

**PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI SITOKININ
TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS ANGGREK
*Vanda tricolor***

Oleh :

Evo Wandu Eko Saputra, Innaka Ageng Rineksane, Gatot Supangkat
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah
Yogyakarta

ABSTRACT. *The objective of this study was to determine the exact type and concentration of cytokinin for the budding multiplication of Orchid Vanda tricolor. The experiment was conducted by experimental method which was arranged in completely randomized design (RAL) single factor consist of 7 treatments ie without ZPT, BAP 0.5 mg/L, BAP 1 mg/L, Thidiazuron 0.5 mg/L, Thidiazuron 1 mg/L, Kinetin 0.5 mg/L and Kinetin 1 mg/L. Every treatment consisted of 10 replications so that the total treatment unit was 70 units each treatment was added NA 0.5 mg/L and Activated charcoal 0.2 g/L and PPM (Plant Preservative Mixure) 0.5 mL/L into NDM medium. The results showed that BAP 0.5 mg / L was best in multiplication of Orchid Vanda tricolor plant, and cytokinin was a good growth regulator for growth of Orchid Vanda tricolor.*

Keywords : *Orchid Vanda tricolor, In Vitro Culture, Growing Regulatory Substance.*

INTISARI. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan konsentrasi sitokinin yang tepat untuk multiplikasi tunas Anggrek *Vanda tricolor*. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen yang disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal terdiri dari 7 perlakuan, yaitu tanpa ZPT, BAP 0,5 mg/L, BAP 1 mg/L, Thidiazuron 0,5 mg/L, Thidiazuron 1 mg/L, Kinetin 0,5 mg/L dan Kinetin 1 mg/L. Setiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan sehingga total unit perlakuan adalah 70 unit dengan masing-masing perlakuan ditambahkan NAA 0,5 mg/L dan Arang aktif 0,2 g/L serta PPM (*Plant Preservative Mixure*) 0,5 mL/L ke dalam medium NDM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BAP 0,5 mg/L paling baik dalam multiplikasi tanaman Anggrek *Vanda tricolor*, serta sitokinin merupakan Zat Pengatur Tumbuh yang baik untuk pertumbuhan Anggrek *Vanda tricolor*.

Kata kunci : Anggrek *Vanda tricolor*, Kultur *In Vitro*, Zat Pengatur Tumbuh.

I. PENDAHULUAN

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik kawasan lereng Gunung Merapi. Anggrek berbunga putih dengan bercak totol ungu kemerahan ini hidup secara epifit dan banyak dijumpai menempel pada batang pohon yang ada di hutan Gunung Merapi. Namun, karena adanya bencana alam seperti semburan awan panas, kebakaran hutan di lereng gunung merapi serta erupsi telah menghancurkan 80 % habitat dan mengancam keberadaan anggrek ini. Selain itu, eksploitasi *Vanda tricolor* keluar dari habitat aslinya oleh masyarakat untuk koleksi atau menjualnya ke luar daerah telah mengurangi populasi anggrek tersebut (Metusala, 2006).

Anggrek *Vanda tricolor* mempunyai prospek yang cukup baik dalam dunia bisnis tanaman hias karena mempunyai daya tarik aroma dan warna bunga yang indah berwarna dasar putih sehingga memiliki nilai jual yang cukup tinggi (Widiastoety dan Santi, 2012). Harga pasaran anggrek *Vanda tricolor* saat ini berdasarkan survei mencapai Rp. 45.000 - Rp. 90.000 untuk tanaman anggrek *Vanda tricolor* dewasa yang siap berbunga. Keberadaan anggrek yang semakin berkurang mendorong adanya upaya untuk pelestarian anggrek khususnya tanaman Anggrek *Vanda tricolor* ke habitat aslinya terutama di lereng Gunung Merapi. Badan Koordinasi Sumber Daya Alam pernah melakukan konservasi *Vanda tricolor* dengan memberikan tanaman anggrek ini kepada kelompok tani di sekitar kawasan Gunung Merapi.

Oleh karena itu, perlu adanya teknologi pertanian yang dapat memperbanyak dan meregenerasikan kembali anggrek *Vanda tricolor*. Salah satu teknologi yang dapat digunakan yaitu Kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* adalah suatu teknik untuk mengisolasi sel, protoplasma, jaringan, dan organ yang menumbuhkan bagian tersebut pada nutrisi yang mengandung Zat Pengatur Tumbuh tanaman pada kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman sempurna (Pangesti dkk., 2011).

II. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur *In Vitro* Fakultas Pertanian UMY di Jl. Lingkar Selatan, Tamantirto, Kasihan, Bantul Daerah Istimewa Yogyakarta. Waktu penelitian dimulai pada bulan Januari sampai April 2018.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan adalah *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Vanda tricolor*, medium dasar *New Dogashima Medium* (NDM), NAA, PPM (*Plant Preservative Mixture*), Phytigel, arang aktif, alkohol 70 %, aquades, sukrosa, kertas pH meter, Zat Pengatur Tumbuh seperti BAP, TDZ, Kinetin.

Alat yang digunakan pinset, pisau, gunting, gelas ukur, erlenmeyer, labu takar, *petridish*, pipet tetes, pengaduk, karet, aluminium foil, cawan timbang,

kertas saring/payung, syringe/jarum, pembagi media (Integra), botol sprayer, *milliphore*, lampu spiritus. Peralatan gelas yang akan dipakai dicuci bersih dengan deterjen, kemudian disterilisasi selama 60 menit dengan autoklaf.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode percobaan faktor tunggal yang disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL). Tiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan sehingga total 70 unit, dengan masing-masing perlakuan ditambahkan NAA 0,5 mg/L dan Arang aktif 0,2 g/L serta (*Plant Preservative Mixture*) PPM 0,5 mL/L ke dalam medium NDM. Perlakuan yang diuji meliputi tanpa ZPT, BAP 0,5 mg/L, BAP 1 mg/L, TDZ 0,5 mg/L, TDZ 1 mg/L, Kinetin 0,5 mg/L, Kinetin 1 mg/L.

D. Cara Penelitian

1. Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang digunakan dalam kultur *in vitro* harus dalam kondisi steril. Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci semua peralatan yang digunakan, kemudian dikeringkan. Setelah itu, peralatan seperti pinset, cawan petri, erlenmeyer, *scalpel*, gelas ukur dan botol kultur dan *dissecting kits* dibungkus rapi dengan kertas lalu disterilkan dengan autoklaf selama 20 menit dengan tekanan 1 atmosfer (suhu 121 °c).

2. Pembuatan Medium

Pembuatan medium NDM dibuat sebanyak 1400 mL untuk 7

perlakuan, setiap perlakuan sebanyak 200 mL, masing-masing perlakuan digunakan 10 botol kultur. Setiap botol kultur diisi sebanyak 20 mL medium.

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk 200 mL, medium NDM 0,392 g, Phytigel 0,5 g, sukrosa 6 g, PPM 0,1 mL, Arang aktif 0,2 g/L dan masing-masing Zat Pengatur Tumbuh dengan konsentrasi 1 mg/L yaitu BAP 2 mL, TDZ 2 mL, Kinetin 2 mL, sedangkan konsentrasi 0,5 mg/L yaitu BAP 1 mL, TDZ 1 mL, Kinetin 1 mL. Setelah medium di autoklaf, medium yang diberi perlakuan TDZ harus dibawa ke dalam LAF, karena Zat Pengatur Tumbuh ini tidak tahan terhadap suhu panas, pemberian TDZ dilakukan dengan menggunakan *milliphore* steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

Pembuatan stok ZPT dengan cara menimbang masing-masing ZPT sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 100 mL aquades steril dan masing-masing ZPT dilarutkan, BAP dan Kinetin dilarutkan dengan HCl, NAA dan TDZ dilarutkan dengan KOH serta diberi pelabelan pada botol stok 1 mg ZPT sama dengan 10 mL.

3. Penanaman Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah eksplan steril yang berasal dari *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Vanda tricolor*. Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dengan kondisi aseptik atau steril. Sebelum ditanam, terlebih dahulu

dilakukan pemilihan eksplan. Eksplan yang digunakan adalah eksplan yang seragam dan sama besar setelah itu eksplan ditanam ke dalam botol media sesuai perlakuan. Setiap botol berisi satu eksplan. Setelah selesai ditanam, botol kultur diberi label sesuai perlakuan dan tanggal penanaman. Selanjutnya botol kultur disimpan pada rak kultur di ruang pemeliharaan/inkubasi.

4. Inkubasi

Botol-botol yang sudah dilabeli dan ditanami segera diletakkan di rak-rak ruang inkubasi. Ruang inkubasi ini dilengkapi lampu neon (TL) dengan kekuatan 40 watt yang dinyalakan selama 24 jam sebagai pengganti sinar matahari. Suhu ruang inkubasi ini diatur menggunakan AC dengan suhu rata – rata 20-28°C. Sebelumnya, rak-rak yang berada di ruang inkubasi harus dibersihkan dengan menyemprotkan alkohol 70%. Inkubasi dilakukan selama 8 minggu dimulai setelah inokulasi selesai.

5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dari awal penanaman sampai dengan minggu ke 8 setelah tanam. Parameter pengamatan yang diamati meliputi : persentase eksplan hidup (%), persentase eksplan kontaminasi (%), persentase eksplan *browning* (%), waktu muncul tunas, Mata Tunas, Jumlah tunas, persentase eksplan bertunas (%), jumlah tunas, Diameter PLB, waktu muncul

akar, persentase eksplan berakar (%) dan waktu muncul daun (%).

E. Parameter yang diamati

1. Persentase eksplan hidup (%)

Eksplan yang hidup (eksplan yang tidak terkontaminasi dan tidak mengalami pencoklatan (*browning*) lebih dari separuh eksplan) diamati seminggu sekali selama 8 minggu. Persentase eksplan hidup dihitung di akhir pengamatan dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan hidup (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan hidup}}{\text{Jumlah eksplan tiap perlakuan}} \times 100$$

2. Persentase eksplan terkontaminasi (%)

Eksplan yang terkontaminasi diamati seminggu sekali selama 8 minggu. Eksplan dikatakan terkontaminasi apabila ada jamur atau bakteri pada eksplan atau medium kultur tersebut. Persentase eksplan terkontaminasi rumus :

$$\text{Persentase eksplan terkontaminasi (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan terkontaminasi}}{\text{Jumlah eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \%$$

3. Persentase eksplan *browning* (%)

Eksplan yang mengalami pencoklatan/*browning* diamati seminggu sekali selama 8 minggu, kriteria eksplan *browning* apabila pencoklatan pada eksplan lebih dari separuh eksplan. Persentase eksplan *browning* dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan } \textit{browning} \text{ (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan } \textit{browning}}{\text{Jumlah eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \%$$

4. Waktu muncul tunas

Waktu muncul tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan

yang memperlihatkan sejauh mana eksplan merespon perlakuan yang diberikan. Waktu muncul tunas diamati setiap minggu. Penentuannya dengan menghitung dari minggu pertama sejak awal penanaman hingga muncul tunas pertama.

5. Jumlah mata tunas

Pengamatan dilakukan satu minggu sekali selama 8 minggu dengan mengamati mata tunas yang tumbuh pada masing-masing eksplan. Jumlah mata tunas yang diamati setiap minggu yakni benjolan berwarna hijau yang terdapat pada eksplan.

6. Jumlah tunas

Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur *in vitro*. Perhitungan jumlah tunas dilakukan pada keseluruhan tunas yang muncul pada eksplan. Jumlah tunas yang terbentuk diamati pada masing-masing botol, pengamatan dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu.

7. Waktu muncul daun

Waktu muncul daun diamati setiap minggu. Penentuannya dengan menghitung dari minggu pertama sejak awal penanaman hingga muncul daun pertama.

8. Persentase eksplan bertunas (%)

Persentase eksplan bertunas dihitung setiap minggu. Perhitungan dilakukan dengan melihat penambahan tunas baru pada eksplan dan dinyatakan dalam persen untuk mengetahui pengaruh medium terhadap pertumbuhan tunas baru pada eksplan, dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan bertunas (\%)} = \frac{\sum \text{eksplan bertunas}}{\text{total eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \%$$

9. Diameter PLB

Diameter *Protocorm Like Bodies* (PLB) diukur pada setiap minggunya. Cara pengukurannya yaitu menempelkan penggaris ke dinding luar botol eksplan sebanyak tiga kali ulangan, kemudian diambil rata-ratanya. Diameter PLB diukur untuk mengetahui pengaruh dari media serta ZPT yang diberikan terhadap pertumbuhan ukuran eksplan.

10. Waktu muncul akar

Waktu muncul akar diamati setiap minggu. Penentuannya dengan menghitung dari minggu pertama sejak awal penanaman hingga muncul akar pertama.

11. Persentase eksplan berakar (%)

Persentase eksplan berakar dihitung setelah selesai pengamatan. Perhitungan dilakukan dengan melihat jumlah eksplan yang berakar pada hari terakhir pengamatan dan dinyatakan dalam persen, dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan berakar (\%)} = \frac{\sum \text{eksplan berakar}}{\text{total eksplan tiap perlakuan}} \times 100 \%$$

F. Analisis Data

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis menggunakan sidik ragam (*Analysis of Variance Anova*), jika ada beda nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, dan *Browning*

1. Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan hidup adalah jumlah eksplan yang mempunyai kemampuan untuk bertahan hidup, tumbuh dan berkembang dengan beradaptasi terhadap medium. Persentase eksplan hidup diamati untuk melihat jumlah eksplan yang bertahan hidup pada medium perlakuan yang diberikan. Eksplan yang hidup ditandai dengan warna eksplan berwarna hijau atau hijau muda dan tidak mengalami kontaminasi serta *browning*. Persentase eksplan hidup disajikan pada Lampiran VI.1.

Berdasarkan data Lampiran VI.1 diketahui bahwa persentase eksplan hidup pada semua perlakuan yaitu 100%. Tingginya persentase eksplan hidup menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan tidak mengalami kontaminasi dan *browning*. Eksplan bertahan hidup dengan menggunakan unsur-unsur hara yang ada dalam medium sebagai sumber makanan untuk melakukan pertumbuhan. Hal ini sesuai pendapat Pangestuti (2011), bahwa keberhasilan eksplan mampu bertahan hidup karena adanya unsur hara yang ada di dalam medium. Kandungan senyawa dalam medium sangat menentukan persentase hidup eksplan.

2. Persentase Kontaminasi Eksplan

Persentase eksplan terkontaminasi bertujuan untuk mengetahui banyaknya eksplan yang

mengalami kontaminasi oleh jamur maupun bakteri. Kontaminasi akibat jamur ditandai dengan adanya miselium berwarna putih tetapi tidak berlendir. Sementara kontaminasi akibat bakteri bisa dilihat dengan adanya lendir berwarna putih keruh.

Hasil data pengamatan Lampiran VI.2 terhadap eksplan anggrek *Vanda tricolor* yang dikulturkan dalam berbagai perlakuan diperoleh persentase eksplan kontaminasi 0%. Hal ini dikarenakan eksplan yang digunakan adalah eksplan yang sudah steril, sehingga dapat mencegah terjadinya kontaminasi. Selain itu lingkungan sekitarnya selalu dalam keadaan steril, sehingga mikroorganisme bakteri maupun jamur tidak dapat menyerang eksplan anggrek *Vanda tricolor*. Peran *Plant Preservative Mixture* (PPM) di dalam medium yang diberikan pada setiap perlakuan juga mampu meminimalisir terjadinya kontaminasi. Hal ini dikarenakan PPM merupakan salah satu bahan biosida dalam kultur cair yang termasuk golongan isotiazolon yang dapat menghambat mikroba dan jamur (Sharaf Eldin dan Weathers, 2006) dalam Hanida (2017).

3. Persentase Eksplan *Browning*

Persentase eksplan *browning* adalah jumlah eksplan yang mengalami pencoklatan lebih dari separuh eksplan atau 50%. Biasanya *browning* pada eksplan disebabkan adanya perlakuan fisik yang menyebabkan luka pada tanaman. Berdasarkan data hasil pengamatan Lampiran VI.3 menunjukkan bahwa pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap persentase eksplan *browning* yaitu 0%. Hal ini diduga

karena tidak adanya luka pada tanaman anggrek saat penanaman, sehingga senyawa fenol tidak keluar. Hal ini sesuai dengan pendapat Rineksane (2012) yang menyatakan bahwa pertumbuhan eksplan kultur *in vitro* dapat dihambat oleh senyawa fenol yang dikeluarkan oleh eksplan karena bereaksi dengan oksigen yang mengakibatkan pencoklatan atau *browning* pada permukaan eksplan. Rendahnya persentase eksplan *browning* pada eksplan diduga akibat respon eksplan terhadap senyawa atau zat pengatur tumbuh yang diberikan dapat mendorong pertumbuhan mengarah pada pembelahan sel sehingga eksplan dapat pulih kembali setelah perlakuan fisik.

Keberhasilan penanaman anggrek *Vanda tricolor* tanpa adanya *browning* pada eksplan PLB anggrek, tidak lepas dari peran arang aktif yang diberikan pada setiap perlakuan, dimana arang aktif dapat mengurangi pencoklatan medium akibat pemanasan tinggi setelah sterilisasi (Madhusudhanan dan Rahiman 2000 dalam Widiastoety dan Marwoto, 2004). Arang aktif juga dapat menyerap senyawa fenol yang keluar dari jaringan tanaman yang terluka pada saat inisiasi (Fridborg dan Erikson 1975 dalam Widiastoety dan Marwoto, 2004).

B. Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB)

1. Diameter *Protocorm Like Bodies* (PLB)

Berdasarkan hasil sidik ragam pada Lampiran V.4 ada beda nyata antara perlakuan BAP 0,5

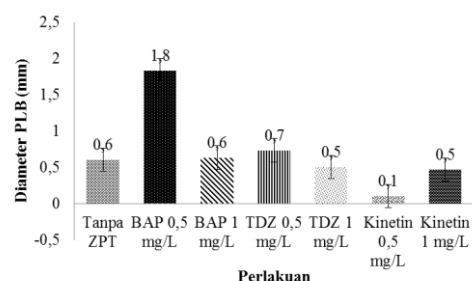
mg/L dengan semua perlakuan yang diberikan sebagaimana yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Diameter PLB *Vanda tricolor* pada 8 MST.

| Perlakuan | Diameter PLB (mm) |
|------------------|-------------------|
| Tanpa ZPT | 0,59bc |
| BAP 0,5 mg/L | 1,83a |
| BAP 1 mg/L | 0,63b |
| TDZ 0,5 mg/L | 0,73b |
| TDZ 1 mg/L | 0,50bc |
| Kinetin 0,5 mg/L | 0,09c |
| Kinetin 1 mg/L | 0,46bc |

Keterangan : angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf α 5%.

Hal ini diduga karena BAP merupakan Zat Pengatur Tumbuh golongan sitokinin yang aktif dalam perkembangan dan pembelahan sel yang berkerja optimum dalam konsentrasi rendah. Diameter PLB yang terbaik diperoleh pada perlakuan BAP 0,5 mg/L sebesar 1,83 mm. Histogram pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap diameter PLB disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap

Diameter PLB *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Pada Gambar 1 dapat diketahui perlakuan yang cenderung baik adalah perlakuan BAP 0,5 mg/L yang memiliki diameter PLB cenderung besar. Hal ini dikarenakan adanya peran zat pengatur tumbuh dalam pembesaran PLB, seperti BAP dalam penambahan pertumbuhan eksplan PLB anggrek. BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang aktif dalam memacu pembesaran sel kotiledon dan daun tumbuhan dikotil. BAP dengan konsentrasi rendah memiliki peranan yang sangat besar dalam pembelahan sel serta bekerja optimum, sehingga dapat memacu pembelahan sel dengan cepat pada eksplan yang diperlakukan. Bertambahnya diameter PLB juga dikarenakan adanya interaksi sitokinin untuk pertumbuhan tanaman. Interaksi tersebut menurut Gunawan (1998), penambahan hormon eksogen akan berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Gill *et al.*, (2004) dalam Fibrianty (2013) menyatakan bahwa pembengkakan eksplan pada tanaman memberikan indikasi adanya pemanjangan atau pembesaran sel yang disebabkan adanya hormon sitokinin.

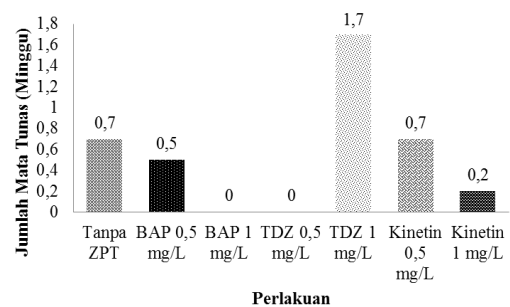
Bertambahnya ukuran diameter tunas PLB anggrek *Vanda tricolor* yang menunjukkan pembesaran pada eksplan hal ini juga dikarenakan respon dari PLB terhadap perlakuan yang diberikan, yaitu eksplan menyerap air dan hara yang sering disebut imbibisi. Hal ini sesuai dengan penelitian Rineksane

dan Sukarjan (2015) bahwa pembengkakan pada eksplan disebabkan terjadinya imbibisi yang menunjukkan eksplan melakukan penyerapan air dan hara.

2. Jumlah Mata Tunas

Jumlah mata tunas merupakan calon yang akan menjadi tunas pada PLB. Jumlah mata tunas diamati untuk mengetahui respon dari perlakuan terhadap eksplan anggrek. Apakah dari perlakuan yang diberikan akan mampu merangsang pembelahan sel pada eksplan dan mampu membentuk mata tunas baru pada eksplan. Hasil analisis pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap jumlah mata tunas disajikan pada Lampiran V.2.

Berdasarkan hasil sidik ragam pada Lampiran V.2 dapat diketahui bahwa tidak ada beda nyata antara perlakuan. Histogram pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap jumlah mata tunas disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Jumlah Mata Tunas *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Berdasarkan uji lanjut dapat diketahui tidak ada beda nyata setiap perlakuan. Penambahan TDZ 1 mg/L cenderung menghasilkan jumlah

mata tunas lebih banyak dari pada perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena kandungan zat pengatur tumbuh thidiazuron dengan konsentrasi 1 mg/L pada media lebih aktif dan memberikan respon untuk merangsang terjadinya pembelahan (sitokinesis) dengan menaikkan laju sintesis protein. Protein tersebut berupa protein pembangun atau enzim yang dibutuhkan sel pada eksplan untuk melakukan mitosis sehingga terjadi pembentukan mata tunas.

Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh thidiazuron dengan konsentrasi 1 mg/L mampu membentuk mata tunas yang cenderung baik dibandingkan dengan Zat Pengatur Tumbuh lainnya. Hal ini sejalan dengan Rosdiana (2010), bahwa Thidiazuron 1 mg/L pada tanaman anggrek ambon *Phalaenopsis amboinensis* merupakan konsentrasi yang tepat untuk mendorong pembelahan sel sehingga dapat memacu terbentuknya mata tunas dalam waktu yang relatif lebih cepat dibandingkan dengan penggunaan Thidiazuron pada konsentrasi lain, yang lebih rendah, ataupun lebih tinggi dari 1 mg/L.

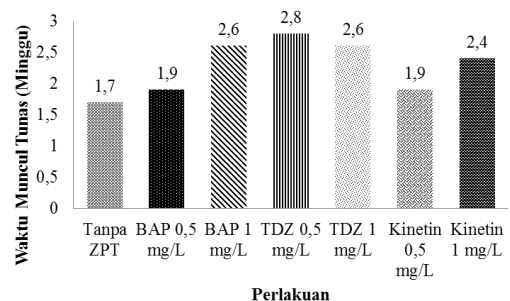
C. Pertumbuhan Tunas

1. Waktu Muncul Tunas

Waktu muncul tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan yang memperlihatkan sejauh mana eksplan merespon perlakuan yang diberikan. Pengamatan waktu muncul tunas ini bertujuan untuk mengetahui waktu yang diperlukan eksplan untuk bertunas yang dinyatakan dalam satuan minggu. Semakin cepat tunas

terbentuk maka akan semakin meningkat pula nutrisi yang diserap oleh eksplan sehingga akan mempercepat pembentukan individu baru.

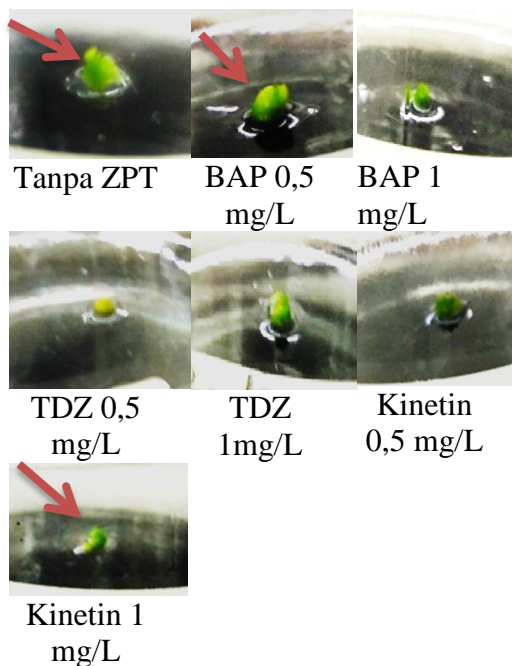
Berdasarkan Lampiran VII.1 diketahui bahwa tidak ada beda nyata antara perlakuan terhadap waktu muncul tunas *Vanda tricolor*. Hal ini diduga PLB anggrek *Vanda tricolor* belum merespon zat pengatur tumbuh sitokinin yang ada pada medium. Hal tersebut dikarenakan waktu inkubasi masih pendek (8 minggu) untuk menginduksi tunas. Sejalan dengan penelitian Latip *et al.*, (2010) menyebutkan proliferasi protocorm anggrek *Phalaenopsis gigantia* asal kultur *in vitro* memerlukan waktu 40 – 80 hari (6 – 12 minggu). Histogram waktu muncul tunas disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Tunas *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Pada Gambar 3 perlakuan tanpa ZPT cenderung cepat terhadap waktu muncul tunas *Vanda tricolor* yaitu 1,70 minggu, disusul dengan perlakuan BAP 0,5 mg/L, Kinetin 0,5 mg/L, Kinetin 1 mg/L, BAP 1 mg/L, TDZ 1 mg/L, TDZ 0,5 mg/L. Hal ini dikarenakan pada dasarnya eksplan

PLB anggrek *Vanda tricolor* telah memiliki calon tunas, sehingga perlakuan tanpa Zat Pengatur Tumbuh golongan sitokinin lebih mengutamakan pertumbuhan tunas dari pada multiplikasi tunas, sedangkan perlakuan dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh golongan sitokinin fungsi utamanya untuk multiplikasi atau memperbanyak tunas dari pada memunculkan tunas, sesuai dengan pendapat Putri (2016) bahwa aktivitas utama sitokinin adalah mendorong pembelahan sel.



Gambar 4. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Tunas *Vanda tricolor* pada 2 MST (tanda panah menunjukkan tunas yang muncul pada eksplan).

Berdasarkan Gambar 3 diketahui bahwa perlakuan TDZ 1 mg/L cenderung lambat terhadap waktu muncul tunas, yaitu 2,8 minggu. Hal ini karena respon dari

tanaman *V. tricolor* yang sangat lambat dalam merespon Zat Pengatur Tumbuh yang ada pada medium untuk perkembangan tanaman. Hal ini sejalan dengan Rineksane dan Sukajan (2015), bahwa faktor yang menyebabkan tidak terjadinya perkembangan adalah respon dari tanaman *V. tricolor* yang sangat lambat, sehingga tidak terjadi perkembangan yang signifikan.

2. Persentase Eksplan Bertunas

Perbanyakan *in vitro* umumnya menggunakan Zat Pengatur Tumbuh dari golongan sitokinin karena merupakan salah satu Zat Pengatur Tumbuh yang berfungsi untuk memacu pembentukan tunas. Data pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap persentase eksplan bertunas *Vanda tricolor* disajikan pada Lampiran VI.4.

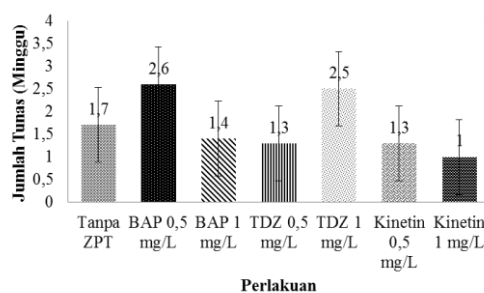
Berdasarkan data hasil pengamatan Lampiran VI.4 semua perlakuan memiliki nilai persentase eksplan bertunas yang cenderung tinggi yaitu 90-100 %. Hal ini diduga karena adanya zat pengatur tumbuh golongan sitokinin seperti BAP, Thidiazuron dan Kinetin yang aktif dalam proses pembelahan sel dan memacu pertumbuhan tunas. Hal ini sesuai dengan pendapat Wareing dan Philips (1970), bahwa sitokinin merangsang pembelahan sel tanaman. Selain itu unsur hara yang ada pada medium tersedia sehingga mendorong aktivitas pertukaran zat antara satu sel atau secara keseluruhan di dalam jaringan tanaman tersebut dan menyebabkan sel-sel tanaman membelah sehingga membentuk tunas.

Persentase eksplan bertunas cenderung tinggi, hal ini juga dikarenakan eksplan PLB anggrek yang dikulturkan tidak mengalami kontaminasi dan *browning* sehingga penyerapan unsur haranya sempurna. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sabar (2013), bahwa pembentukan tunas secara normal terjadi pada eksplan yang bebas dari kontaminasi dan *browning*, secara normal tunas yang berkembang memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi yang disebabkan oleh penyerapan unsur hara yang sempurna.

Perlakuan tanpa ZPT menghasilkan nilai persentase eksplan bertunas 100 %. Hal ini diduga dikarenakan PLB anggrek awalnya sudah memiliki calon tunas dan PLB merupakan jaringan muda yang masih aktif membelah, sehingga dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan tunas. Selain itu medium NDM merupakan medium yang banyak mengandung unsur organik, sehingga diduga eksplan mampu menyerap kandungan yang ada pada medium untuk pertumbuhan.

3. Jumlah Tunas

Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap jumlah tunas *Vanda tricolor* disajikan pada Gambar 5.

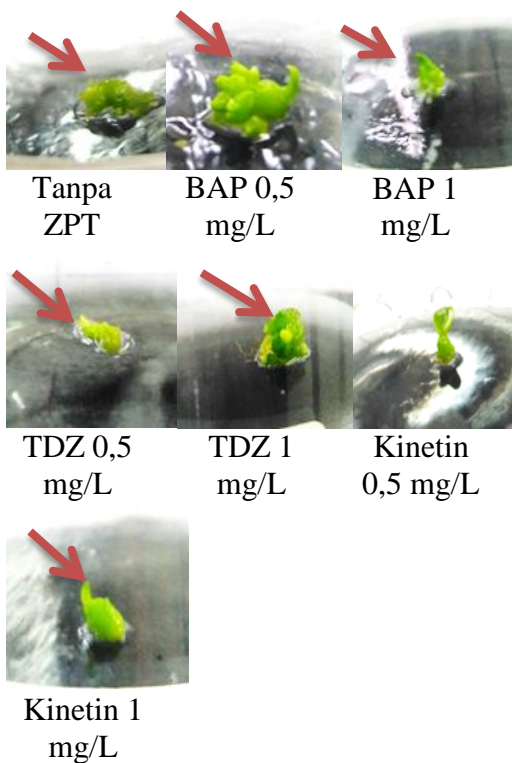


Gambar 5. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Jumlah Tunas *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Berdasarkan hasil sidik ragam Lampiran V.3 dan uji lanjut Lampiran VII.2 diketahui bahwa tidak ada beda nyata antara perlakuan medium dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh yang berbeda. Hal ini diduga karena waktu pengamatan yang relatif pendek, selain itu juga diduga karena peran sitokinin dalam proses pembelahan sel berjalan lambat untuk meningkatkan pertumbuhan tunas. Sejalan dengan Aini dkk., (2015) yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah kromosom di dalam inti sel memperlama fase interfase yang mengakibatkan proses pembelahan sel juga berlangsung lambat sehingga menghambat pertumbuhan tunas. Perlakuan BAP 0,5 mg/L merupakan perlakuan yang cenderung baik dalam pertumbuhan tunas. Kemudian disusul oleh perlakuan TDZ 1 mg/L, tanpa ZPT, Kinetin 0,5 mg/L, BAP 1 mg/L, TDZ 0,5 mg/L dan perlakuan Kinetin 1 mg/L terendah dalam pertumbuhan tunas.

Perlakuan BAP 0,5 mg/L merupakan perlakuan dengan nilai jumlah tunas cenderung dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal ini diduga perlakuan BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi sitokinin yang tepat menginduksi tunas anggrek *Vanda tricolor* sehingga jumlah tunas yang dihasilkan lebih banyak. Menurut Suryowinoto (1996), bahwa BAP merupakan ZPT golongan sitokinin

yang berperan dalam mendorong pembelahan sel dan menginduksi pembentukan tunas dan BAP merupakan golongan sitokinin yang paling efektif untuk pembentukan tunas. Didukung dengan penelitian Latip *et al.*, (2010) menggunakan BAP (0,5 – 3,5 mg/L) yang ditambahkan dalam media NDM untuk memultiplikasi protocorm anggrek *Phalaenopsis gigantia*. BAP merupakan golongan sitokinin yang stabil untuk menginduksi terbentuknya tunas adventif pada banyak tanaman (Rineksane dan Sukarjan, 2015).



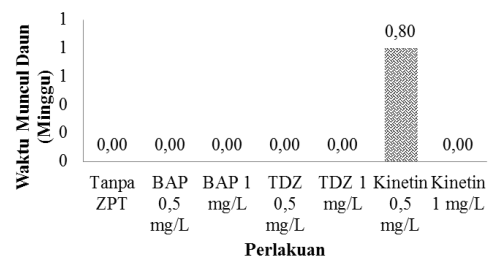
Gambar 6. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Jumlah Tunas *Vanda tricolor* pada 8 MST (tanda panah menunjukkan tunas yang tumbuh pada setiap eksplan).

Gambar 6 menunjukkan penambahan Zat Pengatur Tumbuh

BAP 0,5 mg/L menghasilkan jumlah tunas cukup banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Oleh karena itu dalam penelitian ini perlakuan BAP 0,5 mg/L merupakan kombinasi Zat Pengatur Tumbuh yang tepat untuk memultiplikasi jumlah tunas anggrek *Vanda tricolor*. Sementara pada perlakuan tanpa ZPT juga memiliki nilai jumlah tunas yang cukup tinggi yaitu 1,70. Hal ini diduga karena PLB merespon baik unsur hara yang terkandung dalam medium NDM meski tanpa tambahan ZPT, karena dari unsur makro dan mikro serta kandungan bahan organik dan vitamin dalam medium mampu merangsang pertumbuhan eksplan.

4. Waktu Muncul Daun

Berdasarkan Lampiran VII.6 pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap waktu muncul daun terdapat pada perlakuan Kinetin 0,5 mg/L yaitu 0,80 minggu. Perlakuan yang lainnya sama sekali tidak ada muncul daun dengan nilai 0,00 minggu (Gambar 7).



Gambar 7. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Daun *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Gambar 7 menunjukkan bahwa daun muncul pada perlakuan Kinetin 0,5 mg/L. Hal ini diduga karena perlakuan Kinetin 0,5 mg/L

merupakan perlakuan dengan konsentrasi yang tepat sehingga seimbang dengan kandungan sitokinin yang ada di dalam eksplan yang berfungsi untuk pertumbuhan eksplan.



Kinetin 0,5 mg/L

Gambar 8. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Daun *Vanda tricolor* pada 8 MST (tanda panah menunjukkan daun yang muncul pada eksplan anggrek *Vanda tricolor*).

Sejalan dengan pendapat Hidayat (2009) bahwa pertumbuhan tanaman pada kultur *in vitro* juga dipengaruhi oleh keseimbangan antara interaksi faktor endogen dan eksogen. Eksplan pada umumnya bisa memproduksi sitokinin sendiri, selain itu diduga eksplan memiliki kemampuan memproduksi auksin, namun secara endogen tidak sebanyak produksi sitokinin (Lisnandar dkk., 2012).

D. Pertumbuhan Akar

1. Waktu Muncul Akar

Hasil sidik ragam pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap waktu muncul akar disajikan pada Lampiran V.5.

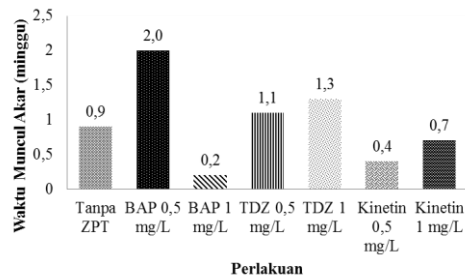
Tabel 2. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Akar *Vanda tricolor* pada 8 MST.

| Perlakuan | Waktu Muncul Akar (Minggu) |
|------------------|----------------------------|
| Tanpa ZPT | 0,90ab |
| BAP 0,5 mg/L | 2,00a |
| BAP 1 mg/L | 0,20b |
| TDZ 0,5 mg/L | 1,10ab |
| TDZ 1 mg/L | 1,30ab |
| Kinetin 0,5 mg/L | 0,40b |
| Kinetin 1 mg/L | 0,70ab |

Keterangan : angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf α 5%.

Berdasarkan hasil sidik ragam Lampiran V.5 dan Tabel 2 menunjukkan hasil beda nyata antara perlakuan. Perlakuan BAP 0,5 mg/L berbeda nyata dengan perlakuan BAP 1 mg/L dan Kinetin 0,5 mg/L. Hal ini dikarenakan BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang tidak tepat yang dikombinasikan dengan Zat Pengatur Tumbuh golongan auksin yaitu NAA 0,5 mg/L untuk pertumbuhan akar, sehingga pada perlakuan ini sangat lambat pertumbuhan akarnya. Pada dasarnya eksplan bisa memproduksi sitokinin dan auksin sendiri, sehingga PLB kurang merespon Zat Pengatur Tumbuh dalam pertumbuhan serta perkembangan tanaman karena keseimbangan antara eksogen dan endogen terganggu. Sesuai dengan pendapat Lisnandar dkk., (2012) bahwa eksplan pada umumnya bisa memproduksi sitokinin sendiri, selain itu diduga memiliki kemampuan memproduksi auksin, namun secara endogen tidak sebanyak produksi

sitokinin. Histogram pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap waktu muncul akar disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Waktu Muncul Akar *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Gambar 9 menunjukkan bahwa perlakuan BAP 1 mg/L cenderung cepat terhadap waktu muncul akar yaitu 0,20 minggu. Hal ini diduga karena eksplan lebih mengutamakan pemunculan akar pada perlakuan BAP 1 mg/L, akar yang muncul akan menyerap kandungan yang ada pada medium serta penambahan sitokinin eksogen akan berinteraksi dengan auksin endogen yang terkandung di dalam eksplan. Ini membuktikan bahwa pertumbuhan tanaman 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).

Perlakuan BAP 1 mg/L dengan penambahan NAA 0,5 mg/L pada semua media perlakuan merupakan kombinasi dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh sitokinin dan auksin yang tepat. Pemunculan akar sering terjadi sesudah eksplan atau jaringan yang dikulturkan membentuk tunas dan tunas-tunas yang terbentuk akan

merangsang pembentukan akar (Fathurrahman dkk., 2012). Perlakuan BAP 0,5 mg/L cenderung lambat terhadap waktu muncul akar yaitu 2,00 minggu. Hal ini diduga karena BAP merupakan sitokinin sintetik yang aktif dan lebih berfungsi untuk mendorong pembentukan tunas (George dan Sherrington, 1984), sehingga adanya interaksi antagonis antara auksin dan sitokinin yang akan menghambat pertumbuhan akar (Mahadi dkk., 2014). Hal ini juga dapat disebabkan karena waktu yang dibutuhkan untuk proses pembentukan akar lebih lama. Sesuai dengan pernyataan Nazi (2014), bahwa waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan akar lebih lama dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan daun.

2. Persentase Eksplan Berakar

Berdasarkan pada Lampiran VI.5 dapat dilihat bahwa semua perlakuan berakar, hal ini karena PLB sudah mempunyai calon akar. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap persentase eksplan berakar pada eksplan yaitu 20-70%. Persentase eksplan berakar cenderung tinggi pada perlakuan TDZ 1 mg/L dengan persentase eksplan berakar 70%. Hal ini diduga bahwa perlakuan TDZ 1 mg/L pada parameter mata tunas paling baik dalam pembentukan mata tunas, sehingga tunas yang akan terbentuk akan merangsang pembentukan akar dan eksplan pun merespon baik kandungan nutrisi yang ada sehingga memaksimalkan pembelahan selnya untuk membentuk akar. Hal ini kurang sesuai dengan Maxwell dan Kieber 2004 dalam Aryati (2015),

bahwa sitokinin memiliki fungsi dalam pembelahan dan pembesaran sel, level sitokinin yang rendah akan menurunkan tingkat pertumbuhan tunas dan meningkatkan proliferasi akar.

Pemunculan akar sering terjadi sesudah eksplan atau jaringan yang dikulturkan membentuk tunas dan tunas-tunas yang terbentuk akan merangsang pembentukan akar (Fathurrahman dkk., 2012). Perlakuan TDZ 1 mg/L PLB merespon hormon auksin dibandingkan hormon sitokinin seperti TDZ, karena TDZ konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan tanaman dan cenderung tidak berpengaruh (Ningrum dkk., 2017). Pembentukan akar pada eksplan sebenarnya berkaitan dengan penambahan auksin, yaitu pada penelitian ini ditambahkan hormon auksin dengan konsentrasi 0,5 mg/L pada semua perlakuan. Sejalan dengan pendapat Hendaryono dkk., (1994), penambahan sejenis hormon auksin seperti NAA berfungsi untuk merangsang pemanjangan sel karena auksin terdapat pada pucuk-pucuk tunas muda atau pada *in vitro* meristem di pucuk, menyebar luas ke dalam seluruh tubuh tanaman.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Sitokinin BAP 0,5 mg/L merupakan perlakuan yang paling tepat terhadap multiplikasi Anggrek *Vanda tricolor*.

B. Saran

Perlu adanya penelitian selanjutnya yang menggunakan Zat Pengatur Tumbuh golongan sitokinin

yaitu BAP dengan konsentrasi 0,5 mg/L dengan waktu inkubasi lebih lama agar mengetahui detail respon anggrek *Vanda tricolor* terhadap Zat Pengatur Tumbuh yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Hanifa., Mansyurdin., dan Suwirman. 2015. Induksi PLB Anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. Liar Pada Media MS dengan Penambahan BAP dan NAA serta Ploidisasi dengan Kolkisin. Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.) 4(4) – Desember 2015: 208-215 (ISSN : 2303-2162).
- Aryati, D. R. 2015. Inisiasi, Proliferasi, dan Pembesaran Protocorm-Like Bodies Anggrek *Dendrobium* Klon 22/25. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 50 hlm.
- Fathurrahman., Mellisa., dan Selvia Sutriana. 2012. Pemberian Benzil Amino Purin (BAP) Terhadap Eksplan Adenium (*Adenium obesum*) Secara *In Vitro*. Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Islam Riau. Hal 40.
- Fibrianty, E. 2013. Induksi *Protocorm-Like Bodies* (PLBs) dan Karakterisasi Molekuler Populasi F2 Anggrek *Phalaenopsis*. TESIS Sekolah Pascasarjana Institut

- Pertanian Bogor Bogor. Hal 59.
- Gunawan, L.W. 1998. *Budidaya Anggrek*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 238.
- Hendaryono, D.P.S dan A.Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Kanisius. Yogyakarta. Hal 222.
- Hidayat, O. 2009. Kajian Penggunaan Hormon IBA, BAP dan Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Penghasil Gaharu (*Gyrinops Versteegii* (Gilg) Domke) Secara *In Vitro*. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor. 8 (2) : 23-30.
- Lisnandar, Dea Sylva., Widya Mudyantini., dan Ari Pitoyo. 2012. Pengaruh Pemberian Variasi Konsentrasi NAA (α -naphthaleneacetic acid) dan 2,4 D terhadap induksi *protocorm like bodies* (PLB) anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) *Bioteknologi* 9 (2): 66-72, November 2012, ISSN: 0216-6887, EISSN: 2301-8658, DOI: 10.13057/biotek/c090205. 9 (2): 66-72.
- Mahadi, I., Sri Wulandari., dan Delfi Trisnawati. 2014. Pengaruh Pemberian Naa Dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Eksplan Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) Melalui Teknik Kultur Jaringan Secara *In Vitro*. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Riau Pekanbaru 28293. 302 hlm.
- Nazi. 2014. Kultur *Protocorm Like Bodies* Anggrek Hasil Silangan *Phalaenopsis gigantea* \times *Phalaenopsis violacea* pada Beberapa Kombinasi Media dan ZPT. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 33 hlm.
- Ninggrum. E.F.C., Ikhsanudin Nur Rosyidi., Rizka Riliant Puspasari., dan Endang Semiarti. 2017. Perkembangan Awal *Protocorm* Anggrek *Phalaenopsis amabilis* secara *In Vitro* setelah Penambahan Zat Pengatur Tumbuh α -Naphtaleneacetic Acid dan Thidiazuron. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 219 hlm.
- Pangestuti, N., Sukendah., dan Makziah. 2011. Teknik Propagasi Secara *In Vitro*. Bahan Pelajaran Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Jawa Timur. Hal 2-18.

- Putri, Fitri Yusri Eka. 2016. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Golongan Auksin (NAA) dan Sitokinin (BAP, Kinetin dan Thidiazuron) terhadap Subkultur Nilam Aceh. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Hal 30-42.
- Rosdiana. 2010. Pertumbuhan anggrek bulan (*Phalaenopsis amboinensis*) endemik Sulawesi, pada beberapa jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh secara *in vitro*. J Agrisistem 6:88-96.
- Sabar S.N. 2013. Pengaruh Teknik Sterilisasi Terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan Paulownia (*Paolownia elongata sy. Hu*) Secara *In vitro*. Skripsi Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. 202 hlm.
- Sharaf, E. MA., & Weathers, P. 2006. "Movement and Containment of Microbial Contamination in The Nutrient Mist Bioreactor". *In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant*. 42(6). Pp: 553-557.
- Suryowinoto, M. 1996. Pemuliaan tanaman secara *in vitro*. Kanisius. Yogyakarta. 80 hlm.
- Wareing, P. F. And I. D. J. Philips, 1970. The Control of Growth and Differentiation in Plants. Pergamonpress. Oxford. 250 hlm.
- Widiastoety, D. dan Santi, A. 2012. Balai Penelitian Tanaman Hias. Pacet-Cianjur. Hal 198-202.