm dan TDZ 2 ppm (N0.5T2). Sedangkan rata – rata perlakuan terpendek yaitu pada perlakuan tanpa pemberian ZPT (N0T0) dengan panjang akar 1,13 cm. perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0 ppm dan TDZ 2 ppm (N0T2) dengan panjang 1,13 cm, NAA 0,5 ppm dan TDZ 0 ppm (N0.5T0) dengan panjang 1,17 cm, serta pada perlakuan NAA 1 ppm dan TDZ 0 ppm (N1T0) dengan panjang 1,20 cm.

Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Prasiwi dan Tatik (2018), dimana perlakuan tanpa tambahan TDZ memiliki panjang akar paling panjang dibandingkan dengan penggunaan TDZ 1 ppm dan 2 ppm pada tanaman nanas secara *in vitro*. Pada penelitian lain, pemberian konsentrasi NAA 0,5 – 1,5 ppm pada kultur tanaman anggrek tidak berpengaruh pada panjang akar (Wakidah dan Rahayu, 2020). Menurut Dewi (2007) panjang akar merupakan hasil perpanjangan sel-sel di belakang meristem ujung akar. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa sitokinin berfungsi untuk memacu pembelahan sel, pembentukan organ dan memacu perkembangan. Panjang akar merupakan hasil perpanjangan jaringan meristematis yang terletak pada ujung akar, makin cepat pertumbuhan suatu akar makin panjang zona diferensiasinya (Mashud, 2013).

Bobot Segar

Perlakuan terbaik yang memberikan rata – rata bobot segar tertinggi pada kombinasi perlakuan NAA 0.5 ppm dan TDZ 2 ppm (N0.5T2) yaitu seberat 2,30 gram. Perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan NAA 0 ppm dan TDZ 4 ppm (N0T4) dan NAA 1 ppm dan NAA 2 ppm (N1T2). Sedangkan perlakuan terendah yaitu N0T0 dengan rata – rata 1,44 gram. Hal ini menandakan bahwa pemberian ZPT memberikan pengaruh pada bobot segar kalus kencur.

Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Hendaryono, 1994). Menurut Supriyadi dkk (2017), peran thidiazuron yang lebih aktif diduga menyebabkan kandungan zat pengatur tumbuh di dalam jaringan meningkat. Peningkatan tersebut menyebabkan jaringan menjadi stres sehingga terjadi pembelahan sel secara terus – menerus di dalam jaringan yang akhirnya ukuran kalus bertambah besar. Menurut pendapat Ahmed dan Anis (2012) pada penelitian tanaman Legundi (*Vitex trifolia*) secara *in vitro* bahwa bila konsentrasi TDZ ditingkatkan melebihi konsentrasi optimal, frekuensi regenerasi lebih rendah dan sering disertai dengan kalus basal dan fasciasi tunas yang tidak diinginkan.

Menurut Nisak dkk. (2012) kalus kompak merupakan efek dari auksin dan sitokinin yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Auksin akan melonggarkan serat-serat dinding sel, sehingga dinding sel lebih fleksibel dan nutrisi yang terkandung dalam medium akan masuk secara difusi.

Waktu Pertama Muncul Tunas

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan NAA dan TDZ yang diberikan secara tunggal tidak berpengaruh nyata pada variabel pengamatan waktu muncul tunas, dan tidak terjadi interaksi antar keduanya. Namun demikian berdasarkan hasil rerata waktu muncul tunas menunjukkan perlakuan NAA 0,5 ppm dan TDZ 2 (N0.5T2)

ppm memberikan rerata tercepat dengan waktu muncul tunas pada 12,50 hst. Sedangkan pada perlakuan tanpa penambahan NAA dan TDZ (N0T0) menunjukkan rerata paling lama dalam memunculkan tunas yaitu pada 28,03 hst.

Penelitian yang dilakukan menggunakan kalus hijau/kalus embrio somatik dimana kalus tersebut mudah berregenerasi. Menurut Wahyuningtiyas dkk (2014) kalus yang berwarna hijau mengindikasikan bahwa kalus tersebut sel-selnya masih aktif membelah dan mengandung klorofil. Kalus dengan warna hijau tidak hanya dimungkinkan mengandung banyak pigmen klorofil akan tetapi, kalus yang terbentuk juga memiliki ukuran yang cukup besar yang menandakan bahwa kalus beregenerasi dengan baik dan sel-selnya masih aktif membelah (Lizawati, 2010 dalam Fitriyani, 2014). Sehingga ketika mendapat media standar, tunas dapat terbentuk walaupun tanpa pemberian ZPT.

KESIMPULAN

Pemberian NAA memberikan pengaruh jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, dan memberikan pengaruh pada bobot segar. Pemberian TDZ memberikan pengaruh pemanjangan tunas, panjang daun, jumlah akar, panjang akar, dan bobot segar. Pemberian NAA dan TDZ memberikan pengaruh nyata pada semua variabel yang diamati kecuali waktu pertama muncul tunas. Kombinasi perlakuan NAA 1ppm dan TDZ 2 ppm (N1T2) merupakan perlakuan yang optimal dalam organogenesis kalus kencur.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed., M., R., dan Anis. M., 2012. Role of TDZ in the Quick Regeneration of Multiple Shoots from Nodal Explant of *Vitex trifolia* L.—an Important Medicinal Plant. *Appl Biochem Biotechnol.* 168: 957–966

Astutik, Sumiati, S., dan Sutoyo. 2021. Stimulasi Pertumbuhan *Dendrobium* Sp Menggunakan Hormon Auksin Naphtalena Acetic Acid (NAA) dan Indole Butyric Acid (IBA). *Jurnal Buana Sains.* 21(1): 19 – 28

Busing, C. M., R. C. Shoemaker, and R. M. Benbow. 1994. Early events of multiple bud formation and shoot development in

soy-bean embryonic axes treated with thecytokinin, 6-benzylaminopurine. *Am. J. Bot.* 81(1): 1435-1448.

Dewi, I.R. 2007. Rhizobacteria pendukung pertumbuhan tanaman. makalah. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Jatinangor.

Dinika, A. R., Saputro, N. W., Sulandjari, K., dan Rahmi, H., 2021. Organogenesis Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemum Indicum* L.) Dengan Penggunaan Kinetin dan NAA (Naphthalene Acetic Acid). *Jurnal Agrium.* 18(1): 72 – 79

Erisen, S., Atalay, E., dan Yorgancilar, M. 2011. The Effect of the thidiazuron on the in vitro shoot development of academic *Astragalus cериensis* in Turkey. 35: 521 – 526

Fitriyani W, 2014. Respon Pertumbuhan Kalus *Stevia* (*Stevia rebaudiana* B.) Pada Media Ms Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Yang Dikombinasikan Dengan Air Kelapa. Thesis. Malang

Friedman R, A Altman and Bahcrachu. 1985. Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. II. Incorporation of precursor into polyaminers. *Plant Physiology* 79: 80-83.

Golle, D.P., 2010. Establishment multiplication, callogenesis, in vitro organogenesis and analysis of genetic diversity in accessions of *Eugenia involucrata* DC [thesis] Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria

Gubbuk, Hamide., dan M. Pekmezci. 2004. In vitro propagation of some new banana types (*Musa* spp.). Akdenik University 07059 Antalya. Turkey. Vol 28: 355-361

Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb A, Xu L. L, dan Wei, Y.H. 2011. Thidiazuron: A multi dimensional plant growth regulator. *Afr J Biotechnol.* 10: 8984 - 9000.

Hendaryono, D. P.S. dan Wijayani A. 1994. Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakannya Secara Vegetatif. Yogyakarta: Kanisius

Indriani, M., Suminar, E., Wicaksana., N., Sobardini, D., Sulistyaningsih., Nuraini, A., Nursuhud., dan Muibarok, S. 2017. Respon eksplan kunyit (*Curcuma*

- Domestica Val) pada berbagai jenis sitokinin dan auksin dalam media Murashige and Skoog (MS).
- Karjadi, A. K., dan Buchory., A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *J. Hort.* 18 (4): 380 – 384
- Lestari, A. T., T. Islami, dan E. Nihayati. 2017. Pengaruh konsentrasi NAA (naphthaleneacetic acid) dan BAP (6-benzyl amino purine) pada pembentukan planlet anthurium gelombang cinta (*Anthurium plowmanii*) secara in vitro. *J. Produksi Tanaman.* 5 (12): 2047 – 2052.
- Mashud, Nurbaini. 2013. Efek Zat Pengatur Tumbuh BAP Terhadap Pertumbuhan Planlet Kelapa Genjah Kopyor dari Kecambah Yang Dibelah. *B.Palma.*12(2).
- Mawaddah, S. K., Saputro, N. W., & Lestari, A. (2021). Pemberian Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Jahe (*Globba leucantha* var. *bicolor* Holttum) pada Kultur In Vitro. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 23(1), 43–50.
- Nie, Y., Liana, L., K., dan Evacuasiyany, E., 2012. The Effect Kencur's Rhizome ethanol extract (*Kaempferia galangan* L) Against Gastric Mucosal To Swiss Webster Mice In Induced by Asetosal. *Jurnal Medika Planta*, 2 (1): 78-84.
- Nisak K., Tutik Nurhidayati., dan Kristanti I. Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits.* 1(1) 1-6
- Ningrum, E., K., C., Rosyidi, I., N., Puspasari, R., R., dan Semiarti, E. 2017. Perkembangan Awal Protocorm Anggrek *Phlaenopsis amabilis* Secara In Vitro Setelah Penambahan Zat Pengatur Tumbuh a-Naphtaleneacetic acid dan thidiazuron. 34(1): 9-14
- Prasiwi dan Tatik. 2018. Pengaruh Pemberian Thidiazuron (Tdz) Terhadap Pertumbuhan Tunas Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) Cv. 'Smooth Cayyene' Asal Mahkota Buah. *Jurnal Produksi Tanaman.* 6(1): 9-15
- Rainiyati, Lizawati, dan M. Kristiana. 2009. Peranan IAA dan BAP terhadap perkembangan nodul pisang (*Musa AAB*) raja nangka secara in vitro. *Jurnal Agronomi* 13(1): 51-57
- Rahman, M.M., Amin, M.N., Ahmed, T., Ahmad, S., Habib, A., Ahmed, R., Ahmed, M.B. dan Ali, M.R. 2005. In Vitro Rapid Propagation of Black Thorn (*Kaempferia galanga* L.): A Rare Medicinal and Aromatic Plant of Bangladesh. *Journal of Biological Sciences.* 5 (3): 300 - 304.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan Edisi III. Dyah R. Lukman dan Sumaryono (Translator). Bandung (ID): ITB.
- Restanto, D.P., B. Kriswanto, M.N. Khozim, dan S. Soeparjono, 2018. Kajian Thidiazuron (Tdz) Dalam Induksi PLB Anggrek *Phalaenopsis* sp Secara In Vitro. *Agritrop*, Volume 16 (1) Juli 2018
- Sakina, S., Anwar, S.F., Kumiyati, F., Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium* (*Deondrobium* sp.) secara in vitro pada Konsentrasi BAP dan NNAA berbeda. 6(3): 430 - 437
- Samanhudi, Pujiasmanto, B., dan Dewi, E.P., 2021. Kajian Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Kencur In Vitro. *Jurnal Agrica Ekstensia.* 15(1) : 1 – 20
- Saptari, R. T. 2017. "Organogenesis untuk Perbanyak Tanaman Hias". *Jurnal IRIBB*, 5 (1): 18.
- Sari, H. S., Dwianti, H. dan Budisantosa, I. 2015. Efek NAA dan BAP terhadap Pembentukan Tunas, Daun, dan Tinggi Tunas Stek Mikro *Nepenthes ampullaria* Jack. *Biosfera.* 32 (3): 195 - 201
- Shalifah, H.A.B., Muskhazli, Rusea, Nithiyaa. 2011. Variation in mycorrhizal specificity for in vitro symbiotic seed germination of *Grammatophyllum speciosum* Blume. *Sains Malaysiana* 40(5): 451-455.
- Silva TS, Nepomuceno CF, Borges BPS, Alvim BFM, Santana JRF. 2013. In vitro multiplication of *Caesalpinia pyramidalis* (Leguminosae). *Sitientibus series Biological Sciences.* 13: 1-6

- Suhentaka, E. B., dan Sobir. 2010. Pengaruh Konsentrasi BA dan NAA pada Tahap Multiplikasi Secara In vitro Terhadap Keberhasilan Aklimatisasi Nenas (*Ananas comosus* L. Merr) Kultivar Smooth Cayenne. Makalah Seminar. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Suminar, E., Sumadi, S., Mubarak, T, Sumarto, N, Suswati dan E, Rini,. 2017. Percepatan Penyediaan Benih Sumber Kedelai Unggul secara in vitro. Jurnal Agrikultura 2017, 28 (3): 126 - 135 ISSN 0853 - 2885.
- Supriyadi, Isnawan, dan Rineksane. 2017. Pengaruh Thidiazuron dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Biji Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) Secara In Vitro. Thesis. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Supriyadi, Isnawan, dan Rineksane. 2017. Pengaruh Thidiazuron dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Biji Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) Secara In Vitro. Thesis. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Sutriana, S., Jumin, H., B., dan Mardaleni. 2014. Interaksi BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan Eksplan Anggrek Vanda Secara In Vitro. Jurnal Dinamika Pertanian. 29(1): 1-8.
- Wahyuningtyas L; R. S Resmisari dan Nashichuddin, 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D Dan BAB Pada Media MS. Thesis. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Wakidah, K., dan Rahayu, E. S., 2020. Optimasi Jenis dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Serta Pencahayaan untuk Pertumbuhan Plantlet *Phalaenopsis* sp. Secara In Vitro. Life Science. 9 (1): 94 -102
- Weindi, N. M. A., dan Yudhanto, A. S. 2015. Pengaruh Pemberian Auksin (NAA) dengan Sitokinin (BAP, Kinetin, dan 2ip) Terhadap Daya Proliferasi Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*). Bul. Agrohorti. 3(3) : 276 – 284
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Mokara. J. HortI. 24(3) : 230 – 238