

Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur *in Vitro*

The effect of some organic compounds and NAA application on the *in vitro* growth of the black orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.)

RINI UNTARI¹, DWI MURTI PUSPITANINGTYAS^{2,♥}

¹Departemen Konservasi Sumberdaya Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

² Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16122

Diterima: 23 Maret 2006. Disetujui: 06 September 2006.

ABSTRACT

Coelogyne pandurata Lindl. is a lowland epiphytic orchid that has pale green flowers with typically black markings on the lips. This species conventionally propagated asexually by rhizome. This orchid is now facing a great conservation problem and threatened to extinction due to human exploitation. That is why conservation activities such as developing proper cultivation, are urgently required. An *in vitro* experiment was conducted at the Laboratory of Tissue Culture at Bogor Botanic Garden. The experiment was carried out using a completely randomized design with two factors and ten replications. The treatments were the supplementation of the basal media i.e. Vacin and Went added with sugar, activated charcoal and agar, with 30 different combinations of organic compounds i.e., coconut water 250 mL/L, banana 150 g/L, potato 200 g/L, sweet potato 150 g/L, soybean 150 g/L and no organic compound as a control, and application of NAA (0, 5, 10, 15, and 20 ppm). The result showed that there was a significant effect of the organic compounds and NAA application on the length and the number of roots, height, number of leaves and number of shoots produced by the explants. The combination of sweet potato 150 g/L without NAA application showed the best result.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Coelogyne pandurata*, organic compound, NAA, *in vitro*.

PENDAHULUAN

Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) merupakan salah satu jenis anggrek alam yang berasal dari Kalimantan, bunganya berbau harum lembut dan lama mekar bunga sekitar 5-6 hari (Sastrapradja *et al.*, 1976). Anggrek ini telah dipilih sebagai maskot Propinsi Kalimantan Timur. Anggrek hitam termasuk jenis anggrek yang banyak diminati oleh masyarakat sehingga keberadaannya di alam menjadi terancam akibat pengambilan yang berlebihan. Faktor-faktor seperti terjadinya perubahan atau rusaknya habitat tumbuh akibat penebangan dan konversi lahan merupakan ancaman terhadap kelestarian anggrek alam. Kegiatan pengeksploitasian anggrek dari alam yang dilakukan secara berlebihan dan terus menerus dapat mengakibatkan kepunahan bila tidak diimbangi dengan usaha konservasi.

Teknik perbanyakan *in vitro* merupakan salah satu usaha konservasi untuk mencegah kepunahan jenis ini. Teknik tersebut dapat menyediakan tanaman-tanaman baru anggrek alam secara cepat dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Usaha meningkatkan produksi anggrek hitam dengan teknik kultur *in vitro* secara kualitatif dan kuantitatif dapat dilakukan dengan memodifikasi media melalui

penambahan persenyawaan organik kompleks sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan anggrek hitam tersebut. Menurut Tulecke *et al.* (1961) air kelapa mengandung zat/bahan-bahan seperti unsur hara, vitamin, asam amino, asam nukleat dan zat tumbuh seperti auksin dan asam giberelat yang berfungsi sebagai penstimulasi proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi. Gunawan (1987) menyatakan bahwa ekstrak kentang dapat digunakan dalam kultur anthera padi dengan konsentrasi 10-30% dan hasil terbaik dicapai pada konsentrasi 20%. Bubur pisang dalam kultur jaringan, menurut Hendaryono (2000) yang biasa digunakan adalah sebanyak 150-200 g/L. Hasil penelitian Arditti dan Ernsts (1992) menunjukkan bahwa buah pisang mengandung hormon tumbuh seperti auksin dan giberelin. Ubi jalar merupakan sumber karbohidrat, protein serta mengandung vitamin A, vitamin C dan unsur-unsur hara lainnya. Pada penelitian Hendaryono (2000), ekstrak kedelai sebanyak 150 g/L digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan kalus yang ditambah dengan kacang panjang atau kecambah jagung. Kedelai mengandung vitamin A, vitamin B1, 18% lemak, dan 36-40% protein. Penggunaan zat pengatur tumbuh NAA (*naphthalene acetic acid*) yang merupakan salah satu jenis auksin sintetis, digunakan untuk meningkatkan rasio pertumbuhan akar tanaman dalam kultur *in vitro*. Hal ini akan mendorong pembentukan akar-akar baru pada selang konsentrasi tertentu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis media organik dan NAA terhadap pertumbuhan

♥ Alamat korespondensi:

Jl.Ir. H.Juanda 13, Bogor 16003
Tel. +62-251-332518. Fax.: +62-251-322187
e-mail: puspita@bogor.net

eksplan semai anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) hasil kultur *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Kebun Raya Bogor dalam waktu 6 bulan (Juni-Desember 2002). Eksplan yang digunakan adalah semai anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) hasil perkecambahan biji yang berumur 20 bulan. Setiap botol kultur berisi 2 eksplan yang mempunyai tinggi 3-6 cm dengan jumlah daun 6-7 helai.

Media dasar yang digunakan adalah media Vacin & Went (VW) yang telah dimodifikasi dengan penambahan gula pasir, arang aktif, bahan organik dan agar. Perlakuan terdiri dari dua faktor yaitu bahan organik dan konsentrasi NAA. Penentuan jumlah bahan organik yang digunakan berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Faktor pertama adalah jenis media organik yaitu tanpa bahan organik, dengan penambahan air kelapa 250 mL/L (Widiastoety dan Santi, 1994), pisang ambon 150 g/L (Arditti, 1982), kentang 200 g/L (Gunawan, 1987), ubi jalar 150 g/L dan kedelai 150 g/L (Hendaryono, 2000). Faktor ini dikombinasikan dengan faktor kedua yaitu lima taraf konsentrasi NAA (0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm). Sebelum media disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 psi, suhu 121°C selama 30 menit, pH media diusahakan menjadi 5-6 dengan menggunakan KOH dan HCl.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 ulangan. Pengamatan dilakukan setelah 2 minggu penanaman. Parameter yang diamati adalah panjang akar, jumlah akar, tinggi eksplan, jumlah daun dan jumlah tunas baru. Semua kultur diinkubasi dalam ruang kultur yang bersuhu 25°C, kelembaban 70% dan penyinaran selama 16 jam per hari menggunakan lampu neon 40 watt. Untuk mengetahui pengaruh faktor tunggal dan interaksinya terhadap pertumbuhan semai, maka dilakukan uji F. Apabila sidik ragam memberikan hasil berpengaruh nyata selanjutnya dilakukan uji Duncan untuk mengetahui beda antar perlakuan. Pengolahan data menggunakan *Statistical Analysis System* (SAS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan merupakan suatu proses dalam kehidupan tanaman. Dari proses tersebut akan terjadi perubahan ukuran yaitu tanaman akan tumbuh semakin besar dan akan berkorelasi positif dalam menentukan hasil tanaman. Pertambahan ukuran tersebut secara keseluruhan dikendalikan oleh sifat genetik disamping faktor-faktor lainnya seperti lingkungan. Penambahan media VW dengan persenyawaan organik kompleks dan zat pengatur tumbuh NAA serta interaksinya memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap parameter-parameter pertumbuhan. Parameter pertumbuhan tersebut meliputi pembentukan akar, baik panjang akar dan jumlah akar serta pertumbuhan eksplan yaitu tinggi eksplan, jumlah daun dan jumlah tunas baru. Hasil analisis sidik ragam dari faktor-faktor yang diteliti terhadap keseluruhan parameter yang diamati disajikan dalam Tabel 1.

Panjang akar

Interaksi antara media VW dengan penambahan perse-

nyawaan organik dan NAA berdasarkan hasil uji Duncan menunjukkan bahwa rata-rata panjang akar tertinggi dicapai pada media VW dengan perlakuan penambahan ekstrak ubi jalar 150 g/L tanpa NAA (Tabel 2). Pada beberapa perlakuan, peningkatan konsentrasi NAA menyebabkan terhambatnya pemanjangan akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Ross (1995) bahwa konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi untuk suatu jenis tanaman tertentu akan mendorong sintesis etilen yang kemudian menghambat pemanjangan akar. Pada percobaan ini pemberian ubi jalar tanpa penambahan NAA memberikan hasil yang terbaik untuk parameter panjang akar. Hal ini diduga karena ubi jalar mengandung beberapa macam vitamin seperti vitamin B, niacin, vitamin A, riboflavin, dan terutama kandungan tiamin sebanyak 0,1 mg/100 g. Tiamin termasuk vitamin B1 yang berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel pada meristem akar. Ubi jalar mengandung unsur kalsium (Ca) sebanyak 55 mg/100 g. Menurut Salisbury dan Ross (1995) unsur ini berperan dalam pembentukan bulu-bulu akar dan pemanjangan akar.

Jumlah akar

Interaksi antara dua perlakuan terhadap penambahan jumlah akar memberikan hasil beragam. Jumlah akar rata-rata tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan penambahan ekstrak ubi jalar 150 g/L dan NAA 5 ppm. Rata-rata jumlah akar terendah diperoleh dari perlakuan penambahan ekstrak pisang ambon 150 g/L dan NAA 15 ppm. Penambahan ekstrak kedelai 150 g/L dengan dua perlakuan, yaitu dengan penambahan NAA 15 ppm dan 20 ppm, tidak memberikan stimulasi pembentukan akar pada eksplan (Tabel 3).

Ekstrak ubi jalar mengandung polisakarida dan unsur-unsur yang dibutuhkan oleh pertumbuhan akar eksplan anggrek. Pertumbuhan akar juga tergantung pada peran unsur fosfor, kalsium, mangan, besi, dan boron. Unsur fosfor yang diberikan dalam jumlah yang tinggi berpengaruh terhadap penambahan jumlah akar melebihi tunas (Salisbury dan Ross, 1995). Ekstrak ubi jalar mengandung semua unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan akar eksplan (Ca, P dan Fe) dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan persenyawaan organik lainnya, walaupun pada ekstrak kedelai unsur-unsur hara tersebut terdapat dalam jumlah yang lebih tinggi lagi (Hendaryono, 2000). Penggunaan kedelai ternyata tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan anggrek hitam, bahkan pertumbuhannya menjadi kurang baik.

Hal ini berkaitan dengan pendapat Wetherell (1982) bahwa konsentrasi optimum dari masing-masing unsur nutrisi untuk pertumbuhan berbeda-beda tergantung pada jenis tanaman maupun tujuan kultur yang diinginkan, selain itu juga berkaitan dengan umur dan ukuran eksplan. Ukuran eksplan 1,5-2,0 cm merupakan ukuran yang telah siap diinduksi pada media perakaran (Suryandari, 1998). Ukuran eksplan anggrek hitam yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3-6 cm. Dengan ukuran tersebut diharapkan eksplan sudah siap diinduksi di media perakaran. Selain ukuran eksplan, pertumbuhan perakaran juga didukung dengan suplai unsur bahan organik yang dibutuhkan untuk pertambahan jumlah akar eksplan. Penambahan ubi jalar pada media kultur menghasilkan rata-rata jumlah akar tertinggi. Menurut Arditti (1982) ubi jalar mengandung beberapa macam vitamin yaitu vitamin B, niacin, vitamin A, riboflavin, terutama kandungan tiamin yang cukup tinggi yang esensial bagi pertumbuhan kultur *in vitro*.

Tabel 1. Rekapitulasi sidik ragam pengaruh jenis media organik dan konsentrasi NAA terhadap tinggi eksplan, jumlah daun, jumlah tunas baru, jumlah akar dan panjang akar semai anggrek hitam 20 minggu setelah tanam (MST)

Perlakuan	Tinggi eksplan	Jumlah daun	Jumlah tunas baru	Jumlah akar	Panjang akar
Media organik (A)	0,0003 **	0,0013**	0,0700 tn	0,0001**	0,0001**
NAA (B)	0,0001 **	0,0001**	0,1288 tn	0,0001**	0,0001**
Interaksi (AB)	0,0001 **	0,0315 *	0,0003 **	0,0004**	0,0001**

Keterangan: ** = berpengaruh sangat nyata terhadap selang kepercayaan 95%; * = berpengaruh nyata terhadap selang kepercayaan 95%; tn = berpengaruh tidak nyata terhadap selang kepercayaan 95%

Tabel 2. Interaksi jenis bahan organik dan konsentrasi NAA terhadap panjang akar anggrek hitam

NAA (ppm)	Jenis media organik					
	Tanpa bahan organik (1)	Air kelapa 250 ml/L (2)	Pisang ambon 150g/L (3)	Kentang 200 g/L (4)	Ubi jalar 150 g/L (5)	Kedelai 150 g/L (6)
0	4,75 b	2,56 cd	2,67 c	1,34 ef	5,95 a #	0,88 fg
5	2,24 d	1,79 e	1,79 e	1,44 ef	3,56 bc	0,53 g
10	2,28 d	1,25 ef	1,45 ef	0,91 f	1,92 de	0,18 h
15	1,54 ef	1,47 ef	0,00 i	0,36 g	1,50 ef	0,00 i
20	1,14 ef	0,24 h	1,65 ef	0,25 g	0,49 g	0,00 i
Linear	tn	tn	*	tn	tn	tn
Kuadratik	*	*	*	*	tn	*
Kubik	*	*	*	*	*	-
Kwartik	*	*	*	*	*	-

Keterangan: # Angka dalam kelompok pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5%, * Nyata pada taraf $\alpha=0,05$, Persamaan polinom:
 1. $Y = 4,57 - 1,1264X + 0,1886X^2 - 0,0127X^3 + 0,00028X^4$
 2. $Y = 2,56 - 0,0045X - 0,0563X^2 + 0,0062X^3 - 0,0002X^4$
 3. $Y = 2,67 - 0,633X + 0,1512X^2 - 0,0139X^3 + 0,0004X^4$
 4. $Y = 1,34 + 0,0583X - 0,0032X^2 - 0,0012X^3 + 0,00005X^4$
 5. $Y = 5,95 - 0,4077X - 0,0362X^2 + 0,0052X^3 - 0,00015X^4$
 6. $Y = 0,88 - 0,07X$

Tabel 3. Interaksi jenis bahan organik dan konsentrasi NAA terhadap jumlah akar anggrek hitam

NAA (ppm)	Jenis media organik					
	Tanpa bahan organik (1)	Air kelapa 250 ml/L (2)	Pisang ambon 150g/L (3)	Kentang 200 g/L (4)	Ubi jalar 150 g/L (5)	Kedelai 150 g/L (6)
0	8,10 de	9,30 cd	3,70 bc	4,40 f	15,30 b #	2,40 g
5	5,20 ef	8,40 d	10,60 c	6,70 e	19,60 a	1,90 g
10	5,10 ef	4,10 f	6,70 e	5,13 ef	18,30 ab	0,90 i
15	4,60 f	5,30 ef	0,00 j	1,63 h	11,40 c	0,00 j
20	2,00 g	0,63 i	9,50 cd	1,50 i	2,40 g	0,00 j
Linear	tn	tn	*	*	tn	tn
Kuadratik	*	*	*	*	tn	*
Kubik	*	*	*	*	*	-
Kwartik	*	*	*	*	*	-

Keterangan: # Angka dalam kelompok pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5%, * Nyata pada taraf $\alpha=0,05$, Persamaan polinom:
 1. $Y = 8,1 - 1,1483X + 0,1475X^2 - 0,0073X^3 + 0,0001X^4$
 2. $Y = 9,3 + 1,7671X - 0,6177X^2 + 0,0524X^3 - 0,0014X^4$
 3. $Y = 13,7 - 1,7233X + 0,406 X^2 - 0,0447X^3 + 0,0014X^4$
 4. $Y = 4,4 + 0,81X - 0,0551X^2 - 0,0041X^3 + 0,00022X^4$
 5. $Y = 15,3 + 1,245X - 0,0478X^2 - 0,007X^3 + 0,00023X^4$
 6. $Y = 2,4 - 0,05X - 0,01X^2$

Tabel 4. Interaksi jenis bahan organik dan konsentrasi NAA terhadap tinggi plantlet anggrek hitam

NAA (ppm)	Jenis media organik					
	Tanpa bahan organik (1)	Air kelapa 250 ml/L (2)	Pisang ambon 150g/L (3)	Kentang 200 g/L (4)	Ubi jalar 150 g/L (5)	Kedelai 150 g/L (6)
0	5,72a	5,71a	4,84bc	5,33b #	5,43ab	4,02cd
5	5,43ab	5,27b	2,46ef	4,88bc	5,20b	3,21e
10	3,62d	3,55d	4,17c	4,73bc	4,39bc	1,91g
15	3,80cd	4,48bc	1,35h	3,45de	3,44de	0,00i
20	1,36h	1,78g	4,75bc	2,20f	2,43ef	0,00i
Linear	tn	tn	*	tn	tn	tn
Kuadratik	*	*	tn	*	*	*
Kubik	*	*	*	*	*	-
Kwartik	*	tn	tn	*	*	-

Keterangan: # Angka dalam kelompok pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5%, * Nyata pada taraf $\alpha=0,05$, Persamaan polinom:

- $Y = 5,72 + 0,71X - 0,2419X^2 + 0,0203X^3 - 0,0005X^4$
- $Y = 5,8544 - 0,3961X + 0,0402X^2 - 0,0015X^3$
- $Y = 4,7098 - 0,5956X + 0,0606 X^2 - 0,016X^3$
- $Y = 5,33 - 0,3493X + 0,0835X^2 - 0,0072X^3 + 0,0002X^4$
- $Y = 5,43 + 0,0604X - 0,0274X^2 + 0,0013X^3 - 0,000025X^4$
- $Y = 4,02 - 0,1611X - 0,005X^2$

Tabel 5. Interaksi jenis bahan organik dan konsentrasi NAA terhadap jumlah daun anggrek hitam

NAA (ppm)	Jenis media organik					
	Tanpa bahan organik (1)	Air kelapa 250 ml/L (2)	Pisang ambon 150g/L (3)	Kentang 200 g/L (4)	Ubi jalar 150 g/L (5)	Kedelai 150 g/L (6)
0	5,90b	4,40cd	4,80cd	6,40ab #	5,10c	2,10f
5	6,50a	3,30de	2,10f	5,50bc	5,50bc	3,60d
10	3,70d	3,80d	2,50f	6,38ab	3,00e	3,70d
15	2,40f	3,30de	0,00i	4,13cd	2,90ef	0,00i
20	1,50g	1,88fg	4,50cd	0,50h	2,20f	0,00i
Linear	tn	tn	*	tn	tn	tn
Kuadratik	*	*	tn	*	*	*
Kubik	*	*	*	*	*	-
Kwartik	*	*	*	*	*	-

Keterangan: # Angka dalam kelompok pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5%, * Nyata pada taraf $\alpha=0,05$, Persamaan polinom:

- $Y = 5,9 + 1,0867X - 0,276X^2 + 0,0185X^3 - 0,0004X^4$
- $Y = 4,4 - 0,6871X + 0,133X^2 - 0,0088X^3 + 0,0002X^4$
- $Y = 4,8 - 2,045X + 0,4735X^2 - 0,0398X^3 + 0,0011X^4$
- $Y = 6,4 - 1,0167X + 0,2554X^2 - 0,0198X^3 + 0,0004X^4$
- $Y = 5,1 + 1,1383X - 0,3162X^2 + 0,0237X^3 - 0,0006X^4$
- $Y = 2,1 + 0,44X - 0,028X^2$

Tabel 6. Interaksi jenis bahan organik dan konsentrasi NAA terhadap jumlah tunas anggrek hitam

NAA (ppm)	Jenis media organik					
	Tanpa bahan organik (1)	Air kelapa 250 ml/L (2)	Pisang ambon 150g/L (3)	Kentang 200 g/L (4)	Ubi jalar 150 g/L (5)	Kedelai 150 g/L (6)
0	2,30cd	3,50cd	4,80bc #	3,60cd	3,30cd	3,20d
5	1,60d	4,20c	4,00c	5,10b	4,40c	1,90cd
10	2,80cd	3,80cd	2,30cd	3,50cd	4,70c	1,30de
15	3,00cd	2,90cd	0,50e	1,63d	2,70cd	0,00f
20	5,25b	2,63cd	11,00a	2,50cd	1,50d	0,00f
Linear	*	*	*	*	*	tn
Kuadratik	*	*	tn	*	*	*
Kubik	*	*	tn	*	*	-
Kwartik	*	*	*	*	*	-

Keterangan: # Angka dalam kelompok pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5%, * Nyata pada taraf $\alpha=0,05$

Persamaan polinom:

1. $Y = 2,3 - 0,8208X + 0,2051X^2 - 0,0158X^3 + 0,0004X^4$
2. $Y = 3,5 + 0,2638X - 0,0244X^2 - 0,0003X^3 + 0,00004X^4$
3. $Y = 4,8 - 0,5967X + 0,1786X^2 - 0,0221X^3 + 0,0008X^4$
4. $Y = 3,6 + 0,7883X - 0,1148X^2 + 0,0034X^3 + 0,00001X^4$
5. $Y = 3,3 - 0,03X + 0,0983X^2 - 0,0112X^3 + 0,0003X^4$
6. $Y = 3,2 - 0,33X + 0,014X^2$

Tinggi plantlet

Pertambahan tinggi eksplan disebabkan oleh dua proses yaitu pembelahan dan pemanjangan sel. Kedua proses ini terjadi pada jaringan meristem, yaitu pada titik tumbuh batang (Heddy, 1991). Media VW tanpa penambahan bahan organik dan NAA memberikan rata-rata tinggi plantlet yang terbaik. Rata-rata tinggi plantlet yang dihasilkan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan media VW yang ditambah air kelapa 250 mL/L dan NAA 0 ppm (Tabel 4). Hal ini diduga berkaitan dengan ketersediaan auksin alami yang terdapat dalam tanaman, sehingga tanpa zat pengatur tumbuh NAA (auksin eksogen) eksplan mampu melakukan pertumbuhan dan perkembangan. Batang dan akar yang sedang memanjang tidak memerlukan penambahan sitokinin (Wattimena, 1988), walaupun kedua organ itu membutuhkan hormon tersebut untuk aktivitas pemanjangan sel, tetapi kandungan alami sitokinin dalam jaringan kemungkinan sudah mencukupi.

Rata-rata tinggi plantlet yang dihasilkan media VW tanpa penambahan bahan organik tidak berbeda nyata dengan media yang ditambah air kelapa 250 mL/L. Hal ini diduga dipengaruhi unsur yang terkandung dalam air kelapa. Karena menurut Tulecke *et al.* (1961) air kelapa mengandung zat-zat seperti vitamin, asam amino, asam organik, asam nukleat, gula alkohol, mineral dan zat pengatur tumbuh. Hendaryono (2000) mengemukakan bahwa air kelapa mengandung difenil urea yang mempunyai efektivitas menyerupai sitokinin. Kelompok sitokinin digunakan untuk mendukung pembelahan sel atau menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Bhojwani dan Radzan, 1983).

Jumlah daun

Hasil uji statistik terhadap interaksi dua perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan tanpa penambahan media organik dan NAA 5 ppm merupakan perlakuan yang menghasilkan rata-rata jumlah daun tertinggi, dan perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak kentang 200 g/L dan NAA 0 ppm (Tabel 5). Diduga bahwa kondisi fisiologis tumbuhan akan memberikan respon yang berbeda-beda terhadap perlakuan yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1988) yang mengatakan bahwa variasi respon terhadap pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) dipengaruhi oleh perbedaan fase pertumbuhan, kondisi fisiologis, kemampuan tanaman mengadsorpsi ZPT, serta fluktuasi kandungan hormon endogen pada beberapa kondisi fisiologis. Selain itu diduga karena adanya fluktuasi dalam penambahan jumlah daun. Menurut Salisbury dan Ross (1995) daun tua akan digantikan oleh daun muda dan kapasitas fotosintesis dapat bertambah tergantung sebagian kepada alokasi bahan yang digunakan untuk membentuk organ ini.

Parameter jumlah daun pada perlakuan penambahan NAA 0 dan 5 ppm dengan media yang ditambah ekstrak kentang 200 g/L tidak berbeda nyata. Hal ini diduga karena kentang mengandung unsur-unsur yang dibutuhkan seperti

kalsium, Fospor, besi, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C dan niacin yang mendorong penambahan jumlah daun (Hendaryono, 2000).

Jumlah tunas

Untuk pembentukan tunas baru, tanaman membutuhkan unsur nitrogen (N), kalium (K), belerang (S), besi (Fe) dan seng (Zn) yang cukup. Unsur N, S, Fe dan tiamin dapat merangsang pembelahan sel, sehingga meningkatkan pertumbuhan tunas samping. Defisiensi unsur N, K, S, Fe dan Zn pada semai menyebabkan penambahan jumlah tunas terhambat dan secara umum mengambat pertumbuhan tanaman (Wattimena, 1988).

Konsentrasi NAA yang tinggi dapat menstimulasi pertumbuhan tunas baru. Pada percobaan ini konsentrasi NAA sampai 20 ppm masih memungkinkan peningkatan jumlah tunas untuk beberapa perlakuan media organik. Hal ini diduga terjadi karena jumlah eksplan yang banyak dalam satu botol (lebih dari dua eksplan) kemungkinan dapat mengurangi keracunan akibat konsentrasi NAA yang tinggi. Anggrek hitam pada saat pertumbuhan dalam botol kultur termasuk anggrek yang mampu menghasilkan banyak tunas aksilar maupun tunas adventif. Menurut Wattimena (1988) konsentrasi auksin optimum yang dibutuhkan untuk merangsang pertumbuhan batang dan tunas lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk merangsang pertumbuhan akar. Kemampuan setiap sel untuk bermultiplikasi berbeda-beda, terbukti dari hasil penelitian ini eksplan yang berasal dari botol kultur yang sama ternyata daya multiplikasinya berbeda-beda. Eksplan dengan penambahan NAA konsentrasi 20 ppm ada yang membentuk 19 buah tunas namun ada yang tetap satu tanpa mengalami multiplikasi.

Interaksi antara media organik dan NAA menunjukkan bahwa penambahan ekstrak pisang ambon 150 g/L dan NAA 20 ppm mampu memacu dan menghasilkan rata-rata jumlah tunas tertinggi (Tabel 6). Menurut Widiastoety dan Bahar (1995) ekstrak pisang yang ditambahkan pada medium kultur jaringan dapat merangsang pembelahan sel dan mendorong diferensiasi sel, sehingga semai dapat tumbuh dan berkembang. Ekstrak pisang ambon diketahui mengandung unsur-unsur kalium (K), fosfor (P) dan besi (Fe) sehingga memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan tunas. Sedangkan menurut Tulecke *et al.* (1961) air kelapa mengandung unsur hara, vitamin, asam amino, asam nukleat dan zat tumbuh seperti auksin dan asam gibberelat yang berfungsi sebagai penstimulasi proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi. Penambahan ubi jalar karena bahan organik ini mengandung beberapa macam vitamin yaitu vitamin B, niacin, vitamin A dan riboflavin. Ubi jalar mengandung unsur kalsium yang cukup tinggi mencapai 55 mg/100 g. Menurut Salisbury dan Ross (1995) kalsium berperan dalam pembentukan bulu akar dan pemanjangan akar. Kentang juga mengandung unsur-unsur yang dibutuhkan eksplan dalam kultur jaringan seperti kalsium, fosfor, besi, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, dan niacin. Gunawan (1987) menggunakan ekstrak kentang untuk kultur anthera padi, dengan hasil terbaik pada konsentrasi 200 g. Menurut Gunawan (2001) kedelai mempunyai kualitas protein yang tinggi, sehingga sangat baik untuk pertumbuhan hasil kultur *in vitro*. Kedelai mengandung unsur kalsium, fospor, besi, vitamin A, dan vitamin B. Hendaryono (2000) menggunakan ekstrak kedelai untuk meningkatkan pertumbuhan kalus dicampur dengan kacang panjang atau kacang jagung.

KESIMPULAN

Perlakuan berbagai jenis media organik memberikan pengaruh yang nyata terhadap parameter-parameter pertumbuhan eksplan anggrek hitam, yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, dan jumlah akar, tetapi tidak berbeda nyata untuk parameter penambahan jumlah tunas. Media Vacint & Went (VW) dengan penambahan ekstrak ubi jalar 150 g/L memberikan rata-rata panjang akar dan jumlah akar yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Media VW dengan penambahan kentang 200 g/L menghasilkan tinggi plantlet dan jumlah daun yang paling baik. Peningkatan konsentrasi NAA hingga 20 ppm menyebabkan terhambatnya pertumbuhan eksplan. Hasil yang terbaik dicapai pada perlakuan tanpa penambahan NAA yaitu pada parameter panjang akar dan tinggi plantlet. Sedangkan hasil terbaik dengan penambahan NAA 5 ppm untuk parameter jumlah akar dan jumlah daun. Interaksi antara dua faktor perlakuan yaitu jenis media organik dan konsentrasi NAA berpengaruh nyata terhadap semua parameter pertumbuhan eksplan baik tinggi eksplan, jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar dan panjang akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. and R. Ernsts . 1992. *Micropropagation of Orchids*. Irvine: Departement of Developmental and Cell Biology, University of California.
- Arditti, J. 1982. Orchid seed germination and seedling culture-a manual. In: Arditti, J. (ed.). *Orchid Biology: Reviews and Perspectives II*. Ithaca: Comstock Publishing Associates & Cornell University Press.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Radzan. 1983. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*. New York: Elvisier Science Publishing Company.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Bogor: Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB,.
- Gunawan, L.W. 2001. *Budidaya Anggrek*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Heddy, S. 1991. *Hormon Tumbuhan*. Jakarta: CV Rajawali.
- Hendaryono, D.P.S. 2000 *Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan I*. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Sastrapradja, S., R.E. Nasution, Irawati, L. Soerojo, M. Imelda, S. Idris, S. Soerohaldoko, dan W. Roedjito. 1976. *Anggrek Indonesia*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional LIPI.
- Suryandari, E.Y. 1998. *Pengaruh Klon, Media Dasar, Zat Pengatur Tumbuh IBA dan Arang Aktif terhadap Induksi Perakaran Eucalyptus deglupta Blume in Vitro*. [Skripsi]. Bogor: Jurusan Manajemen Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Tulecke, W., L.H. Weinstein, A. Rutner, and H.J. Laurencot. 1961. *The Biochemical Composition of Coconut Water (Coconut Milk) as Related to its Use in Plant Tissue Culture*. New York: Plant Research Inc.
- Wattimena, G.A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB dan Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.
- Wetherell, W.F. 1982. *Introduction in Vitro Propagation*. New Jersey: Avery Publishing Group.
- Widiastoety dan F.A. Bahar. 1995. Pengaruh berbagai sumber dan kadar karbohidrat terhadap plantlet anggrek *Dendrobium*. *Jurnal Hortikultura* 5 (3): 76-80.
- Widiastoety, D. dan A. Santi. 1994. Pengaruh air kelapa terhadap pembentukan *protocorm like bodies* (plbs) dari anggrek *Vanda* dalam medium cair. *Jurnal Hortikultura* 4 (2):71-73.

Catatan untuk Penulis:

1. Mohon diperiksa kembali substansi isi dan tata tulisnya. Penulis adalah penanggungjawab naskah ini.
2. Daftar pustaka mohon diperiksa kembali, semua pustaka harus disitasi dalam naskah. (kata yang terblok **warna kuning dengan tinta merah** pada sitasi tidak ada dalam pustaka, sebaliknya tanda yang sama pada pustaka menunjukkan tidak ada dalam sitasi. Jumlah pustaka untuk naskah penelitian dimohon tidak kurang dari 20 buah, dimana 70% (14 buah) diantaranya adalah pustaka dari jurnal ilmiah terkini (5 tahun terakhir). Penulisan DP mohon mengikuti "Pedoman untuk Penulis", a.l. nama jurnal tidak disingkat, seminar/workshop harus diikuti nama penyelenggara, kota, dan tanggal.
3. Perbaikan harap ditulis langsung pada lembar ini dengan **warna tinta merah**. Perubahan tampilan karena perbaikan mohon diabaikan, akan diperbaiki pada saat naik cetak. Penulis tidak diharapkan mengirimkan file baru, kecuali perbaikan dari file ini.

Perbaikan **max. 3 hari** sejak naskah ini diterima. Trims.