

**PENGARUH JENIS MEDIA DAN KONSENTRASI
THIDIAZURON TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS
ANGGREK *VANDA TRICOLOR***

Makalah Seminar Hasil Penelitian



Disusun oleh :

Sri Wahyuni
20140210014

Program Studi Agroteknologi

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2017

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia termasuk dalam negara yang memiliki potensi besar untuk pengembangan anggrek, karena diketahui dari sekitar 30.000 spesies anggrek di dunia, Indonesia memiliki sekitar 5000 spesies (Irawati 2002). Menurut data yang diperoleh dari Badan Pusat Statistik, menunjukkan bahwa produksi anggrek dari tahun 2012 adalah 20.727.891 tangkai, pada tahun 2013 adalah 20.277.672 tangkai, tahun 2014 adalah 19.739.627 tangkai, tahun 2015 adalah 21.513.280 tangkai, dan tahun 2016 adalah 11.523.610 tangkai (Kementan, 2016).

Salah satu varietas lokal *anggrek* adalah *Vanda tricolor*, yang banyak tumbuh di lereng Gunung Merapi. Spesies *V. tricolor* di habitat asalnya dilaporkan mulai menurun, bahkan berdasarkan hasil inventarisasi Balai TNGM, pada tahun 2010, dari 70 spesies anggrek yang hidup di lereng Merapi, tersisa kurang dari 50 spesies. Hal ini disebabkan oleh kerusakan hutan akibat erupsi (Republika, 2014). Oleh karena itu, usaha konservasi untuk menyelamatkan tanaman anggrek *V. tricolor* dari kepunahan perlu dilakukan.

Wujud upaya pelestarian yang telah dilakukan BKSDA untuk meningkatkan populasi *Vanda tricolor* adalah melaksanakan usaha penangkaran yang berbasis komunitas dengan membentuk 5 kelompok tani konservasi dari 3 Kecamatan di Lereng Selatan Gunung Merapi. Upaya budidaya yang dilakukan kelima kelompok tani tersebut dinilai masih kurang optimal. Ketidaktepatan teknik budidaya yang dilakukan menyebabkan lambatnya pertumbuhan dan perkembangbiakan *Vanda tricolor* (Metusala, 2006).

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* merupakan alternatif yang tepat karena kultur *in vitro* merupakan penanaman bagian kecil dari tanaman dalam media buatan dan lingkungan terkendali sehingga menjadi tanaman utuh, (Handayani, E. dan Isnawan, Bambang Heri, 2015).

Penelitian perbanyakan anggrek *Vanda tricolor* dengan kultur *in vitro* telah dilakukan oleh Rineksane dan Sukarjan (2015). Dalam penelitian ini, digunakan tiga media tumbuh yaitu VW, ½ MS dan NDM dengan penambahan TDZ, BAP serta NAA. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa media NDM

dengan penambahan 0,5 mg/l Thidiazuron mampu menghasilkan kalus dan merupakan perlakuan terbaik dalam menginduksi kalus anggrek *Vanda tricolor* dari eksplan daun *in vitro*.

Kultur *in vitro* membutuhkan medium dan zat pengatur tumbuh dalam aplikasinya. Medium dan zpt ini merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap keberhasilan subkultur. Media tumbuh yang dapat digunakan untuk perkecambahan anggrek adalah media *Murashige dan Skoog* (MS), *Vacin and Went* (VW) (Bey *et al.*, 2006), dan New Dougashima Medium (NDM).

Diduga perlakuan media NDM dengan konsentrasi 0,5 mg/L TDZ menjadi perlakuan terbaik dalam pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro*.

B. Rumusan Masalah

1. Jenis media yang tepat untuk pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor* dengan kultur *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi TDZ terhadap anggrek *Vanda tricolor* ?

C. Tujuan

1. Mengetahui pengaruh media MS, VW dan NDM padat terhadap pertumbuhan PLB (*protocorm like bodies*) anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi *Thidiazuron* terhadap pertumbuhan PLB (*protocorm like bodies*) anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro*
3. Mengetahui interaksi antar macam media dengan konsentrasi ZPT *Thidiazuron*.

II. TATACARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur *In vitro* Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari 2018 sampai dengan April 2018.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah PLB anggrek *Vanda tricolor*. PLB ini berasal dari biji anggrek *Vanda tricolor* yang sebelumnya telah dikulturkan. Bahan lain yang digunakan adalah media MS, VW dan NDM, Zat Pengatur Tumbuh (TDZ dan NAA), *Plant Preservatif Mixture* (PPM), arang aktif, *Phytigel*, sukrosa, alkohol, alumunium foil, kertas payung, karet, HCl, KOH, plastik wrap, spirtus dan aquades steril.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol kultur, erlenmeyer, *petridish*, gelas ukur, *dissecting kits*, pH meter, timbangan analitik, *stirer*, *millipore*, pipet tetes, pembagi media, sendok, bunsen, cawan timbang, autoklaf, dan *Laminar Air Flow*.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial (3x3) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah medium tumbuh yang terdiri dari 3 aras yaitu media MS (M1), media VW (M2), dan media NDM (M3). Faktor kedua adalah konsentrasi ZPT TDZ yang terdiri dari 3 aras yaitu 0 mg/l (T1), 0,5 mg/l (T2) dan 1 mg/l (T3). Jumlah eksplan perbotol adalah 1 buah eksplan. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 10 kali. PLB anggrek yang dibutuhkan sebanyak 90 PLB steril.

D. Cara Penelitian

1. Sterilisasi

Sterilisasi dilakukan dengan dua cara, yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi bakar. Sterilisasi basah dilakukan dengan memasukkan alat-alat yang telah dibungkus dengan kertas payung di autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Sterilisasi basah dilakukan pada alat – alat seperti botol kultur, pinset, scalpel, alumunium foil, *petridish*, dan erlenmeyer. Sterilisasi bakar

menggunakan spirtus yang dilakukan di LAF. Caranya adalah dengan mencelupkan alat terlebih dahulu ke cairan alkohol 70%, kemudian membakar pada larutan siprtus. Strerilisasi bakar dilakukan pada alat – alat seperti pinset dan scalpel yang digunakan saat penanaman eksplan.

Sterilisasi LAF sendiri dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% pada seluruh permukaan, kemudian di lap dan lampu UV dinyalakan selama 1 jam sebelum LAF digunakan.

2. Pembuatan Media

Medium MS, VW dan NDM dibuat masing-masing sebanyak 600 ml untuk 3 perlakuan, setiap perlakuan sebanyak 200 ml. Masing – masing perlakuan digunakan 10 botol kultur. Setiap botol kultur diisi sebanyak 20 ml larutan medium. Semua perlakuan dengan pemberian ZPT *Thidiazuron* dilakukan didalam LAF dengan menggunakan *millipore* steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

1. Medium MS

Bahan bahan yang dibutuhkan untuk membuat 200 ml media MS adalah media MS bubuk = 0,88 g; sukrosa = 6 g; Phytigel = 0,5 g; PPM = 0,1 ml; arang aktif 0,04 g; NAA 0,5 mg/l (1 ml/200 ml larutan), aquades, serta Thidiazuron sesuai perlakuan, yaitu 0 (tanpa Thidiazuron), 0,5 mg/l (1 ml/200ml larutan), dan 1 mg/l (2 ml/200 ml larutan).

2. Medium VW

Bahan bahan yang dibutuhkan untuk membuat 200 ml media NDM adalah media NDM bubuk = 0,2 g; sukrosa = 6 g; Phytigel = 0,5 g; PPM = 0,1 ml; arang aktif 0,04 g; NAA 0,5 mg/l (1 ml/200 ml larutan), aquades, serta Thidiazuron sesuai perlakuan, yaitu 0 (tanpa Thidiazuron), 0,5 mg/l (1 ml/200ml larutan), dan 1 mg/l (2 ml/200 ml larutan).

3. Medium NDM

Bahan bahan yang dibutuhkan untuk membuat 200 ml media NDM adalah media NDM bubuk = 0,2 g; sukrosa = 6 g; Phytigel = 0,5 g; PPM = 0,1 ml; arang aktif 0,04 g; NAA 0,5 mg/l (1 ml/200 ml larutan), aquades, serta Thidiazuron

sesuai perlakuan, yaitu 0 (tanpa Thidiazuron), 0,5 mg/l (1 ml/200ml larutan), dan 1 mg/l (2 ml/200 ml larutan).

3. Persiapan Thidiazuron

Untuk mendapatkan konsentrasi TDZ sesuai dengan perlakuan, maka harus dilakukan pengenceran terlebih dahulu. Rumus dasar yang biasa digunakan dalam mengencerkan TDZ adalah 10 mg tdz dilarutkan dalam 100 ml aquadest steril.

4. Perlakuan

Perlakuan untuk menentukan total bahan yang dibutuhkan dilakukan dengan menghitung kebutuhan per ulangan. Sehingga untuk satu erlenmeyer diisi dengan larutan sebanyak 200ml, yang telah berisi media, sukrosa, vitamin, gellan gum, PPM, NAA, TDZ, dan aquadest. Larutan yang telah tercampur kemudian di masukkan kedalam botol, masing – masing botol berisi 20 ml larutan.

5. Penanaman

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Peralatan tanam yang akan digunakan disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%, termasuk botol media. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara mengambil PLB dari botol semai yang tersedia, kemudian ditanam pada medium kultur yang telah dipersiapkan menggunakan pinset steril. Setiap satu botol diisi dengan satu buah PLB anggrek.

6. Inkubasi

Pada proses inkubasi, botol-botol yang sudah ditanami eksplan 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 inokulasi diatur menggunakan AC sehingga didapat 20-28°C. Rak-rak yang berada di ruang inkubasi dibersihkan dengan menyemprotkan alkohol 70%. Inkubasi dilakukan selama 8 minggu dimulai setelah inokulasi selesai.

7. Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap minggu, dari awal penanaman sampai dengan minggu ke-8 setelah tanam.

E. Parameter yang Diamati

Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai dengan akhir pengamatan, yaitu selama 2 bulan. Data diperoleh dari pengamatan 10 parameter yaitu :

1. Persentase Eksplan Hidup (%)
2. Persentase Eksplan *Browning* (%)
3. Persentase Eksplan Kontaminasi (%)
4. Pertambahan Diameter PLB
5. Waktu Muncul Tunas
6. Persentase Eksplan Bertunas (%)
7. Jumlah Tunas per PLB
8. Persentase Eksplan Berdaun (%)
9. Waktu Muncul Akar
- 10. Persentase Eksplan Berakar (%)**

F. Analisis Data

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance* (Annova). Hasil penelitian dari berbagai perlakuan disajikan dalam bentuk grafik dan histogram.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh eksplan dan medium kultur yang digunakan. Eksplan yang mengalami *browning* maupun kontaminasi akan menurunkan tingkat keberhasilan dari kultur *in vitro*. Dengan demikian, kesesuaian antara eksplan dan media yang digunakan akan menjadi faktor utama untuk menentukan keberhasilan dari teknik kultur *in vitro* (George *et al.*, 2007). Hasil pengamatan persentase hidup, persentase *browning* dan persentase kontaminasi disajikan pada Tabel 2,

Tabel 1. Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Thidiazuron terhadap persentase eksplan hidup, persentase eksplan *browning* dan persentase eksplan kontaminasi (%) PLB Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 Minggu Setelah Tanam (MST)

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup (%)	Persentase Eksplan <i>Browning</i> (%)	Persentase Eksplan Kontaminasi (%)
MS + TDZ 0 mg/l	100	0	0
MS + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
MS + TDZ 1 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 0 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 1 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 0 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 1 mg/l	100	0	0

Persentase eksplan hidup merupakan parameter yang diukur untuk mengetahui kemampuan eksplan dalam beradaptasi terhadap medium yang digunakan. Eksplan yang ditanam pada semua perlakuan menunjukkan hasil presentase hidup 100%. Tingginya persentase hidup eksplan karena eksplan yang digunakan berupa PLB steril yang berasal dari hasil persemaian biji anggrek secara *in vitro*.

Hasil pengamatan pada persentase *browning* menunjukkan tidak terjadinya *browning* pada PLB di semua perlakuan sampai dengan 8 MST. Hal tersebut dikarenakan eksplan yang digunakan tidak memerlukan adanya pemotongan serta eksplan yang digunakan memiliki umur yang muda. Penggunaan arang aktif juga berpengaruh pada tingkat *browning* dari eksplan. Hutami (2006), menyatakan bahwa penambahan arang aktif ke dalam media kultur seringkali dapat menghindari pembentukan dari inhibitor fenolat. Arang aktif akan menghilangkan pewarnaan dengan menyerap dan mengoksidasi fenol dan menginaktifkan peroksidase penyebab *browning*.

Pengamatan eksplan yang terkontaminasi bertujuan untuk mengetahui tingkat keberhasilan sterilisasi baik pada eksplan, alat maupun medium (Imanudin, 2016).

Eksplan yang terkontaminasi dapat dilihat dari adanya bakteri maupun jamur yang tumbuh pada eksplan maupun medium. Pada penelitian ini, tidak ditemukan adanya kontaminasi pada eksplan maupun medium. Hal ini menunjukkan sudah tepatnya sterilisasi alat dan medium yang dilakukan. Sterilisasi yang dilakukan adalah sterilisasi basah untuk alat dan medium, serta sterilisasi bakar untuk alat yang digunakan dalam penanaman. Selain itu, penggunaan PPM (*Plant Preservative Mixture*) dapat mencegah terjadinya kontaminasi, karena PPM merupakan bahan biosida cair yang dapat mencegah adanya kontaminasi.

B. Pertumbuhan PLB dan Tunas

Berdasarkan hasil analisis, menunjukkan bahwa perlakuan macam media dan konsentrasi Thidiazuron tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap semua parameter. Hasil sidik ragam terhadap parameter penambahan diameter PLB, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan waktu muncul akar tersaji pada Tabel 3,

Tabel 2. Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Thidiazuron terhadap Pertumbuhan PLB Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 Minggu Setelah Tanam (MST)

Perlakuan	Pertambahan Diameter	Waktu Muncul Tunas	Jumlah Tunas	Waktu Muncul Akar
Macam Media				
MS	0,98a	1,90a	1,70a	1,56a
VW	0,83a	1,40a	1,53a	1,43a
NDM	1,12a	1,93a	1,66a	0,90a
Konsentrasi TDZ				
0 mg/L	0,98p	2,00p	1,56p	1,30p
0,5 mg/L	0,93p	1,76p	1,80p	1,40p
1 mg/L	1,02p	1,46p	1,53p	1,20p
Interaksi	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

- Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata pada uji F $\alpha = 5\%$.
- (-) menunjukkan tidak ada interaksi antar perlakuan.

1. Pertambahan Diameter

Pertambahan diameter merupakan salah satu parameter penting yang perlu diamati pada kultur *in vitro* dengan eksplan berupa PLB. Pertambahan diameter PLB diketahui dengan cara pengukuran hasil pengukuran PLB pada minggu 8 dikurangi hasil pengukuran minggu 1.

Hasil sidik ragam pada pertambahan diameter PLB anggrek *Vanda tricolor* dengan taraf kesalahan 5% (Tabel 3 dan lampiran 1) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi dan tidak ada beda nyata antar perlakuan. Hal tersebut menunjukkan perlakuan berbagai macam media dengan pemberian konsentrasi *Thidiazuron*

tidak memberikan pengaruh terhadap pertambahan diameter PLB pada minggu ke-8. Hal ini dapat disebabkan oleh persamaan respon pertumbuhan PLB. Meskipun tidak berpengaruh nyata, tetapi media NDM cenderung menghasilkan pertambahan diameter paling besar (1,12 mm) dibandingkan dengan media MS dan VW. Media NDM merupakan media yang memiliki kandungan bahan organik lebih banyak dibandingkan media MS dan VW.

Berdasarkan data pada Tabel 3, penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/L cenderung menghasilkan pertambahan diameter yang paling besar (1,02 mm) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/L. Hal ini kurang sesuai karena menurut penelitian yang dilakukan Hoesen, dkk. (2008), yang menyatakan dari nilai rata-rata ukuran diameter kalus PLB *D. lineale* teramati bahwa penambahan TDZ (0,1 hingga 0,5) mg/L pada media MS dapat meningkatkan ukuran diameter kalus dibandingkan dengan perlakuan TDZ konsentrasi 1 mg/L. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan jenis anggrek yang digunakan.

Peningkatan pertambahan ukuran diameter PLB sudah dimulai dari minggu 1 dan terus bertambah sampai dengan minggu 8 pada semua perlakuan. Dalam perkembangannya, ada PLB yang hanya mengalami imbibisi namun ada pula yang mengalami proliferasi dengan pembentukan kalus maupun tunas

2. Waktu Muncul Tunas

Waktu muncul tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan yang memperlihatkan kecepatan pertumbuhan eksplan sejak awal penanaman.

Hasil sidik ragam untuk parameter waktu muncul tunas pada PLB anggrek *Vanda tricolor* dengan taraf kesalahan 5% (Tabel 3 dan lampiran 1 b) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara macam media dengan konsentrasi TDZ terhadap kecepatan waktu muncul tunas PLB sampai dengan minggu ke-8. Menurut Rineksane dan Sukarjan (2015), faktor lain selain *browning* yang menyebabkan tidak terjadinya perkembangan adalah respon dari tanaman *V. tricolor Lindl.* varietas *suavis* yang sangat lambat sehingga tidak terjadi perkembangan yang signifikan, bahkan dari beberapa perlakuan yang ditelitinya hanya menunjukkan respon pembengkakan saja dan belum menunjukkan perkembangan kalus pada eksplan potongan daun.

Data pada Tabel 3 menunjukkan penggunaan medium VW cenderung menghasilkan waktu muncul tunas yang lebih cepat (1,40 minggu) dibandingkan dengan media MS dan NDM. Hal ini karena VW merupakan media yang paling umum digunakan dalam kultur anggrek secara *in vitro*. Penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/L cenderung menghasilkan pertambahan diameter yang paling besar (1,46 minggu) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/L. Menurut Imanudin (2016), manfaat dari hormon sitokinin ini diantaranya adalah untuk mempercepat pertumbuhan tunas, mempercepat penambahan jumlah daun, memperbanyak anakan, dan menghambat penuaan pada organ tanaman.

3. Persentase Eksplan Bertunas

Perhitungan parameter eksplan bertunas dilakukan dengan melihat pertambahan tunas baru pada eksplan kemudian dibagi dengan jumlah ulangan

dan dikalikan 100%. Hasil pengamatan menunjukkan tunas sudah terlihat muncul di minggu pertama pada semua perlakuan. Pada akhir pengamatan (8 MST) diperoleh persentase PLB bertunas yang tinggi pada semua perlakuan.

4. Jumlah Tunas

Jumlah tunas merupakan parameter lanjutan dari waktu muncul tunas dan persentase eksplan bertunas. Jumlah tunas ini sangat penting diamati karena semakin banyak tunas yang terbentuk akan berpeluang mendapatkan bibit yang banyak pula.

Hasil sidik ragam pada rata-rata jumlah tunas PLB anggrek *Vanda tricolor* dengan taraf kesalahan 5% (Tabel 3 dan lampiran 1 c) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara macam media dengan konsentrasi Thidiazuron terhadap rata-rata jumlah tunas PLB pada minggu ke-8. Seperti pada parameter waktu muncul tunas sebelumnya, hal ini dapat disebabkan karena waktu yang dibutuhkan dalam perbanyakannya dengan menggunakan kultur *in vitro* pada *Vanda tricolor* Lindl. varietas *suavis* cukup lambat, baik dalam pertumbuhan maupun pembentukan kalus maupun tunas (Rineksane dan Sukarjan 2015).

Berdasarkan Tabel 3, MS cenderung menghasilkan jumlah tunas per PLB yang lebih banyak (1,70 tunas) dibandingkan dengan media VW dan NDM. Penambahan TDZ menghasilkan analisis yang tidak berbeda nyata terhadap jumlah tunas per PLB, namun penambahan TDZ dengan konsentrasi 0,5 mg/L cenderung menghasilkan pertambahan diameter yang paling besar (1,80 tunas) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 1 mg/L. Penelitian yang dilakukan oleh Karyanti (2017), yang menguji tunas steril dari anggrek *Vanda douglas* pada media MS dengan perlakuan konsentrasi sitokinin TDZ dan BAP. Dalam penelitian ini, dihasilkan perlakuan terbaik parameter pertambahan tunas pada minggu ke-12 adalah konsentrasi TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l.

5. Persentase Eksplan Berdaun

Persentase muncul daun tertinggi didapatkan pada media NDM tanpa penambahan TDZ, yang kemudian disusul dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan terakhir konsentrasi 1 mg/l pada media yang sama. Hal tersebut dapat dikarenakan pada PLB sudah memiliki bakal calon tunas dan calon akar, sehingga pada medium NDM (yang memiliki bahan organik lebih banyak) tanpa penambahan ZPT sudah mampu untuk mendorong terbentuknya daun. Peran TDZ adalah untuk mendorong terbentuknya tunas-tunas baru dari PLB, sehingga ada atau meningkatnya TDZ dalam media tidak mendorong pembukaan daun yang diduga karena TDZ tersebut digunakan untuk menginduksi tunas-tunas baru yang belum jelas perbedaannya sampai minggu ke-8.

C. Pembentukan Akar

1. Waktu muncul akar

Dalam kultur *in vitro*, planlet merupakan fase tanaman yang siap untuk dilakukannya aklimatisasi. Eksplan dapat disebut planlet apabila telah memiliki minimal 2 daun dan telah tumbuh akar.

Hasil sidik ragam pada rata-rata waktu muncul tunas PLB anggrek *Vanda tricolor* dengan taraf kesalahan 5% (Tabel 3 dan lampiran 1 d) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara macam media dengan konsentrasi *Thidiazuron* terhadap kecepatan waktu muncul tunas PLB pada minggu ke-8. Hal ini dapat disebabkan karena waktu yang dibutuhkan untuk proses pembentukan akar lebih lama. Menurut Nazi (2014), waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan akar lebih lama dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan daun.

Berdasarkan Tabel 3, medium NDM cenderung menghasilkan waktu kemunculan akar yang lebih cepat (0,90 minggu) dibandingkan dengan media MS dan VW. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan bahan organik yang terdapat pada media NDM lebih banyak. penambahan TDZ menghasilkan analisis yang tidak berbeda nyata terhadap kecepatan waktu muncul akar PLB, namun penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/L cenderung menghasilkan waktu muncul tunas yang lebih cepat (1,20 tunas) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/L. Hal ini kurang sesuai karena sitokinin memiliki fungsi dalam pembelahan dan pembesaran sel. Level sitokinin yang rendah akan menurunkan tingkat pertumbuhan tunas dan meningkatkan proliferasi akar (Maxwell & Kieber 2004 dalam Aryati, 2015).

2. Persentase Eksplan Berakar

Persentase eksplan berakar merupakan pengamatan lanjutan yang dilakukan setelah waktu muncul akar. Pengamatan ini dilakukan pada akhir pengamatan, dihitung dengan menggunakan rumus jumlah eksplan yang muncul akar dibagi dengan ulangan dan dikalikan 100%.

Pada penelitian ini, pembentukan akar terus terjadi dari minggu pertama sampai dengan akhir pengamatan (8 minggu). Hal ini membuktikan bahwa media dan ZPT yang digunakan mampu memunculkan akar hingga akhir pengamatan. Pembentukan akar ini diduga berasal dari diferensiasi sel-sel PLB yang masih bersifat meristematik, karena eksplan berasal dari PLB steril. Dari penelitian ini, didapatkan persentase eksplan berakar terbanyak ada pada media MS dan VW dengan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l. Perlakuan media MS dan VW dengan pemberian TDZ konsentrasi 0,5 mg/l dan NAA konsentrasi 0,5 mg/l ini diduga sudah dapat menyebabkan sel-sel PLB berdiferensiasi ke arah pembentukan akar pada eksplan.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Hasil penelitian menunjukkan macam media tidak berpengaruh nyata terhadap parameter yang diujikan. Namun, NDM diduga cenderung memberikan angka pertambahan diameter PLB yang lebih tinggi yaitu 1,12 mm, persentase PLB berdaun yang lebih tinggi yaitu 60%, dan waktu muncul akar yang lebih cepat yaitu 0,90 minggu.
2. Hasil penelitian menunjukkan penambahan TDZ tidak berpengaruh nyata terhadap parameter yang diujikan. Namun, konsentrasi 0,5 mg/L cenderung memberikan angka pertambahan diameter yang lebih besar yaitu 1,02 mm, waktu muncul tunas lebih cepat yaitu 1,46 minggu, jumlah tunas lebih banyak yaitu (1,80 tunas), dan persentase eksplan berakar lebih tinggi yaitu 70%.
3. Macam medium dan konsentrasi TDZ tidak menunjukkan adanya interaksi karena tidak ada beda nyata pada hasil analisis parameter pertambahan ukuran diameter, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan waktu muncul akar.

B. SARAN

Pada penelitian ini, biaya yang dikeluarkan untuk ZPT perlakuan cenderung tinggi, sehingga untuk menekan biaya dapat dilakukan percobaan dengan menggunakan bahan alami yang memiliki kandungan unsur hara untuk mengganti penggunaan ZPT sintetis.

DAFTAR PUSTAKA

- Bey, Y., W. Syafii, dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) dan Air Kelapa terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *In vitro*. Jurnal Biogenesis. 2 (2): 41-46.
- George, E.F., M.A. Hall, G.J. De Klerk. 2007. *Plant Propagation by In vitro Culture*. 3rd edition. Vol 1. The Background. Exegetic. Basingtone, UK.
- Handayani, E. dan Isnawan, Bambang Heri. 2015. Substitusi Medium Sintetik dengan Pupuk Daun, Air Kelapa dan Ekstrak Nabati pada Subkultur Anggrek *Cattleya pastoral Innocence* secara *In vitro*. Planta Tropika Journal of Agro Science 2 (2). DOI 10.18196/pt.2014.031.115-124.
- Hoesen, D. S. H, Witjaksono, dan Sukanto LA. 2008. Induksi Kalus dan Organogenesis Kultur *In vitro Dendrobium lineale Rolfe*. Berita Biologi 9(3). 333-341 hlm.
- Hutami, S. 2006. Penggunaan arang aktif dalam kultur *in vitro*. Berita Biologi 8(1):83-89 hlmn.
- Imanudin. 2016. Pengaruh Penambahan Air Rebusan Kentang (*Solanum tuberosum* L.), BAP dan NAA Terhadap Induksi Tunas Jati Emas (*Cordia subcordata*) Secara *In vitro*. Skripsi. <http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/6525/NASKAH%20PUBLIKASI.pdf?sequence=12&isAllowed=y>. Diakses tanggal 19 April 2018.
- Irawati. 2002. Konservasi Anggrek Spesies di Indonesia. Proseding Seminar Anggrek Indonesia, Yogyakarta, 20 Oktober 2002.
- Kementan. 2016. Produksi Anggrek Menurut Provinsi, Tahun 2012-2016. [http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiASEM2016\(pdf\)/Produksi%20Angrek.pdf](http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiASEM2016(pdf)/Produksi%20Angrek.pdf). Diakses tanggal 20 Mei 2017.
- Lestari, Endang G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. Jurnal AgroBiogen. (VII), No. 1. Hal: 63-68.
- Metusala, D. 2006. Melirik Konservasi Anggrek *Vanda tricolor* di Merapi. <http://anggrek.org/melirik-konservasi-anggrek-vanda-tricolor-di-merapi-2.html>. Dikses tanggal 23 Mei 2017.
- Nazi. 2014. Kultur *Protocorm Like Bodies* Anggrek Hasil Silangan *Phalaenopsis gigantea* × *Phalaenopsis violacea* pada Beberapa Kombinasi Media dan ZPT. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 33 hlm.
- Republika. 2014. Upaya Melestarikan Anggrek Lereng Merapi yang Kian Langka. <http://nasional.republika.co.id/berita/nasional/daerah/16/10/14/of123g384-upaya-melestarikan-anggrek-lereng-merapi-yang-kian-langka>. Diakses tanggal 4 Juni 2017.
- Rineksane, I., A. dan Sukarjan, M. 2015. Regenerasi Anggrek *Vanda tricolor* Pasca Erupsi Merapi. Seminar Nasional Universitas PGRI Yogyakarta. Yogyakarta. Hal 378-384.

Lampiran 1. Tabel Hasil Sidik Ragam

a. Pertambahan diameter

Sumber	DF	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	Prob>P
Model	8	0,05756	0,007195	0,37	0,9335ns
Media	2	0,00988667	0,00494333	0,25	0,7761ns
Konsentrasi TDZ	2	0,01478	0,00739	0,38	0,685ns
Media*Konsentrasi TDZ	4	0,03289333	0,00822333	0,42	0,7916ns
Galat	81	1,57468,00	0,01944049		
Total	89	1,63224,00			
R2	CV	Akar KTG	Rerata		
	49,44297	0,139429	0,282000		

Keterangan :

ns : non significant

s : significant

b. Waktu muncul tunas

Sumber	DF	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	Prob>P
Model	8	1,33791635	0,16723954	0,56	0,8080ns
Media	2	0,28133524	0,14066762	0,47	0,6265ns
Konsentrasi TDZ	2	0,42874686	0,21437343	0,72	0,4914ns
Media*Konsentrasi TDZ	4	0,62783425	0,15695856	0,52	0,7177ns
Galat	80	23,92235556	0,29902944		
Total	88	25,26027191			
R2	CV	Akar KTG	Rerata		
	44,84326	0,546836	1,219438		

Keterangan :

ns : non significant

s : significant

c. Jumlah tunas

Sumber	DF	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	Prob>P
Model	8	0,74499556	0,09312444	0,30	0,9646ns
Media	2	0,05196222	0,02598111	0,08	0,9202ns
Konsentrasi TDZ	2	0,05601556	0,02800778	0,09	0,9143ns
Media*Konsentrasi TDZ	4	0,63701778	0,15925444	0,51	0,7284ns
Galat	81	25,28721000	0,31218778		
Total	89	26,03220556			
R2	CV	Akar KTG	Rerata		
	41,78346	0,558738	1,337222		

Keterangan :

ns : non significant

s : significant

d. Waktu muncul akar

Sumber	DF	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	Prob>P
Model	8	13,9791667	1,7473958	0,55	0,8100ns
Media	2	3,88293651	1,94146825	0,61	0,5468ns
Konsentrasi TDZ	2	3,82772247	1,91386123	0,60	0,5515ns
Media*Konsentrasi TDZ	4	6,26850769	1,56712692	0,49	0,7395ns
Galat	39	123,5000000	3,1666667		
Total	47	137,4791667			
R2	CV	Akar KTG	Rerata		
	54,40549	1,779513	3,270833		

Keterangan :

ns : non significant

s : significant