

Pengaruh variasi konsentrasi asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) terhadap pertumbuhan *protocorm* anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

The effect of salicylic acid and Benzyl Amino Purine (BAP) concentrations variation on the growth of protocorm *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* orchids

AVANDI LATRIANTO*, SOLICCHATUN, ARI PITOYO, CHAIRIZA TRISTAN MAYLENDRA

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami No. 36A, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia. Tel./fax.: +62-271-663375, *email: avandi.latrianto@student.uns.ac.id

Manuskrip diterima: 16 Maret 2022. Revisi disetujui: 22 Maret 2022.

Abstrak. Latrianto A, Solichatun, Pitoyo A, Maylendra CT. 2022. Pengaruh variasi konsentrasi asam salisilat dan Benzyl Amino Purine (BAP) terhadap pertumbuhan protocorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 8*: 87-95. *Dendrobium* merupakan salah satu genus tanaman anggrek yang memiliki bunga yang menarik. Anggrek umum digunakan sebagai hiasan karena memiliki ketahanan yang cukup lama. Anggrek jenis *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* merupakan jenis anggrek hibrida dari hasil persilangan antara *D. stocklebuschii* dan *D. calophyllum*. Anggrek ini menarik karena berasal dari dua anggrek endemik Indonesia. Aspek pengembangan budidaya jenis anggrek tersebut, belum banyak dikembangkan, terutama pada bidang kultur jaringan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi konsentrasi asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) terhadap pertumbuhan protocorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*. Media MS digunakan sebagai media dasar, dengan 8 kombinasi BAP dan asam salisilat sebagai media perlakuan. Eksplan berupa protocorm anggrek. Masa inkubasi kultur dilakukan selama 6 minggu. Parameter data yang diamati meliputi data berat basah, panjang akar, tinggi tanaman, tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun. Hasil dianalisis dengan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5. Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa variasi hormon BAP dan asam salisilat dapat mempengaruhi pertumbuhan protocorm anggrek. Semua parameter menunjukkan adanya pertumbuhan pada protocorm anggrek, kecuali pada parameter jumlah akar, jumlah tunas, tinggi tunas dan panjang akar hanya pada variasi tertentu saja yang memberikan pengaruh. Analisis ANOVA pada penelitian ini menunjukkan hasil yang tidak beda nyata pada perlakuan variasi hormon BAP dan asam salisilat terhadap pertumbuhan protocorm anggrek.

Kata kunci: Anggrek, asam salisilat, *Benzyl Amino Purine*

Abstract. Latrianto A, Solichatun, Pitoyo A, Maylendra CT. 2022. The effect of salicylic acid and Benzyl Amino Purine (BAP) concentrations variation on the growth of protocorm *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* orchids. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 8*: 87-95. *Dendrobium* is one genus of orchid plants that has attractive flowers. They are commonly used as decoration because they have relatively a long resistance. Orchid species *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* is a hybrid orchid from a cross between *Dendrobium stocklebuschii* and *Dendrobium calophyllum*. This orchid is interesting because it comes from two Indonesia endemic orchids. However, the cultivation aspects of these orchid species have not been widely developed, especially in their tissue culture. This study aimed to determine the effect of varying concentrations of salicylic acid and *benzyl amino purine* (BAP) on the growth of *protocorm* of *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* orchids. MS medium was used as the base medium, with 9 BAP and salicylic acid combinations as the treatment medium. Protocorm was cultured and the incubation period was in 6 weeks. The data parameters observed included wet mass, root length, plant height, shoot height, number of shoots, number of roots, and number of leaves. Data were analyzed statistically using ANOVA and followed by DMRT's test at a 5% level. The results of the descriptive analysis indicated that concentration variations of BAP hormones and salicylic acid affected the orchid protocorm growth. All parameters showed growth in the orchid protocorm, except for the parameters of roots numbers, the number of shoots, shoot height and root length, which only in certain variations gave an effect. Nevertheless, ANOVA analysis resulted in no significant difference in the orchid protocorm orchid growth due to the concentration variations of BAP hormone and salicylic acid.

Keywords: Orchid, salicylic acid, Benzyl Amino Purine

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan keragaman tanaman anggrek, diperkirakan terdapat 5000 spesies anggrek yang tersebar

dari Sumatera hingga Papua. Keragaman jenis anggrek dapat menjadi sumber induk dalam mengembangkan anggrek hibrida (Hartati dan Darsana 2015). Produksi tanaman anggrek di Indonesia setiap tahunnya mengalami

peningkatan. Berdasarkan Suryani (2015) data dari Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian menyatakan bahwa jumlah produksi anggrek di Indonesia dari tahun 2010-2014 mengalami peningkatan setiap tahun rata-rata sebesar 5,19%. Pada tahun 2015 produksi anggrek mencapai 19,74 juta tangkai. Hasil produksi anggrek dalam negeri juga di ekspor ke berbagai negara Asia seperti Jepang, Singapura, Taiwan, Malaysia, Uni Emirat Arab, dan Thailand (Suryani 2015).

Anggrek jenis *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* merupakan jenis anggrek hibrida dari hasil persilangan antara *Dendrobium stocklebuschii* dan *Dendrobium calophyllum*. Anggrek jenis ini memiliki bunga yang berwarna kuning dan menjadi salah satu anggrek yang dapat digunakan sebagai penghias rumah. Hal yang menarik pada anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* yaitu anggrek ini berasal dari dua anggrek endemik Indonesia (Kumalawati et al. 2011). Budidaya jenis anggrek tersebut, belum banyak dikembangkan, terutama pada bidang kultur jaringan. Salah satu hal yang penting adalah dalam pengembangan media kultur yang tepat.

Media kultur jaringan menjadi hal yang penting untuk pertumbuhan tanaman anggrek secara *in vitro*. Ada berbagai jenis media yang dapat digunakan dalam mendukung pertumbuhan anggrek secara *in vitro*, salah satunya yang bisa digunakan adalah media *Murashige-Skoog* (MS), dengan berbagai variasi hormon tumbuh/zat pengatur tumbuh (ZPT). Media *Murashige-Skoog* (MS) sudah terbukti efektif digunakan sebagai media kultur jaringan anggrek (Nasution et al. 2021). Keefektifan media kultur dapat ditingkatkan dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). Berbagai jenis ZPT yang digunakan dalam kultur jaringan seperti *Benzyl Amino Purine* (BAP) merupakan ZPT yang paling sering digunakan. Zat pengatur tumbuh BAP mampu meningkatkan pembelahan sel, yang dapat merangsang pembentukan tunas dan metabolisme sel (Kartiman et al. 2018).

Asam salisilat merupakan salah satu jenis zat pengatur tumbuh (ZPT). Asam salisilat diketahui berperan dalam respon tanaman terhadap cekaman; baik cekaman biotik maupun abiotik. Asam salisilat juga berperan dalam pengaturan pertumbuhan tanaman (Hayat et al. 2010; Yusuf et al. 2012). Asam salisilat merupakan senyawa fenolik yang mengandung cincin aromatik. Asam salisilat juga diketahui mampu meningkatkan resistensi tanaman terhadap cekaman kekeringan dan infeksi penyakit. Penggunaan asam salisilat sebagai zat pengatur tumbuh pada kultur *in-vitro* sudah terbukti. Dalam beberapa penelitian yang menggunakan asam salisilat sebagai ZPT dilaporkan oleh Galal (2012) tentang kultur kalus, mikropropagasi tunas, dan poliferasi akar *Ziziphus spina*; induksi kultur embriosomatik pada wortel (Hosseini et al. 2009); induksi kultur embriosomatik pada *Rosea plumbago* (Komaraiah et al. 2004) dan terbukti berperan dalam regenerasi kultur jaringan *Hibiscus moschentos* dan *Hibiscus acetocella* (Sakhanokho dan Kelly 2009). Penggunaan asam salisilat dalam media kultur mampu menghasilkan akumulasi metabolit sekunder lebih tinggi

pada *Cistus heterophyllus* (López-Orenes et al. 2013). Penambahan asam salisilat dalam media mampu menginduksi resistensi terhadap infeksi *Dickeya solani* dalam budidaya kentang (Czajkowski et al. 2015).

Penelitian mengenai pengaruh pemberian variasi konsentrasi asam salisilat dan BAP dalam pertumbuhan tanaman anggrek secara *in vitro* khususnya untuk pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* belum banyak dikembangkan dan anggrek tersebut merupakan hasil hibrida dari dua anggrek endemik Indonesia. Berdasarkan hal tersebut, penelitian tentang pengaruh pemberian variasi konsentrasi asam salisilat dan BAP terhadap pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* perlu dilakukan. Hasil penelitian diharapkan mampu menjadi sumber informasi baru dalam penggunaan hormon asam salisilat dan BAP dengan komposisi yang tepat dalam media untuk pertumbuhan tanaman anggrek secara *in vitro* terutama pada pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*. Dengan demikian, penyediaan bibit tanaman anggrek dapat dilakukan secara cepat dalam jumlah yang banyak dan efektif.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama empat bulan yaitu pada bulan April sampai Juni 2021 bertempat di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA dan UPT Laboratorium Terpadu Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bahan dan alat

Bahan penelitian yang digunakan berupa protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* yang berasal dari laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Jawa Tengah. Bahan sterilan yang digunakan, alkohol 70% untuk mensterilkan ruang laminar air flow. Bahan Media yang digunakan adalah *Murashige-Skoog* (MS). Hormon/zat pengatur yang digunakan adalah *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan asam salisilat. Peralatan yang digunakan adalah cawan petri, gelas beker, botol kultur, dissecting kit (pinset, gunting, scapel), pipet, aluminium foil, plastic wrap, sprayer, gelas ukur, hot plate stirrer, magnetic stirrer, batang pengaduk, oven, kertas buram, *Laminar Air Flow* (LAF), autoclave, neraca analitik dan sikat botol.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial (3x3) dengan 3 ulangan. Faktor pertama Asam salisilat yaitu 0 ppm, 30 ppm, 50 ppm; dan faktor kedua BAP yaitu 0 ppm, 1 ppm dan 5 ppm. Kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan BAP dan asam salisilat pada protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Kombinasi perlakuan asam salisilat (ppm)	BAP (ppm)		
	0	1	5
0 (X)	BAP ₀ SA ₀	BAP ₁ SA ₀	BAP ₅ SA ₀
30 (Y)	BAP ₀ SA ₃₀	BAP ₁ SA ₃₀	BAP ₅ SA ₃₀
50 (Z)	BAP ₀ SA ₅₀	BAP ₁ SA ₅₀	BAP ₅ SA ₅₀

Keterangan: Media Kontrol : konsentrasi BAP 0 ppm dan Asam Salisilat 0 ppm; Media BAP 1: konsentrasi BAP 1 ppm; Media BAP 5: konsentrasi BAP 5 ppm; Media SA 30: konsentrasi Asam Salisilat 30 ppm; Media SA 50: konsentrasi Asam Salisilat 50 ppm; Media B1SA30: konsentrasi BAP 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; Media B1SA50: konsentrasi BAP 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; Media B5SA30: konsentrasi BAP 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; Media B5SA50: konsentrasi BAP 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Pembuatan media

Media perlakuan yang digunakan adalah media MS. Media MS ditimbang seberat 4,43 gram, dan dilarutkan dalam 500 ml aquades. Ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP pada konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, dan 5 ppm sesuai dengan rancangan percobaan, diaduk merata. Ditambahkan gula sebanyak 30 g dan diaduk hingga larut sempurna. Ditambahkan aquades sampai volume hampir mencapai 1 liter (\pm 950 ml). Larutan media diukur pHnya dengan pH meter atau kertas pH, dan ditetapkan pH nya pada kisaran 5,8-5,6. Jika larutan media terlalu basa maka ditambahkan 1-3 tetes larutan HCl 1 N; dan jika terlalu asam maka ditambahkan 1-3 tetes larutan NaOH 1 N. Agar sebanyak 8 gram dimasukkan ke dalam larutan media, diaduk sampai larut. Aquades ditambahkan sampai volume akhir larutan media 1 L (1000 ml). Larutan media dipanaskan di atas hot plate sambil dihomogenkan dengan magnetik stirrer, sampai semua agar larut sempurna (mendidih). Media disterilisasi dengan autoklaf, pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Media yang sudah di sterilkan kemudian ditambahkan SA pada konsentrasi 0 ppm, 30 ppm, dan 50 ppm, kegiatan dilakukan di dalam ruang LAF yang steril, kemudian media dituang ke dalam botol-botol kultur steril (dengan ketebalan media kira-kira 1/5 tinggi botol kultur). Media disimpan pada rak-rak media dalam ruang kultur dan diinkubasi selama 7 hari untuk memastikan media tidak mengalami kontaminasi.

Subkultur protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Sub kultur dilakukan dengan menyiapkan eksplan yang berupa protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*, alat dan media yang akan digunakan. Ruangan subkultur yaitu *Laminar Air Flow* (LAF) di semprot dengan alkohol 70% untuk membersihkan dan mensterilkan bagian dalam LAF. Peralatan yang meliputi gunting, bunsen, scapel, mata pisau, cawan petri, pinset, dan spatula dimasukkan ke

dalam LAF. Lampu UV pada LAF dinyalakan selama 2 jam. Selanjutnya, protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* dimasukan ke dalam LAF, beserta sejumlah media yang digunakan dalam penelitian, yang mana sebelum dimasukkan ke dalam LAF disemprot dahulu dengan alkohol 70%. Eksplan anggrek yang berupa protokorm dikeluarkan dalam botol kultur dengan pinset yang sebelumnya sudah dilewatkan diatas bunsen, selanjutnya protokorm diletakkan pada cawan petri. Kemudian, satu per satu protokorm anggrek disubkultur pada media perlakuan dengan hati-hati. Media perlakuan ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrab, serta diberi identitas. Media selanjutnya diletakkan di ruang inkubasi.

Pengamatan lingkungan

Faktor lingkungan dalam inkubasi kultur adalah intensitas cahaya 4.000-5.000 lux, suhu inkubasi sekitar 23-25°C dan kelembaban antara 50% - 60% (Bhowmik dan Rahman 2017).

Pengamatan pertumbuhan kultur

Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 6 minggu setelah penanamann eksplan pada media perlakuan. Parameter yang diamati adalah berat basah, panjang akar, tinggi tanaman, tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun. Parameter yang hanya diamati di awal dan di akhir meliputi berat basah, tinggi tanaman, panjang akar dan tinggi tunas, sedangkan parameter jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun diamati setiap minggunya.

Analisis data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif berupa berat basah, panjang akar, tinggi tanaman, tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan jumlah daun dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*); dan dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat basah protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Media pertumbuhan anggrek secara in vitro, memerlukan 4 komponen pokok yaitu unsur makro, unsur mikro, vitamin dan hormon, serta senyawa kompleks sebagai tambahan. Kandungan pada media digunakan tanaman untuk menjalankan sistem respirasi. Tanaman kultur yang melakukan respirasi menghasilkan ATP yang berguna untuk membantu mensintesis senyawa esensial, senyawa ini digunakan tanaman untuk melakukan proses pemanjangan sel, pembelahan sel dan pembesaran sel (Agrawal 1989; Widiastoety et al. 2009). Aktivitas metabolisme tanaman akan mempengaruhi berat basah tanaman.

Tabel 2. Rata-rata berat basah protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* setelah perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Parameter	Kontrol	BAP 1	BAP 5	SA 30	SA 50	B1SA30	B1SA50	B5SA30	B5SA50
Berat Basah (gr)	0,0159 ± 0,0046	0,0141 ± 0,0023	0,0373 ± 0,0269	0,0120 ± 0,0125	0,0102 ± 0,0068	0,0079 ± 0,0052	0,0063 ± 0,0013	0,0061 ± 0,0015	0,0102 ± 0,0068

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Tabel 3. Rata-rata tinggi tanaman protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* setelah perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Parameter	Kontrol	BAP 1	BAP 5	SA 30	SA 50	B1SA30	B1SA50	B5SA30	B5SA50
Tinggi Tanaman (cm)	0,7200 ± 0,1095	0,9000 ± 0,1732	0,9000 ± 0,1871	0,6800 ± 0,2588	0,7400 ± 0,1673	0,7800 ± 0,2168	0,8000 ± 0,0707	0,7200 ± 0,0837	0,6400 ± 0,1817

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Pertambahan massa sel akan meningkatkan berat basah pada tanaman kultur. Hasil rerata berat basah (Tabel 2), diketahui bahwa nilai berat basah yang paling tinggi adalah pada perlakuan BAP 5, sedangkan berat basah tanaman paling rendah pada perlakuan B5SA30 (BAP 5 ppm dan asam salisilat 30 ppm). Berat basah tanaman kultur dipengaruhi oleh naiknya kadar air dan jumlah selnya. Perlakuan BAP 5 memiliki jumlah daun yang banyak, sehingga memungkinkan untuk menyimpan kadar air lebih banyak di dalam tubuhnya. Respon pertumbuhan selalu dikaitkan dengan pengaruh dari hormon. Interaksi antara sitokinin eksogen yang diberikan pada media perlakuan dengan auksin endogen menyebabkan pembelahan sel meristem yang berdampak pada peningkatan massa tanaman (Markal et al. 2015). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa adanya penambahan sitokinin (BAP) pada konsentrasi 5 ppm, terbukti paling efektif dibandingkan dengan pemberian ZPT pada media perlakuan yang lainnya. Hal ini disebabkan karena peran dari sitokinin yang mampu meningkatkan berat basah tanaman.

Tinggi tanaman protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

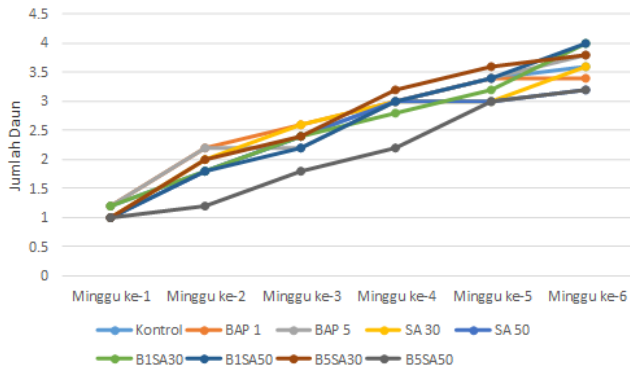
Tinggi tanaman merupakan parameter yang umum diamati karena mudah untuk melihat respon tanaman terhadap perlakuan yang diberikan. Pertambahan tinggi tanaman tidak terlepas dari peran hormon auksin, karena hormon ini memacu pemanjangan sel. Hormon auksin mempengaruhi sintesis protein struktural untuk memulihkan dinding sel, setelah adanya proses perentangan/pemanjangan sel. Hasil penelitian (Tabel 3), menunjukkan bahwa pada semua perlakuan memberikan pengaruh yang positif terhadap pertumbuhan tinggi tanaman. Pertambahan tinggi tanaman diketahui paling

efektif pada media perlakuan BAP, karena baik perlakuan BAP 1 dan BAP 5 memiliki rata-rata yang sama. Dari hasil tersebut, maka dapat diketahui bahwa pemberian BAP pada taraf konsentrasi 1 ppm hingga 5 ppm, masih dalam perimbangan yang normal dengan hormon auksin endogen. Menurut Paramartha et al. (2012), aktivasi sitokinin di dalam sel, merupakan bentuk peningkatan dari hormon auksin.

Terjadinya peningkatan hormon auksin akan memacu pemanjangan sel, sehingga protokorm anggrek akan mengalami peningkatan tinggi. Adanya pertambahan tinggi tanaman tidak terlepas dari dua faktor yaitu pembelahan dan pemanjangan sel, interaksi ini dimungkinkan membuat tanaman tumbuh semakin besar, dimana proses ini terjadi di jaringan meristem pada titik tumbuh batang (Untari 2003). Penelitian Hatta et al. (2008), melaporkan bahwa penambahan sitokinin akan berdampak positif pada pembelahan sel dan morfogenesis sel, sedangkan auksin akan mempengaruhi pemanjangan dan pertumbuhan sel.

Jumlah daun protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Organ tanaman yang mendukung proses fotosintesis adalah daun. Organ daun terbentuk dari berbagai unsur makro dan mikro. Parameter jumlah daun dapat menjadi indikator dalam mengetahui peningkatan biomassa sel, semakin banyak daun yang terbentuk maka metabolisme sel juga meningkat. Hasil pengamatan inkubasi selama 6 minggu (Gambar 1), menunjukkan bahwa peningkatan jumlah daun protokorm anggrek. Kenaikan jumlah daun seiring dengan waktu inkubasi. Komposisi media pertumbuhan akan memberikan pengaruh pembentukan daun pada protokorm anggrek.



Gambar 1. Pertambahan jumlah daun protocorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* selama 6 minggu inkubasi pada perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Media perlakuan masing-masing memberikan pengaruh yang baik untuk pertumbuhan jumlah daun. Rata-rata untuk tingkat pertumbuhan daun setiap perlakuan hampir sama. Kombinasi media B1SA50 (BAP 1 ppm dan asam salisilat 50 ppm) memberikan pengaruh paling baik untuk pertumbuhan daun protocorm anggrek. Hal ini diduga karena adanya hormon BAP dapat memacu pembelahan sel akan menginisiasi pembentukan organ daun. Hormon asam salisilat yang berperan dalam kombinasi perlakuan tersebut, diketahui mampu mempengaruhi proses fisiologi maupun biokimia tanaman sebagai antioksidan (Saruhan et al. 2012). Proses kerja hormon sitokinin (BAP) tidak akan terlepas dari interaksi dengan fitohormon lainnya, baik dalam memacu maupun menghambat proses pembelahan sel. Penelitian yang sejenis juga dilaporkan oleh Kartiman et al. (2018), bahwa pemberian hormon BAP eksogen akan memberikan perimbangan yang sesuai terhadap interaksi dengan hormon auksin endogen, sehingga meningkatkan pembentukan daun pada eksplan *Ananas comosus*.

Jumlah dan panjang akar protocorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Pembentukan akar dapat terjadi melalui proses interaksi antara hormon sitokinin dan auksin. Kerja hormon auksin yang berperan dalam pemanjangan sel dan pembentukan dinding sel pada bagian pucuk memiliki konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini juga didukung dengan pernyataan Karjadi (2002), adanya pemberian ZPT pada dosis rendah dapat mendorong terbentuknya organ tanaman, tetapi jika dosis yang diberikan terlalu tinggi akan berpengaruh negatif bahkan menghambat perkembangan dan

pertumbuhan tanaman. Pertambahan panjang akar pada protocorm anggrek sangat dipengaruhi oleh hormon auksin. Menurut Maryani dan Zamroni (2005), menyatakan bahwa kandungan auksin pada tanaman akan mempengaruhi pemanjangan sel dan pertumbuhan tanaman tersebut.

Hasil rata-rata panjang akar (Tabel 4), memberikan gambaran bahwa tidak semua perlakuan memberikan pengaruh yang baik terhadap pertumbuhan panjang akar. Media tanpa penambahan hormon memiliki nilai yang lebih tinggi dibanding perlakuan yang lain. Hal ini kemungkinan komposisi hormon endogen antara sitokinin dan auksin sudah cukup optimal dalam peningkatan panjang akar protocorm anggrek. Kandungan hormon endogen auksin pada protocorm anggrek diketahui sudah tinggi jika dibandingkan dengan hormon sitokinin, tanpa adanya penambahan media perlakuan. Pada media perlakuan kombinasi B1SA50, B5SA30, dan B5SA50 akar protocorm tidak mengalami pertumbuhan. Hal ini karena dengan adanya penambahan auksin eksogen, ternyata dapat menghambat pertumbuhan akar protocorm anggrek. Jika konsentrasi auksin endogen pada tanaman sudah cukup tinggi maka arah pertumbuhan eksplan akan mendorong pembentukan akar dan pemanjangan sel (Kurnianingsih et al. 2009). Berdasarkan hal tersebut, pertumbuhan akar paling efektif pada media tanpa penambahan hormon.

Morfogenesis akar pada protocorm anggrek akan terjadi dengan adanya kadar hormon yang tidak melebihi toleransi tanaman tersebut. Hormon auksin endogen pada tanaman apabila kadarnya sudah tinggi, maka tidak perlu adanya penambahan hormon eksogen lagi. Pada parameter pertambahan jumlah akar (Gambar 2), menunjukkan bahwa awal munculnya akar pada protocorm anggrek, teramati pada minggu ke-2 pasca penanaman, yaitu pada perlakuan asam salisilat 50 ppm. Akar mulai terlihat di minggu ke-3 pada media perlakuan kontrol dan B1SA30 (BAP 1 ppm dan asam salisilat 30 ppm). Pada minggu ke-4 media perlakuan asam salisilat 30 ppm, mulai menunjukkan adanya pertumbuhan akar. Sedangkan pada minggu ke-5 dengan media B5SA50 (BAP 5 ppm dan asam salisilat 50 ppm) baru terbentuk akar. Selama 6 minggu masa inkubasi, media perlakuan kontrol memberikan pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan media perlakuan yang lain.

Kandungan auksin endogen pada setiap protocorm anggrek berbeda-beda, yang akan menghasilkan pengaruh fisiologi yang berbeda pula. Tidak hanya perbedaan konsentrasi auksin saja, adanya konsentrasi sitokinin dan zat lain juga akan mempengaruhi terhadap proses fisiologis tanaman. Menurut Karjadi dan Buchory (2007) proses pembentukan organ tanaman merupakan hasil interaksi antara sitokinin dan auksin dengan konsentrasi tertentu. Perlakuan media tanpa penambahan hormon (kontrol) memiliki hasil yang terbaik pada pertumbuhan panjang akar dan jumlah akar.

Tabel 4. Rata-rata panjang akar protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* setelah perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

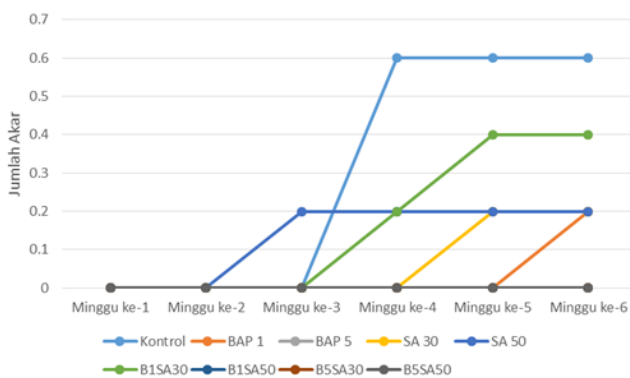
Parameter	Kontrol	BAP 1	BAP 5	SA 30	SA 50	B1SA30	B1SA50	B5SA30	B5SA50
Panjang akar (cm)	0,1800 ± 0,1789	0,0200 ± 0,0447	0,0000 ± 0,0000	0,0800 ± 0,1789	0,1000 ± 0,2236	0,1200 ± 0,1789	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Tabel 5. Rata-rata tinggi tunas protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* setelah perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Parameter	Kontrol	BAP 1	BAP 5	SA 30	SA 50	B1SA30	B1SA50	B5SA30	B5SA50
Tinggi Tunas (cm)	0,0000 ± 0,0000	0,1600 ± 0,2302	0,2600 ± 0,3578	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

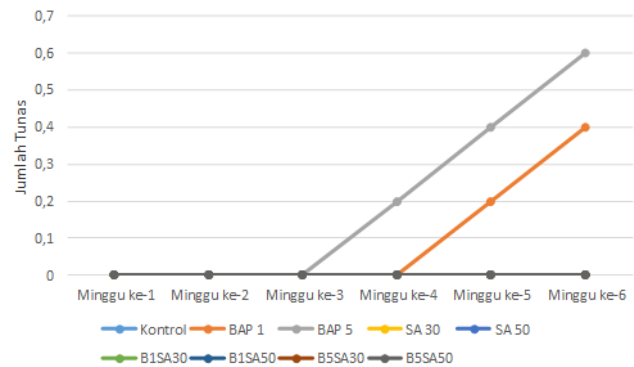


Gambar 2. Pertambahan jumlah akar protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* selama 6 minggu inkubasi pada perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Jumlah dan tinggi tunas protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Tunas merupakan organ vegetatif yang terbentuk dari proses metabolisme sel, yang umumnya dipengaruhi oleh hormon dalam tubuh. Pembentukan tunas juga dipengaruhi oleh adanya perbandingan auksin dan sitokinin yang akan memberikan pengaruh yang berbeda pada setiap spesies anggrek. Hormon sitokinin diketahui mampu menginduksi terbentuknya tunas. Fase pertumbuhan tinggi tunas lebih dipengaruhi oleh adanya hormon auksin. Hormon auksin mempunyai peran dalam pemanjangan sel (Mulyono 2010).



Gambar 3. Pertambahan jumlah tunas protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* selama 6 minggu inkubasi pada perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Keterangan: Kontrol: 0 ppm; BAP 1: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm; BAP 5: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm; SA 30: Asam Salisilat 30 ppm; SA 50: Asam Salisilat 50 ppm; B1SA30: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B1SA50: *Benzyl Amino Purine* 1 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm; B5SA30: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 30 ppm; B5SA50: *Benzyl Amino Purine* 5 ppm dan Asam Salisilat 50 ppm

Pada setiap tanaman umumnya memiliki kandungan hormon auksin dan sitokinin endogen.

Hasil pada tabel 5 menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan tinggi tunas hanya ditunjukkan oleh perlakuan BAP 1 ppm dan BAP 5 ppm. Pertambahan tinggi tunas yang optimal pada media perlakuan BAP 5 ppm. Hormon BAP merupakan hormon yang tergolong sitokinin. Kerja dari sitokinin adalah mempengaruhi pembelahan sel. Penambahan hormon sitokinin secara eksogen pada media perlakuan ini belum melebihi batas wajar, sehingga masih berpengaruh dalam

meningkatkan pertambahan tinggi tunas (Dwiyani 2013). Hal ini terbukti dari hasil penelitian yang menunjukkan bahwa hormon auksin masih mampu meningkatkan pemanjangan sel, sehingga tinggi tunas masih dapat bertambah. Menurut Mulyono (2010), penambahan dinding sel pada proses pemanjangan sel oleh hormon auksin, membuat dinding sel semakin menumpuk pada ujung sel, sehingga terjadi pemanjangan sel pada ujung tunas.

Tunas yang terbentuk selama 6 minggu inkubasi (Gambar 3), hanya terjadi pada media perlakuan BAP 5 ppm dan BAP 1 ppm. Media perlakuan BAP 5 ppm menunjukkan pada minggu ke-3 tunas sudah mulai terbentuk, pada media BAP 1 ppm, tunas terbentuk pada minggu ke-4. Adanya variasi media belum tentu akan berdampak terhadap obyek penelitian. Media perlakuan memiliki komposisi yang berbeda, sehingga akan memberikan pengaruh yang berbeda pula. Hal ini sesuai yang diungkapkan oleh Decruse et al. (2003) yang menyatakan bahwa pengaruh media perlakuan tergantung pada komposisi, jenis media dan konsentrasi. Hal ini juga didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Riva et al. (2016) pada anggrek *Dendrobium bensoniae* dan Hossain et al. (2010) pada anggrek *Cymbidium giganteum*. Dalam penelitian tersebut dilaporkan bahwa pembentukan tunas anggrek paling efektif terjadi pada media BAP. Hormon BAP dalam kadar konsentrasi 1 ppm dan 5 ppm, optimal dalam meningkatkan jumlah tunas dan pertumbuhan tinggi tunas.

Interaksi hormon BAP dan asam salisilat pada pertumbuhan kultur protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*

Tumbuhan memiliki hormon pada tubuhnya, berperan untuk membantu proses pertumbuhan tanaman atau dapat diartikan sebagai fitohormon. Peranan hormon pertumbuhan sangatlah penting, tanpa adanya hormon berarti tidak ada pertumbuhan. Hormon pada tumbuhan merupakan senyawa organik bukan hara, apabila dalam jumlah sedikit dapat dapat mendukung, menghambat, maupun merubah proses fisiologi tumbuhan tersebut. Pengaruh fisiologi yang disebabkan oleh hormon dapat mempengaruhi pola pertumbuhan, sehingga pada akhirnya akan terbentuk akar, daun, batang dan bagian-bagian yang lainnya. Menurut Karjadi dan Buchory (2007), proses pembentukan organ tanaman merupakan hasil interaksi antara sitokinin dan auksin dengan konsentrasi tertentu. Hasil pengamatan protokorm selama 6 minggu masa inkubasi menunjukkan terjadinya pertumbuhan pada protokorm anggrek. Awalnya protokorm hanya berbentuk bulatan hijau yang kecil, setelah masa inkubasi dapat terlihat bahwa protokorm mengalami pertumbuhan, ada yang mengalami pertumbuhan akar, tunas, berat basah, tinggi tanaman, panjang akar, tinggi tunas dan pertumbuhan jumlah daun. Hal tersebut membuktikan bahwa adanya hormon pada tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan. Penelitian ini yang menggunakan hormon BAP dan asam salisilat, menunjukkan bahwa kedua hormon ini mampu mempengaruhi pertumbuhan dari protokorm, sehingga terbentuk organ baru pada proses pertumbuhannya.

Hasil analisis ANOVA (Tabel 6), menunjukkan bahwa pemberian hormon BAP dan asam salisilat tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan. Data penelitian memiliki standar deviasi yang masih tinggi dan pola persebarannya yang tidak sama antara variabel yang diuji, sehingga memungkinkan hasil analisis tidak signifikan.

Analisis ANOVA sudah membuktikan tidak ada yang signifikansi. Akan tetapi perlakuan BAP dan asam salisilat yang terpisah dapat dibedakan dalam mempengaruhi parameter penelitian. Penggunaan hormon BAP pada media perlakuan, hanya berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah tunas, berat basah, dan tinggi tunas. Penelitian Hatta et al. (2008) melaporkan bahwa penambahan sitokinin akan berdampak positif pada pembelahan sel dan morfogenesis sel. Hal senada juga diungkapkan oleh Jafari et al. (2011), bahwa BAP secara umum dikenal dapat untuk mengurangi dominansi meristem apikal dan menginduksi pembentukan tunas adventif dari eksplan meristematik. Hormon asam salisilat berpengaruh secara signifikan terhadap parameter panjang akar, sedangkan untuk parameter yang lain nilainya tidak signifikan. Hormon BAP mempengaruhi lebih banyak parameter dibandingkan dengan hormon asam salisilat. Menurut oleh Decruse et al. (2003), pengaruh media perlakuan tergantung pada komposisi, jenis media dan konsentrasi. Variasi hormon BAP dan asam salisilat hanya memberikan pengaruh yang nyata pada parameter berat basah. Adanya parameter yang tidak terpengaruh secara signifikan perlu dilakukan penambahan ulangan, agar standar deviasi dan pola persebaran datanya dapat merata.

Tabel 6. Analisis ANOVA protokorm anggrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* setelah perlakuan hormon asam salisilat dan Benzyl Amino Purine

	Variable	Sig.
BAP	Jumlah_Tunas	.017 ^{ab}
	Jumlah_Daun	.378 ^a
	Jumlah_Akar	.353 ^a
	Berat_Basah	.001 ^{ab}
	Panjang_Akar	.173 ^a
	Tinggi_Tanaman	.199 ^a
Asam_Salisilat	Tinggi_Tunas	.013 ^{ab}
	Jumlah_Tunas	.217 ^a
	Jumlah_Daun	.188 ^a
	Jumlah_Akar	.054 ^a
	Berat_Basah	.110 ^a
	Panjang_Akar	.047 ^{ab}
BAP * Asam_Salisilat	Tinggi_Tanaman	.127 ^a
	Tinggi_Tunas	.113 ^a
	Jumlah_Tunas	.299 ^a
	Jumlah_Daun	.115 ^a
	Jumlah_Akar	.342 ^a
	Berat_Basah	.044 ^{ab}
	Panjang_Akar	.483 ^a
	Tinggi_Tanaman	.504 ^a
	Tinggi_Tunas	.245 ^a

Keterangan: *: kombinasi antara BAP dan Asam Salisilat; angka yang diikuti huruf yang berbeda, berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5% ("a" tidak beda nyata, "ab" berbeda nyata)



Gambar 3. Protokorm angrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* selama 6 minggu inkubasi pada perlakuan hormon asam salisilat dan *Benzyl Amino Purine*

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian variasi konsentrasi asam salisilat dan BAP berdasarkan grafik, tabel dan gambar protokorm selama 6 minggu masa inkubasi, terbukti menunjukkan bahwa protokorm angrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum* mengalami penambahan berat basah, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar, jumlah tunas, panjang akar dan tinggi tunas. Variasi konsentrasi asam salisilat dan BAP berdasarkan hasil uji ANOVA secara umum tidak ada yang memberikan pengaruh beda nyata terhadap pertumbuhan protokorm angrek *Dendrobium stocklebuschii* x *Dendrobium calophyllum*. Akan tetapi pengaruh pemberian hormon BAP lebih baik dibandingkan pengaruh hormon asam salisilat dan kombinasi keduanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal KC. 1989. Physiology and Biochemistry of Respiration. Agro Botanical Publishers, New Delhi.
- Czajkowski R, VanderWolf JM, Krolicka A, Ozymko Z, Narajczyk M, Kaczynska N, Lojkowska E. 2015. Salicylic acid can reduce infection symptoms caused by *Dickeya solani* in tissue culture grown potato (*Solanum tuberosum* L.) plants. Eur J Plant Pathol 141 (3): 545-558. DOI: 10.1007/s10658-014-0561-z.
- Decruse SW, Gangaprasad A, Seeni S, Menon VS. 2003. Micropropagation and ecorestoration of *Vanda spathulata*, an exquisite orchid. Plant Cell Tissue Organ Cult 72 (2): 199-202. DOI: 10.1023/A:1022267009531.
- Dwiyani R. 2013. Perkecambahan biji dan pertumbuhan protokorm angrek dari buah dengan umur yang berbeda pada media kultur yang diperkaya dengan ekstrak tomat. Jurnal Hortikultura Indonesia 4 (2): 90-93. [Indonesian]
- Galal A. 2012. Improving effect of salicylic acid on the multipurpose tree *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd tissue culture. Am J Plant Sci 3: 947-952. DOI: 10.4236/ajps.2012.37112.

- Hartati S, Darsana R. 2015. Karakterisasi anggrek alam secara morfologi dalam rangka pelestarian plasma nutfah. *Jurnal Agronomi Indonesia* 43 (2): 133-139. DOI: 10.24831/jai.v43i2.10419. [Indonesian]
- Hatta M, Hayati M, Irayani U. 2008. Pengaruh IAA dan BAP terhadap pertumbuhan tanaman nilam (*Pogestemon cablin* Benth) in vitro. *Jurnal Floratek* 3 (1): 56-60. [Indonesian]
- Hayat Q, Hayat S, Irfan M, Ahmad A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. *Environ Exp Bot* 68 (1): 14-25. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2009.08.005.
- Hossain MM, Sharma M, Teixeira SJA, Pathak P. 2010. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall ex Lindl. *Scientist Horticulture* 123 (4): 479-487. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.10.009.
- Hosseini SS, Mashayekhi K, Alizadeh M. 2009. Ethylene production and somatic embryogenesis of carrot explants as affected by salicylic acid treatments. *Am Eur J Agric Environ Sci* 6 (5): 539-545.
- Jafari N, Othman RY, Khalid N. 2011. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *Afr J Biotechnol* 10 (13): 2446-2450. DOI: 10.5897/AJB10.1149.
- Karjadi AK. 2002. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. ITB Bandung, Bandung. [Indonesian]
- Karjadi AK, Buchory A. 2007. Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan jaringan meristem bawang putih pada media B5. *Jurnal Holtikultura* 17 (3): 217-223. [Indonesian]
- Kartiman R, Sukma D, Aisyah S, Purwito A. 2018. Multiplikasi in vitro anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada perlakuan kombinasi NAA dan BAP. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* 5 (1): 75-87. DOI: 10.29122/jbbi.v5i1.2908. [Indonesian]
- Komaraiah P, Jogeswar G, Ramakrishna VS, Kavikishor PB. 2004. Acetylsalicylic acid and ammonium-induced somatic embryogenesis and enhanced plumbagin production in suspension cultures of *Plumbago rosea* L. *In Vitro Cell Dev Biol - Plant* 40 (2): 230-234. DOI: 10.1079/IVP2003502.
- Kumalawati AD. 2011. Study on genetic diversity and conservation of orchids in Wonosadi Forest, Gunung Kidul based on molecular analysis. *Intl Conf Biol Sci* 72-78.
- Kurnianingsih R, Marfuah, Matondang I. 2009. Pengaruh pemberian BAP (6-Benzyl Amino Purine) pada media multiplikasi tunas *Anthurium hookerii* Kuntt. Enum. secara in vitro. *Vis Vitalis* 2: 23-30.
- López-Orenes A, Martínez-Moreno JM, Calderón AA, Ferrer MA. 2013. Changes in phenolic metabolism in salicylic acid-treated shoots of *Cistus heterophyllus*. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 113 (3): 417-427. DOI: 10.1007/s11240-012-0281-z.
- Markal A, Isda MN, Fatolah S. 2015. Perbanyak anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BL. melalui induksi tunas secara in vitro dengan penambahan BAP dan NAA. [Disertasi]. Universitas Riau. [Indonesian]
- Maryani Y, Zamroni. 2005. Pengandaan tunas krisan melalui kultur jaringan. *Ilmu Pertanian* 12 (1): 51-55. [Indonesian]
- Mulyono D. 2010. Pengatur zar pengatur tumbuh auksin: Indole Butric Acid (IBA) dan sitokinin: Benzil Amino Purine (BAP) dan kinetin dalam elongasi pertunasan gaharu (*Aquilaria beccariana*). BPPT, Jakarta. [Indonesian]
- Paramartha AI, Ermavitalini D, Nurfadilah. 2012. Pengaruh penambahan kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium taurulinum* J.J. Smith secara in vitro. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 1 (1): 40-43. [Indonesian]
- Riva SS, Islam A, Hoque ME. 2016. In vitro regeneration and rapid multiplication of *Dendrobium bensoniae*, an indigenous ornamental orchid. *Agriculturists* 14 (2): 24-31. DOI: 10.3329/agric.v14i2.31341.
- Sakhanokho FH, Kelley YR. 2009. Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in *Hibiscus acetosella* and *Hibiscus moscheutos* (cv 'Luna Red'). *Afr J Biotechnol* 8 (8): 1474-1481.
- Saruhan N, Saglam A, Kadioglu A. 2012. Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant system in maize genotypes. *Acta Physiol Plant* 34 (1): 97-106. DOI: 10.1007/s11738-011-0808-7.
- Suryani R. 2015. *Outlook Anggrek*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Jakarta. [Indonesian]
- Untari R. 2003. Pengaruh Jenis Media Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) di Dalam Kultur In Vitro. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor. [Indonesian]
- Widiastoety D, Nina S, Muchtar S. 2010. Potensi anggrek *Dendrobium* dalam meningkatkan variasi dan kualitas anggrek bunga potong. *Jurnal Pertanian Litbang* 29 (3): 101-106. [Indonesian]
- Yusuf M, Fariduddin Q, Varshney P, Ahmad A. 2012. Salicylic acid minimizes nickel and /salinity - induced toxicity in Indian mustard (*Brassica juncea*) through an improved antioxidant system. *Environ Sci Pollut Res* 19 (1): 8-18. DOI: 10.1007/s11356-011-0531-3.