

Pengaruh pemberian variasi konsentrasi Benzil Amino Purin (BAP) dan Naphthaleneacetic Acid (NAA) terhadap pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Dendrobium verninha x lasianthera*

The effect of variation of concentration of Benzyl Amino Purine (BAP) and Naphthaleneacetic Acid (NAA) on the growth of *Protocorm Like Bodies* (PLB) *Dendrobium verninha x lasianthera* orchid

CHAIRIZA TRISTAN MAYRENDRA^{1,*}, SOLICHTATUN², ARI PITOYO³

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: chairiza13@student.uns.ac.id

Manuskrip diterima: 26 Agustus 2021. Revisi disetujui: 28 Januari 2022.

Abstrak. Mayrendra CT, Solichatun, Pitoyo A. 2022. Pengaruh pemberian variasi konsentrasi Benzil Amino Purin (BAP) dan Naphthaleneacetic Acid (NAA) terhadap pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Dendrobium verninha x lasianthera*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 8: 80-86. *Dendrobium* merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak diminati sebagai tanaman hias dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Salah satu jenis *Dendrobium* yang memiliki warna yang cantik dan menarik adalah *Dendrobium verninha x lasianthera*. Di Indonesia, perbanyakan bibit anggrek masih dilakukan secara konvensional dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga tidak mampu memenuhi permintaan pasar. Oleh karena itu dibutuhkan upaya perbanyakan yang efektif dan efisien yaitu melalui teknik kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi konsentrasi hormon BAP dan NAA yang tepat terhadap pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* *Dendrobium verninha x lasianthera*. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap faktorial. Penelitian ini menggunakan 9 perlakuan dengan kombinasi hormon pada media MS yaitu BAP (0, 2, 4 ppm) dan NAA (0, 2, 4 ppm). Data dianalisis menggunakan uji Anova pada taraf signifikansi 5% dan hasil uji F yang berpengaruh nyata dianalisis menggunakan uji DMRT pada taraf kepercayaan 95%. Hasil menunjukkan terdapat interaksi antara perlakuan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap tinggi PLB, jumlah daun, jumlah tunas, dan jumlah akar. Hasil terbaik dari masing-masing parameter yaitu perlakuan BAP 4 ppm + NAA 4 ppm untuk tinggi PLB, jumlah daun, jumlah tunas, dan bobot basah; perlakuan NAA 2 ppm dan NAA 4 ppm untuk jumlah akar.

Kata kunci: BAP, *Dendrobium verninha x lasianthera*, NAA, PLB

Singkatan: BAP: Benzyl Amino Purine; NAA: Naphthaleneacetic Acid; PLB: *Protocorm Like Bodies*

Abstract. Mayrendra CT, Solichatun, Pitoyo A. 2022. The effect of variation of concentration of Benzyl Amino Purine (BAP) and Naphthaleneacetic Acid (NAA) on the growth of *Protocorm Like Bodies* (PLB) *Dendrobium verninha x lasianthera* orchid. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 8: 80-86. *Dendrobium* is one type of orchid in great demand as an ornamental plant and has a high economic value. One type of *Dendrobium* with an attractive color is *Dendrobium verninha x lasianthera*. However, in Indonesia, the propagation of orchid seeds is still done conventionally and takes a long time, so it cannot meet market demand. Therefore, an effective and efficient propagation effort is needed through *in vitro* culture techniques. This study aims to determine the appropriate variation in the concentration of BAP and NAA hormones on the growth of *Protocorm Like Bodies* *Dendrobium verninha x lasianthera*. The design used was a factorial, completely randomized design. This study used nine treatments with a combination of hormones on MS media, namely BAP (0, 2, 4 ppm) and NAA (0, 2, 4 ppm). The data were analyzed using the ANOVA test at a significance level of 5%. The F test results that had a significant effect were analyzed using the DMRT test at a 95% confidence level. The results showed that there was an interaction between the treatment of growth regulators BAP and NAA on PLB height, number of leaves, number of shoots, and number of roots. The best results from each parameter were 4 ppm BAP + 4 ppm NAA for PLB height, number of leaves, number of shoots, and wet weight; treatment of 2 ppm NAA and 4 ppm NAA for the number of roots.

Keywords: BAP, *Dendrobium verninha x lasianthera*, NAA, PLB

Abbreviations: BAP: Benzyl Amino Purine; NAA: Naphthaleneacetic Acid; PLB: *Protocorm Like Bodies*

PENDAHULUAN

Anggrek dimasukkan dalam famili Orchidaceae. Di seluruh dunia, jumlah anggrek diperkirakan 17.000-35.000 jenis dari 450-850 marga. Di Indonesia sendiri diperkirakan ada lebih dari 5.000 jenis dari 40 genus yang tersebar di hutan Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Jawa, dan Papua (Wulanesa 2017). *Dendrobium* merupakan salah satu genus anggrek terbesar dari famili Orchidaceae. Spesies anggrek *Dendrobium* terbaik banyak tumbuh di Kawasan timur Indonesia, seperti Papua dan Maluku (Millar 1978). Salah satunya adalah anggrek *Dendrobium verninha x Dendrobium lasianthera* yang memiliki bentuk dan warna bunga yang indah. Pengembangan budidaya jenis anggrek hibrida tersebut belum banyak dikembangkan terutama pada kultur jaringan. Saat ini, industri florikultur anggrek di Indonesia masih dihadapkan pada masalah terbatasnya ketersediaan bibit tanaman (Kasutjaningati dan Irawan 2013), karena perbanyakan bibit yang masih dilakukan secara konvensional seperti pemisahan anakan dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga tidak mampu memenuhi permintaan pasar (Rachmawati et al. 2014).

Proses perkecambahan biji anggrek dan pertumbuhan anggrek di alam membutuhkan waktu yang cukup lama. Teknik kultur in vitro menjadi salah satu cara untuk mempercepat dan memacu pertumbuhan biji anggrek. Melalui metode kultur in vitro dapat diperoleh ratusan anggrek, memiliki sifat sama dengan induknya, dan pertumbuhannya relatif seragam (Sandra 2003). Menurut Habiba et al. (2014), perbanyakan massal melalui kultur jaringan (mikropropagasi) secara efektif dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan yang tepat, di antaranya yaitu Protocorm Like Bodies (PLB). Menurut Fang et al. (2016) PLB merupakan suatu struktur berbentuk bulatan-bulatan menyerupai protokorm yang dibentuk oleh jaringan eksplan dalam teknik in vitro. PLB berkembang dan membelah secara terus menerus serta dapat membentuk tunas dalam jumlah yang cukup banyak, sehingga cukup efektif untuk dijadikan eksplan dalam perbanyakan tanaman anggrek.

Komposisi media tumbuh merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan dalam kultur in vitro, penambahan zat pengatur tumbuh sebagai bentuk modifikasi media kultur in vitro perlu dilakukan untuk meningkatkan persentase pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hormon tanaman yang banyak dipakai dalam propagasi secara in vitro ada dua yaitu auksin dan sitokinin (Wetherell 1982). Penggunaan ZPT auksin ditujukan untuk inisiasi akar dan pembesaran sel sedangkan ZPT sitokinin ditujukan untuk memacu pembelahan, pemanjangan, dan diferensiasi sel (Zulkarnain 2009). Pada penelitian ini, golongan auksin yang digunakan adalah Naphtalene Acetic Acid (NAA) dan golongan sitokinin yang digunakan adalah Benzyl Amino Purine (BAP), karena memiliki efektivitas yang cukup tinggi terhadap induksi pembentukan organ tanaman (Pamungkas 2015). Penelitian yang dilakukan Sakina et al. (2019) membuktikan bahwa kombinasi BAP 1 ppm dan NAA 0,25 ppm dapat mengoptimalkan pertumbuhan jumlah tunas planlet *Dendrobium*. Penelitian Kartiman et al. (2018) juga menunjukkan kombinasi NAA 0 ppm dan

BAP 0,3 ppm mampu meningkatkan jumlah daun dan mengoptimalkan pertumbuhan tunas pada anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*). Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, maka penelitian ini diarahkan dalam usaha untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi BAP dan NAA serta mengetahui variasi konsentrasi BAP dan NAA yang tepat terhadap pertumbuhan PLB anggrek *Dendrobium verninha x lasianthera*.

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 yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Protocorm Like Bodies (PLB) Dendrobium verninha x lasianthera* berumur 1 bulan yang berasal dari laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta, akuades, media Murashige and Skoog (MS), hormon Naphtalene Acetic Acid (NAA), hormon Benzyl Amino Purine (BAP), NaOH 0,1 N dan HCL 0,1 N sebagai penyesuaian pH pada media tumbuh, alkohol 70 % sebagai bahan sterilan, sukrosa sebagai nutrisi organik pada media tumbuh, dan agar sebagai pematid media tumbuh.

Peralatan yang digunakan adalah autoklaf sebagai alat sterilisasi basah, dissecting kit seperti pinset, gunting, scalpel dan pisau scalpel, botol kultur, neraca analitik, hot plate magnetic stirer, pH meter, *Laminar Air Flow (LAF)*, bunsen, beaker glass, gelas ukur, mikropipet, pipet ukur, pipet volume, filler, penyemprot, batang pengaduk, sarung tangan lateks, masker, kertas label, rak kultur, alat tulis, dan alat dokumentasi.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan masing-masing dengan 5 ulangan. Faktor yang digunakan yaitu konsentrasi hormon BAP (0 ppm, 2 ppm, 4 ppm) dan hormon NAA (0 ppm, 2 ppm, 4 ppm). Perlakuan-perlakuan tersebut adalah sebagai berikut: kontrol: tanpa penambahan hormon (i), BAP 2: BAP 2 mg/l (ii), BAP 4: BAP 4 mg/l (iii), NAA 2: NAA 2 mg/l (iv), NAA 4: NAA 4 mg/l (v), B₂N₂: BAP 2 mg/l + NAA 2 mg/l (vi), B₂N₄: BAP 2 mg/l + NAA 4 mg/l (vii), B₄N₂: BAP 4 mg/l + NAA 2 mg/l (viii), B₄N₄ = BAP 4 mg/l + NAA 4 mg/l (ix).

Cara kerja

Pembuatan media

Media yang digunakan adalah media MS. Media tumbuh dibuat sebanyak 200 ml setiap perlakuan. Bahan agar ditimbang seberat 1,5 gram, sukrosa ditimbang seberat 6 gram, media MS seberat 0,886 gram. Sukrosa sebanyak 6 gram dan media MS dituang ke beaker glass. Konsentrasi hormon yang telah ditentukan ditambahkan ke gelas beker. Akuades dituangkan ke gelas beker sampai 150 ml. Media

dilarutkan dengan bantuan magnetic stirrer hingga homogen. Setelah media homogen, media diukur pH-nya menggunakan pH meter. Nilai pH media dibuat sekitar 5,6-5,8 dengan pemberian NaOH 1 N jika media masih terlalu asam, sedangkan jika terlalu basa ditetesi HCl 1 N. Setelah pH sesuai, bahan agar sebanyak 1,5 gram ditambahkan kemudian akuades ditambahkan hingga volume akhir 200 ml. Media dipanaskan dengan hotplate yang telah dilengkapi dengan magnetic stirrer. Setelah mendidih dan homogen, media dituang ke botol kultur. Mulut botol ditutup dengan aluminium foil serta diberi label. Botol kultur langsung disterilisasi dengan autoclave dengan pengaturan suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Botol kultur yang berisi media disimpan di ruang penyimpanan (rak kultur).

Subkultur PLB

Subkultur dilakukan secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF). Alat dan media yang akan digunakan. Sebelumnya digunakan, LAF disterilisasi dengan menyemprotkan dan menyeka permukaan tempat kerja LAF dengan alkohol 70%. Peralatan seperti gunting, pinset, scalpel, mata pisau, cawan petri, spatula, dan bunsen juga dimasukkan ke LAF. Lampu UV dinyalakan selama + 1 jam. Setelah penyinaran UV selesai, PLB anggrek dimasukkan ke dalam LAF beserta sejumlah media yang digunakan dalam penelitian. Alat-alat seperti pinset, scalpel, gunting yang diperlukan dalam penanaman dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dilalukan di atas api bunsen. Setelah itu diletakkan di botol berisi alkohol 70%. PLB diambil dengan pinset dan ditaruh ke cawan petri, kemudian dipisahkan jika PLB masih saling menempel. PLB dipilih yang seragam lalu ditanam ke botol kultur yang berisi media tumbuh. Pemotongan dan penanaman PLB dilakukan di dekat api bunsen agar menjaga kondisi tetap aseptik. Setelah ditanam, botol kultur ditutup kembali dengan aluminium foil dan diberi label.

Inkubasi

Botol kultur yang telah ditanami PLB diinkubasi di rak kultur dalam ruangan yang kondisinya terkontrol. Suhu ruang dipertahankan pada sekitar 22-25°C dan intensitas cahaya dipertahankan pada 1000-3000 lux. Pengamatan PLB dilakukan setiap minggu selama 6 minggu setelah penanaman. Parameter yang diamati adalah panjang akar,

Analisis data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif dianalisis dengan Anova (*Analysis of Variance*) pada taraf kesalahan 5%, jika hasil yang didapat berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%. Data kuantitatif yang diperoleh berupa tinggi PLB, jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar, dan bobot basah. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi PLB

Tinggi PLB merupakan salah satu ukuran tanaman yang sering diamati sebagai indikator pertumbuhan maupun parameter yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan yang diterapkan. Berdasarkan hasil analisis ANOVA dari data hasil pengamatan parameter tinggi PLB (cm), menunjukkan pemberian konsentrasi BAP dan NAA berpengaruh nyata atau signifikan ($\text{sig} < 0,05$) terhadap tinggi PLB. Interaksi pemberian konsentrasi BAP dan NAA tetap memberikan pengaruh terhadap tinggi PLB.

Berdasarkan tabel tersebut, perlakuan terbaik adalah B4N4 (BAP 4 ppm + NAA 4 ppm) dengan rata-rata tinggi PLB 1,74 cm sedangkan tinggi PLB terendah terdapat pada perlakuan BAP 2 ppm yaitu 0,92 cm. Dari hasil uji Duncan 5% yang terlampir pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan B4N4 dan B2N4 memberikan tinggi tanaman yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan lain. Pertambahan tinggi PLB terjadi karena adanya pemanjangan dan pembesaran jaringan. Hal ini sesuai dengan pendapat Evans et al. (1981), bahwa jaringan disebut tumbuh apabila terjadi penambahan massa jaringan atau ukuran jaringan menjadi lebih besar. Salisbury dan Ross dalam Marlin (2005) menyatakan bahwa batang yang sedang memanjang tidak memerlukan sitokinin eksogen karena kandungan sitokinin dalam jaringan sudah mencukupi untuk pemanjangan batang tersebut. Selain itu pada konsentrasi BAP yang terlalu tinggi, kemungkinan eksplan lebih mengarah pada multiplikasi tunas. Hal ini membuktikan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara in vitro dikendalikan oleh keseimbangan interaksi dari ZPT yang ada dalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media.

Jumlah daun

Daun merupakan tempat berlangsung fotosintesis, yaitu pembentukan karbohidrat karena pada daun. Sitompul dan Bambang (1995) berpendapat bahwa pengamatan daun sangat diperlukan sebagai indikator pertumbuhan sehingga menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi seperti pada pembentukan biomassa tanaman. Semakin banyak daun yang muncul pada eksplan, mengindikasikan pertumbuhan eksplan lebih baik.

Tabel 1. Rata-rata tinggi PLB anggrek *Dendrobium verninha* x *D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi

Jenis media	Rata-rata tinggi PLB (cm)
Kontrol	0,94 ^a
BAP 2	0,92 ^a
BAP 4	1,08 ^{ab}
NAA 2	1,2 ^{ab}
NAA 4	1,24 ^{abc}
B ₂ N ₂	1,38 ^{abc}
B ₂ N ₄	1,48 ^{bc}
B ₄ N ₂	1,44 ^{abc}
B ₄ N ₄	1,74 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel tersebut, perlakuan terbaik pada parameter jumlah daun adalah B₄N₄ (BAP 4 ppm + NAA 4 ppm) dengan rata-rata jumlah daun sebesar 7,2 helai, sedangkan jumlah daun PLB terendah terdapat pada perlakuan NAA 2 ppm yaitu 2,6 cm. Dari hasil uji DMRT pada taraf kepercayaan 95% yang terlampir pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan B₄N₄ memberikan jumlah daun yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan lain. Pemberian sitokinin berupa BAP dalam konsentrasi yang lebih besar akan menstimulasi pertumbuhan daun pada PLB (Purita et al. 2017). Sehingga diduga pada konsentrasi 4 ppm BAP ini cukup optimal untuk mendukung pembentukan daun pada PLB, penurunan konsentrasi BAP yang diberikan justru memperlambat kemunculan daun. Pada perlakuan NAA tanpa BAP, jumlah daun lebih kecil daripada perlakuan BAP. Hal ini diduga disebabkan tingginya konsentrasi NAA akan menghambat pertumbuhan daun, tetapi berfungsi dalam pembesaran sel (Wareing dan Phillips 1970). NAA yang tergolong auksin dapat meningkatkan pembesaran sel. Menurut Taiz and Zeiger (2012), pembesaran sel disebabkan oleh meningkatnya kadar gula dalam vakuola sel sehingga tekanan osmosisnya meningkat. Hal ini menyebabkan turunnya pH sel sehingga susunan dinding sel menjadi lebih teratur akibatnya dinding sel menjadi lebih elastis. Auksin akan mengeluarkan H⁺ dan ion yang menurunkan pH sehingga terjadi pengenduran dinding sel. Auksin juga meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, meningkatkan sintesis protein, dan meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel. Hubungannya dengan permeabilitas sel, auksin meningkatkan difusi masuknya air ke dalam sel, hal ini terjadi karena auksin mendukung peningkatan permeabilitas masuknya air ke dalam sel.

Jumlah tunas

Tunas merupakan hasil diferensiasi PLB sekunder yang terbentuk selama periode pengamatan. Pembentukan tunas merupakan faktor yang penting untuk mengetahui kemampuan PLB untuk mendiferensiasi selnya. Hasil dari uji DMRT pada taraf kepercayaan 95% seperti yang terlihat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan BAP 4 ppm + NAA 4 ppm (B₄N₄) memberikan pengaruh yang beda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain. Jumlah tunas yang terbentuk pada tiap perlakuan dipengaruhi oleh kombinasi BAP dan NAA pada konsentrasi yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1992) bahwa kecepatan sel membelah dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi zat pengatur tumbuh tertentu dalam konsentrasi tertentu. Satu molekul ZPT saja dapat mempengaruhi cara kerja enzim, maka beberapa molekul ZPT dapat menyebabkan perubahan-perubahan fisiologis tanaman, karena enzim memegang peranan penting dalam setiap proses metabolisme. George dan Sherrington (1984), mengemukakan bahwa sitokinin alami yang terkandung di dalam tubuh eksplan dapat merangsang eksplan untuk membentuk tunas. Hal tersebut dimungkinkan juga karena perbandingan antara auksin dengan sitokinin yang rendah, yakni sitokinin lebih tinggi daripada auksin, sehingga terjadi ketidakseimbangan pada eksplan dan menyebabkan pembentukan tunas menjadi terhambat. Winarsih dan Priyono (2000), juga

menyatakan bahwa kombinasi antara auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan terbentuknya tunas pada eksplan. Menurut Schaller et al. (2014), sitokinin mampu meningkatkan pembelahan sel dengan mengatur siklus sel khususnya pengendalian pada fase G₁/S dan G₂ ke mitosis yang diatur oleh protein terikat kinase (CDK's) dan sub unitnya yaitu cyclins. Sitokinin mengaktifkan fosfatase untuk menghambat phosphate dari CDC₂ (phosphate yang tidak aktif). Pemberian NAA secara tunggal menunjukkan tidak adanya pertumbuhan tunas pada PLB, hal ini dikarenakan NAA tergolong auksin yang merangsang tumbuhnya akar.

Tabel 2. Rata-rata jumlah daun PLB *Dendrobium verninha x D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi

Jenis media	Pertambahan jumlah daun PLB (helai)
Kontrol	3,4 ^a
BAP 2	3,2 ^a
BAP 4	4,4 ^a
NAA 2	2,6 ^a
NAA 4	3 ^a
B ₂ N ₂	3,4 ^a
B ₂ N ₄	4,4 ^a
B ₄ N ₂	4,4 ^a
B ₄ N ₄	7,2 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata

Tabel 3. Rata-rata jumlah tunas PLB *Dendrobium verninha x D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi

Jenis media	Rata-rata jumlah tunas PLB (buah)
Kontrol	0 ^a
BAP 2	0 ^a
BAP 4	0,4 ^{ab}
NAA 2	0 ^a
NAA 4	0 ^a
B ₂ N ₂	0,2 ^a
B ₂ N ₄	0,4 ^{ab}
B ₄ N ₂	0,2 ^a
B ₄ N ₄	0,8 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata

Tabel 4. Rata-rata jumlah akar PLB *Dendrobium verninha x D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi

Jenis media	Rata-rata jumlah akar PLB (buah)
Kontrol	0,4 ^{ab}
BAP 2	0 ^a
BAP 4	0,2 ^a
NAA 2	1,6 ^c
NAA 4	1,6 ^c
B ₂ N ₂	1,0 ^{abc}
B ₂ N ₄	0,8 ^{abc}
B ₄ N ₂	1,4 ^{bc}
B ₄ N ₄	0,4 ^{ab}

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata

Jumlah akar

Jumlah akar pada pertumbuhan secara kultur jaringan menunjukkan eksplan sehat dan mampu menyerap nutrisi dari media secara optimal. Semakin banyak jumlah akar maka semakin luas pula jangkauan tanaman dan semakin banyak pula nutrisi yang dapat diserap (Hartati et al. 2016). Hasil yang diperoleh adalah jumlah akar terbanyak didapat dari perlakuan NAA 2 ppm dan NAA 4 ppm dengan jumlah akar sebanyak 8 buah. Sedangkan jumlah akar terendah yaitu pada perlakuan BAP 2 ppm dengan tidak tumbuhnya akar. Dari hasil uji Duncan 5 %, seperti yang terlihat pada Tabel 4 jenis media kontrol, BAP 2, BAP 4, dan B₄N₄ memberikan pengaruh jumlah akar yang tidak beda nyata, sedangkan jenis media lainnya yaitu NAA 2, NAA 4, B₂N₂, B₂N₄, dan B₄N₂ memberikan pengaruh jumlah akar yang berbeda nyata. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan akar planlet sangat dipengaruhi oleh kehadiran ZPT auksin yang relatif tinggi. Konsentrasi sitokinin yang tinggi biasanya akan menghambat pembentukan atau pertumbuhan akar planlet (Pradhan et al. 2013). Marlin (2005) juga menyatakan bahwa pembentukan akar dalam kultur in vitro memerlukan auksin tanpa sitokinin atau sitokinin dalam konsentrasi rendah. Pada saat level auksin relatif tinggi daripada taraf sitokinin, maka morfogenesis jaringan akan lebih mengarah ke pembentukan akar. Mekanisme kerja hormon auksin dalam mempengaruhi pemanjangan sel-sel tanaman khususnya akar yaitu dengan cara mempengaruhi pelenturan/pengendoran dinding sel. Menurut Putra dan Shofi (2015), auksin memacu protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H⁺ ke dinding sel. Ion H⁺ ini mengaktifkan enzim tertentu sehingga sel tumbuhan akan memanjang akibat air yang masuk secara osmosis. Setelah pemanjangan ini, sel terus tumbuh dengan mensintesis kembali material dinding sel dan sitoplasma.

Bobot basah

Jenis media B₄N₄ menjadi media yang paling besar pertambahan bobotnya dikarenakan media B₄N₄ mendominasi pada beberapa parameter seperti tinggi PLB, jumlah daun, panjang tunas, dan jumlah tunas. Penambahan bobot PLB berkaitan dengan laju penyerapan air dan kelembaban suhu. Hal ini juga mengindikasikan bahwa perlakuan B₄N₄ menjadi media yang paling efektif untuk diserap unsur haranya oleh PLB. Pertambahan bobot pada tiap PLB berbeda satu dengan yang lain, hal ini berkaitan dengan perubahan cadangan makanan pada PLB yang terus dipakai tanpa menaikkan bobot tubuh dan pembentukan akar yang belum berkembang secara sempurna. Menurut Sutriana et al. (2014), PLB yang tidak banyak bertambah bobot dikarenakan adanya kerusakan fisiologis yang mengakibatkan hidrasi berlebihan serta proses disimilasi, dimana anggrek mengalami penguraian makanan (cadangan makanan) dalam tubuh diurai menjadi energi

untuk proses pertumbuhan anggrek itu sendiri. Sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Sakina et al. (2019), pada anggrek *Dendrobium* dan Kartiman et al. (2018), pada anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) bahwa pemberian kombinasi BAP dan NAA dapat mempengaruhi pertumbuhan PLB anggrek dari segi parameter tinggi PLB, jumlah daun, jumlah tunas, dan jumlah akar. Hal ini juga membuktikan bahwa pertumbuhan anggrek secara in vitro dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi antara zat pengatur tumbuh, baik yang terkandung dalam eksplan itu sendiri (endogen) maupun yang diserap dari media (eksogen).

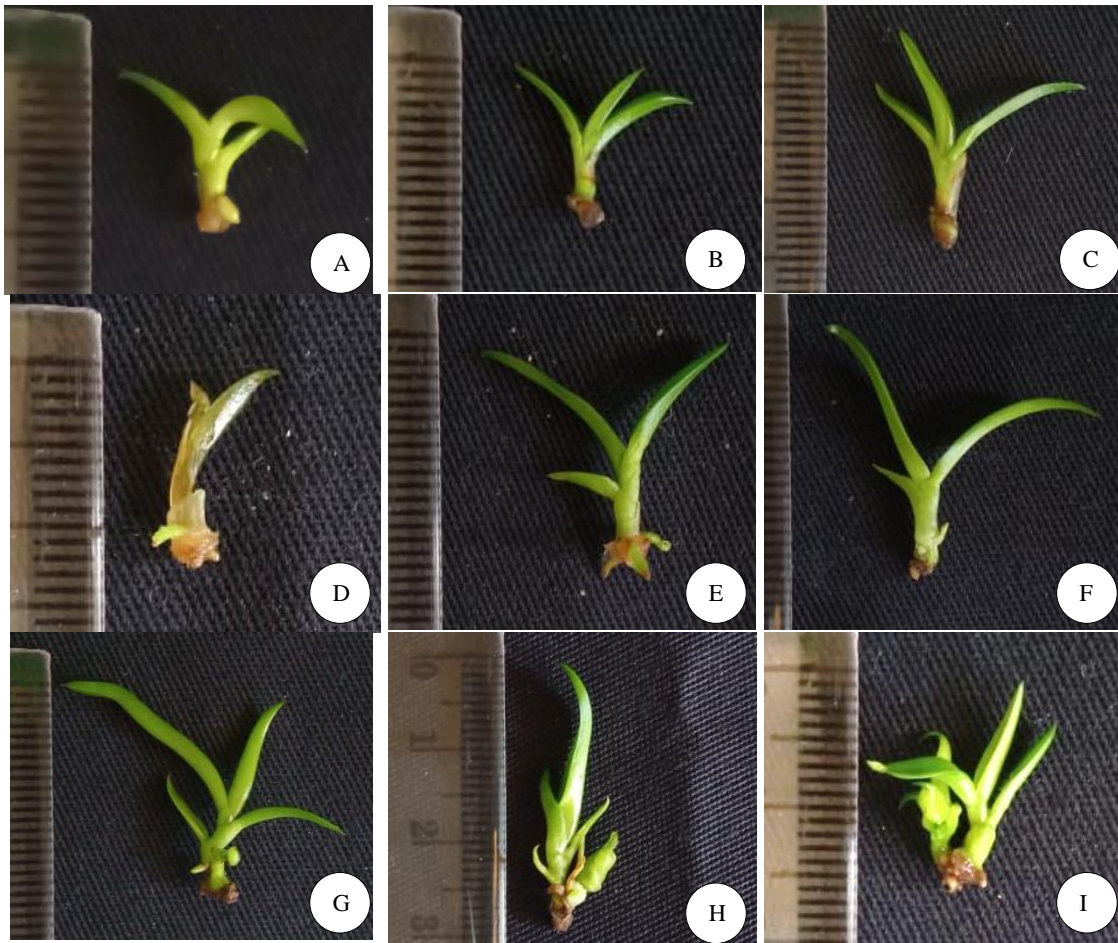
Deskripsi PLB anggrek *Dendrobium vernintha* x *lasianthera*

Berdasarkan hasil yang diperoleh, PLB anggrek dapat tumbuh dengan baik dengan ditandai PLB yang berwarna hijau dan beberapa sudah muncul tunas maupun akar. Beberapa PLB seperti pada Gambar 1D tampak PLB berwarna kecoklatan atau disebut browning. Warna coklat pada PLB disebabkan oleh peran enzim polyfenoloksidase yang mengoksidasi senyawa fenol yang keluar dari irisan eksplan. Senyawa fenol merupakan metabolit sekunder dan tersimpan dalam vakuola sel tanaman. Eksplan yang teriris menyebabkan vakuola pecah sehingga terjadi eksudasi senyawa fenol dan teroksidasi (Dwiyani 2015). Pada Gambar 1A terlihat kondisi daun PLB mulai menguning, hal ini dikarenakan kekurangan zat hijau daun atau mengalami klorosis. Klorosis merupakan kondisi suatu jaringan tumbuhan pada bagian daunnya telah mengalami kerusakan karena diindikasikan gagal dalam pembentukan klorofil pada daun sehingga daunnya tidak berwarna hijau, namun berwarna kuning atau tampak pucat memutih. Penyebab terjadinya klorosis juga disebabkan oleh bentuk kloroplas yang tidak normal, yaitu ukurannya menjadi relatif lebih kecil sehingga laju pembentukan klorofil lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasi klorofil. Hal ini mengakibatkan akumulasi gula sehingga daun mengalami klorosis (Funayama and Terashima 2006).

Tabel 5. Pertambahan bobot basah PLB *Dendrobium vernintha* x *D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi

Jenis media	Pertambahan bobot basah PLB (gram)
Kontrol	0,003 ^a
BAP 2	0,002 ^a
BAP 4	0,009 ^a
NAA 2	0,006 ^a
NAA 4	0,006 ^a
B ₂ N ₂	0,007 ^a
B ₂ N ₄	0,011 ^a
B ₄ N ₂	0,011 ^a
B ₄ N ₄	0,037 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata



Gambar 1. PLB *Dendrobium verninha* x *D. lasianthera* setelah 6 minggu inkubasi pada perlakuan: (A) kontrol, (B) BAP 2 ppm, (C) BAP 4 ppm, (D) NAA 2 ppm, (E) NAA 4 ppm, (F) BAP 2 ppm + NAA 2 ppm, (G) BAP 2 ppm + NAA 4 ppm, (H) BAP 4 ppm + NAA 2 ppm, (I) BAP 4 ppm + NAA 4 ppm

Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian hormon BAP 4 ppm + NAA 4 ppm menghasilkan pertumbuhan PLB terbaik, yaitu tinggi PLB tertinggi, jumlah daun terbanyak, jumlah tunas terbanyak, dan bobot basah tertinggi. Sedangkan pemberian hormon NAA 2 ppm dan NAA 4 ppm menghasilkan jumlah akar tertinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Solichatun, M.Si dan Bapak Ari Pitoyo, M.Sc yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk sampai penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwiyani R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Pelawa Sari, Bali. [Indonesian]
- Evans DA, Sharp WR, Flick CE. 1981. Growth and Behavior of Cell Cultures, Embryogenesis and Organogenesis. *Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture*. Academic Press, Londres. DOI: 10.1016/B978-0-12-690680-6.50008-5.
- Fang SC, Chen JC, Wei MJ. 2016. Protocorm and protocorm like bodies are molecularly distinct from zygotic embryonic tissue in *Phalaenopsis aphrodite*. *Plant Physiol* 171 (4): 2682-2700. DOI: 10.1104/pp.16.00841.
- Funayama S, Terashima I. 2006. Effects of Eupatorium yellow vein virus infection on photosynthetic rate, chlorophyll content and chloroplast structure in leaves of *Eupatorium makinoi* during leaf development. *Funct Plant Biol* 33 (2): 165-175. DOI: 10.1071/FP05172.
- George EF, Sherington PD. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Easter Press, England.
- Habiba SU, Ahasan KS MD M, Meskatul. 2014. Effect of 6-Benzylaminopurin (BA) and Hyaluronic Acid (HA) under white Light Emitting Diode (LED) on organogenesis in Protocorm-Like Bodies (PLBs) of *Dendrobium kingianum*. *Am-Eur J Agric Environ Sci* 14 (7): 605-609.
- Hartati S, Budiyo A, Cahyono O. 2016. Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur anggrek hasil persilangan *Dendrobium biggibum* X *Dendrobium liniale*. *Journal of Sustainable Agriculture* 31 (1): 33-37. DOI: 10.20961/carakatani.v31i1.11938. [Indonesian]
- Kartiman R, Sukma D, Aisyah SI, 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]
- Kasutjaningati, Irawan R. 2013. Media alternatif perbanyak in vitro anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*). *Jurnal Agroteknos* 3 (3): 184-189. [Indonesian]

- Marlin. 2005. Regenerasi in vitro planlet jahe bebas penyakit layu bakteri pada beberapa taraf konsentrasi 6-Benzylamino Purine (BAP) dan 1-Naphthalene Acetic Acid (NAA). *Jurnal-Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 7 (1): 8-14. [Indonesian]
- Millar A. 1978. *Orchids of Papua New Guinea*. Australian National University Press, Canberra, Australia.
- Pamungkas S. 2015. Pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan tunas eksplan tanaman pisang cavendish (*Musa paradisiaca* L.) melalui kultur in vitro. *AGROTECH Science Journal* 1 (2): 31-45. DOI: 10.21111/agrotech.v2i1.295. [Indonesian]
- Pradhan S, Paudel YP, Pant B. 2013. Efficient regeneration of plants from shoot tip explants of *Dendrobium densiflorum* Lindl., a medicinal orchid. *Afr J Biotechnol* 12 (12): 1378- 1383.
- Purita SY, Ardiarini NR, Basuki N. 2017. Pengaruh zat pengatur tumbuh jenis BAP terhadap pertumbuhan planlet sub kultur jaringan tanaman nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *Jurnal Produksi Tanaman* 5 (7): 1207-1212. [Indonesian]
- Putra RR, Shofi M. 2015. Pengaruh hormon Naphtalen Acetic Acid terhadap inisiasi akar tanaman kangkung air (*Ipomoea aquatica* Forssk.). *Jurnal Wiyata* 2 (2): 108-113. [Indonesian]
- Rachmawati F, Purwito A, Wiendi NMA, Mattjik NA, Winarto B. 2014. Perbanyakan massa anggrek *Dendrobium graditta* 10 secara in vitro melalui embriogenesis somatik. *Journal Hortikultura* 24 (3): 196-209. DOI: 10.21082/jhort.v24n3.2014.p196-209. [Indonesian]
- Sakina S, Anwar S, Kusmiyanti F. 2019. Pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) secara in vitro pada konsentrasi BAP dan NAA berbeda. *Jurnal Pertanian Tropik* 6 (3): 430-437. DOI: 10.32734/jpt.v6i3.3192. [Indonesian]
- Sandra E. 2003. *Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. Agromedia Pustaka, Jakarta. [Indonesian]
- Schaller GE, Street IH, Kieber JJ. 2014. Cytokinin and the cell cycle. *Curr Opin Plant Biol* 21: 7-15. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.05.015.
- Sitompul SM, Bambang G. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. UGM Press, Yogyakarta. [Indonesian]
- Sutriana SH, Jumin B, Mardaleni. 2014. Interaksi BAP dan NAA terhadap pertumbuhan eksplan anggrek Vanda secara in vitro. *Jurnal Dinamika Pertanian* 29 (1): 1-8. DOI: 10.25299/dp.v29i1.854. [Indonesian]
- Taiz L, Zeiger E. 2012. *Plant Physiology 5th Edition*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Wareing PF, Philips IDJ. 1970. *The Control of Growth and Differentiations in Plants*. Pergamon Press, Oxford.
- Wattimena GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB, Bogor. [Indonesian]
- Wetherel DF. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Avery Publishing Group, New Jersey, USA.
- Winarsih S, Priyono. 2000. Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan pengakaran tunas mikro pada *Asparagus* secara in vitro. *J Hort* 10 (1): 11- 17. [Indonesian]
- Wulanesa WOS. 2017. Eksplorasi dan karakterisasi anggrek epifit di Hutan Coban Trisula Kawasan Taman Nasional Bromo Tengger Semeru. *Jurnal produksi Tanaman* 5 (1): 125-131. [Indonesian]
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara, Jakarta. [Indonesian]