

MULTIPLIKASI ANGGREK *Vanda tricolor* PADA BERBAGAI KOMPOSISI MEDIUM SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Arum Wahyu Ningsih, Innaka Ageng Rineksane dan Agung Astuti
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah
Yogyakarta

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi medium alternatif yang tepat sebagai substitusi ZPT sintetis pada multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*. Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal terdiri dari 5 ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 sampel. Perlakuan yang diujikan adalah NDM + TDZ 0,5 ml/L, NDM + Air Kelapa 150 ml/L, NDM + Air Kelapa 150 ml/L + Ekstrak Pisang 150 g/L dan NDM + Air Kelapa 150 ml/L + Ekstrak Tomat 150 ml/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan NDM + air kelapa 150 ml + ekstrak pisang 150 g/L dapat menggantikan peran zat pengatur tumbuh sintetis (Thidiazuron) dalam multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* pada parameter waktu muncul tunas, jumlah tunas dan jumlah daun.

Kata Kunci: Anggrek *Vanda tricolor*, NDM (New Dogashima Medium), Air Kelapa, Ekstrak Pisang, Ekstrak Tomat, Multiplikasi.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik yang tumbuh di kawasan lereng Gunung Merapi. *Vanda tricolor* hidup secara epifit dengan cara menempel pada batang pohon yang ada di hutan Gunung Merapi. Harga anggrek ini akan semakin mahal. Harga variasi, anakan sekitar Rp 15.000 – Rp 60.000, berbunga di atas Rp 90.000 dan indukan Rp 500.000 - Rp 1.500.000 (Tribun news, 2018). Oleh karena itu banyak masyarakat sekitar yang mengambil langsung secara besar-besaran untuk dijadikan koleksi dan diperjual belikan, karena alasan ekonomi tersebut menyebabkan populasi anggrek mengalami penurunan. Penurunan populasi *Vanda tricolor* juga disebabkan oleh faktor alam, yaitu terjadinya erupsi Merapi secara periodik yang menghancurkan habitat asli dari anggrek *Vanda tricolor* (Republika, 2015).

Keberadaan populasi anggrek *Vanda tricolor* yang semakin berkurang mendorong suatu upaya untuk melakukan pelestarian *Vanda tricolor* ke habitat aslinya di lereng Gunung Merapi. Menurut Palupi (2011), Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) Yogyakarta telah berupaya melakukan alternatif perbaikan untuk melestarikan *Vanda tricolor*, melalui pembentukan unit pelaksana budidaya yang disebut dengan kelompok tani konservasi. Namun demikian, budidaya yang

dilakukan oleh para kelompok tani konservasi dengan metode perbanyak secara konvensional dengan memisahkan anakan (*split*) untuk memperoleh anakan yang baru membutuhkan waktu yang lama dan kondisi bibit rawan terhadap penyakit. sebagai salah satu upaya pelestarian dalam mencegah kepunahan anggrek *Vanda tricolor*. Perbanyak anggrek *Vanda tricolor* secara kultur *in vitro* sudah pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Saputra (2018) melaporkan penggunaan BAP 0,5 mg/L pada medium NDM menunjukkan hasil yang paling baik untuk pertumbuhan multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* pada parameter diameter *Protocorm Like Bodies* (PLB).

Pada penelitian ini akan dilakukan perbanyak anggrek *Vanda tricolor* dari tunas hasil induksi untuk konservasi melalui tahap multiplikasi. Pada tahap multiplikasi salah satu zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berperan dalam meningkatkan tunas pada eksplan adalah sitokinin. Penggunaan ZPT sintetis dengan harga yang cukup mahal dapat menyebabkan biaya produksi tinggi. Salah satu solusi yang dapat dilakukan yaitu mengganti peranan ZPT sintetis dengan ZPT alami. Informasi mengenai pertumbuhan anggrek khususnya *Vanda tricolor* dengan teknik kultur jaringan masih sangat terbatas, sehingga dipandang perlu untuk melakukan penelitian mengenai pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor* dengan berbagai komposisi medium secara *in vitro*.

B. Perumusan masalah

1. Apakah penambahan air kelapa, ekstrak pisang dan ekstrak tomat dapat menjadi ZPT alternatif untuk multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* ?
2. Bagaimana komposisi yang tepat substitusi ZPT sintetis pada multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* ?

C. Tujuan

Mendapatkan komposisi yang tepat sebagai substitusi ZPT sintetis pada multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*.

II. TATA CARA PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah eksplan tunas anggrek *Vanda tricolor*, Medium NDM, Thidiazuron, air kelapa, buah pisang, buah tomat, alkohol 70%, aquades, spirtus, sukrosa dan PPM (*Plant Preservative Mixture*).

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, pH stik, aluminium foil, karet, plastik wrap, sprayer, kertas payung, label, dissecting kits, autoklaf, petridish, botol kultur, gelas ukur, gelas piala, corong gelas, pipet, erlenmeyer, pipet tetes, pinset, pengaduk kaca, Laminar Air Flow (LAF), *syringe*, *milipore*, bunsen, blender, kompor gas dan gunting.

Metode Penelitian ini dilakukan dengan metode percobaan laboratorium, yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan desain percobaan faktor tunggal 4 perlakuan yaitu Media NDM yang ditambahkan ZPT : (A) TDZ 0,5 mg/L, (B) Air kelapa 150 ml/L, (C) Air kelapa 150 ml/L + Ekstrak tomat 150 ml/L, (D) Air Kelapa 150 ml/L + Ekstrak pisang 150 g/L. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali terdiri dari 3 sampel sehingga total unit perlakuan adalah 60 botol.

Tahap penelitian yang akan dilakukan meliputi sterilisasi, pembuatan medium, inokulasi, inkubasi, pengamatan dan analisis data.

Persiapan dan Sterilisasi Alat

1. Pembuatan Medium NDM0

Medium NDM0 dibuat sebanyak 200 ml untuk menetralkan eksplan yang diinokulasi dari medium sebelumnya. Eksplan yang akan ditanam sebanyak 10 botol. Setiap botol ditanam 10 eksplan.

2. Penyiapan ekstrak

a. Air Kelapa

Air kelapa yang digunakan yaitu air kelapa muda yang masih memenuhi buah dan daging buah masih berlendir. Air kelapa disiapkan sebanyak 250 ml disterilisasi dengan cara disaring menggunakan kertas saring.

b. Ekstrak Pisang

Pisang yang digunakan yaitu jenis pisang ambon. Buah pisang dipotong kecil. Selanjutnya daging buah diblender tanpa menggunakan air sampai halus. Bubur pisang ditimbang sebanyak 45 g.

c. Ekstrak Tomat

Sebanyak 200 g buah tomat yang sudah masak merah tanpa menggunakan air sehingga diperoleh ekstrak tomat murni. Ekstrak tomat disaring agar terpisah dari ampasnya sehingga diperoleh ekstrak tomat 100%.

3. Pembuatan medium perlakuan

a. NDM + TDZ

Media NDM + Aquades 50 ml (untuk melarutkan) + sukrosa, cek dan sesuaikan pH (pH normal = 6) + Phytigel + ppm + aquades hingga volume larutan menjadi 299,5 ml + TDZ. 0,5 ml, kemudian digunakan untuk 5 kali ulangan (15 botol). Cara sterilisasi TDZ menggunakan *millipore* yang berukuran 0,2 yang telah disterilisasi dan syringe tanpa jarum. Untuk mendapatkan konsentrasi TDZ sesuai dengan perlakuan, maka dilakukan pengenceran terlebih dahulu. Rumus dasar yang biasa digunakan untuk mengencerkan TDZ yaitu 10 mg TDZ dilarutkan dalam 100 ml aquades steril, sehingga rumus kebutuhan untuk setiap ulangan adalah :

$$\text{Kebutuhan TDZ} = \frac{\text{Total larutan setiap ulangan (ml)}}{1000 \text{ ml aquades}} \times \text{TDZ (ml)}$$

b. NDM + Air Kelapa

Media NDM + Aquades 50 ml (untuk melarutkan) + sukrosa, cek dan sesuaikan pH (pH normal = 6) + Phytigel + ppm + aquades hingga volume larutan menjadi 300 ml + Air kelapa.

c. NDM + Air Kelapa + Ekstrak Pisang

Media NDM + Aquades 50 ml (untuk melarutkan) + sukrosa, cek dan sesuaikan pH (pH normal = 6) + Phytigel + ppm + aquades hingga volume larutan menjadi 300 ml + Air kelapa + ekstrak pisang.

d. NDM + Air Kelapa + Ekstrak Tomat

Media NDM + Aquades 50 ml (untuk melarutkan) + sukrosa, cek dan sesuaikan pH (pH normal = 6) + Phytigel + ppm + aquades hingga volume larutan menjadi 300 ml + Air Kelapa + ekstrak tomat.

4. Penyiapan Sumber Eksplan

Eksplan diambil dari koleksi laboratorium kultur in vitro UMY yang berupa tunas. Eksplan tunas angrek *Vanda tricolor* yang digunakan berasal dari media dengan penambahan ZPT yang berbeda, sehingga eksplan perlu dihomogenkan pada media NDM0 selama 1 minggu.

5. Inokulasi Multiplikasi Eksplan

Eksplan yang telah dihomogenkan di dalam NDM0 dikeluarkan dengan menggunakan pinset. Eksplan diletakkan di dalam cawan petri yang berisi aquadest steril dan betadine. Eksplan ditiriskan di atas cawan petri yang dilapisi dengan kertas saring. Eksplan kemudian ditanam pada masing-masing medium perlakuan. Setiap botol ditanam 1 eksplan tunas angrek *Vanda tricolor*.

6. Inkubasi

Eksplan yang telah diinokulasi kemudian diletakkan di rak inkubasi. Ruangan inkubasi menggunakan cahaya lampu neon (TL) yang dinyalakan selama 24 jam dengan kekuatan 44 watt. Suhu di dalam ruang inkubasi diatur antara 20°C - 28°C dengan menggunakan AC. Pemeliharaan dilakukan selama 2 bulan dihitung saat mulai penanaman.

7. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dari awal penanaman sampai dengan minggu ke-8 setelah tanam dengan **parameter** :

1. Persentase Eksplan Hidup (%)

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

2. Persentase Kontaminasi (%)

$$\text{Persentase eksplan kontaminasi} = \frac{\text{Jumlah eksplan kontaminasi}}{\text{Jumlah total eksplan tiap perlakuan}} \times 100\%$$

3. Persentase Eksplan Browning (%)

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

4. Persentase Eksplan Vitrifikasi (%)

$$\text{Persentase eksplan vitrifikasi} = \frac{\text{Jumlah eksplan vitrifikasi}}{\text{Jumlah total eksplan tiap perlakuan}} \times 100\%$$

5. Pertambahan Tinggi Tunas (cm)

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali selama 8 minggu, kemudian dihitung selisih dari tinggi tunas.

6. Waktu Muncul Tunas (minggu)

Waktu muncul tunas diamati setiap minggu dari minggu pertama sejak awal penanaman hingga minggu ke-8.

7. Pertambahan Jumlah Tunas

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali selama 8 minggu, kemudian dihitung selisih tunas pada minggu ke8 dikurangi tunas minggu pada ke-0.

8. Persentase Eksplan Bertunas (%)

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

9. Pertambahan Jumlah Daun (helai)

Pengamatan dilakukan setiap minggu sekali selama 8 minggu, yaitu dengan menghitung selisih daun pada minggu ke-8, dikurangi daun minggu pada ke-0.

10. Warna Daun

Pengamatan dilakukan setiap minggu sekali selama 8 minggu dengan Munsell color book. Untuk hasil pengamatan jumlah daun dilakukan dengan cara skoring.

11. Waktu Muncul Akar (minggu)

Waktu muncul akar diamati pada setiap minggu, dari minggu pertama sejak awal penanaman hingga muncul akar pertama pada eksplan.

12. Pertambahan Jumlah Akar

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali selama 8 minggu, yaitu menghitung selisih akar pada minggu ke8, dikurangi akar pada minggu ke-0.

13. Persentase Eksplan Berakar (%)

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

14. Perkembangan Eksplan

Pengamatan perkembangan eksplan dilakukan dengan cara mengamati eksplan dibawah mikroskop selama 4 minggu sekali.

D. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis menggunakan sidik ragam Analisis of Variance (ANOVA) dengan taraf nyata $\alpha=5\%$. Apabila terdapat pengaruh yang signifikan dari perlakuan yang diujikan, maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf $\alpha=5\%$. Hasil analisis akan ditampilkan dalam bentuk grafik atau histogram

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, Browning dan Vitrifikasi

Tabel 1. Pengaruh komposisi medium NDM + (TDZ, air kelapa, ekstrak pisang dan ekstrak tomat) terhadap persentase eksplan hidup, kontaminasi, *browning* dan vitrifikasi *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup (%)	Persentas Eksplan Kontaminasi (%)	Persentase Eksplan <i>Browning</i> (%)	Persentase Eksplan Vitrifikasi (%)
NDM + TDZ 0,5 ml/L	40	6,7	20	33,3
NDM + Air Kelapa 150 ml/L	53	0,0	20	27,0
NDM + Air Kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Pisang 150 g/L	67	0,0	33	0,0
NDM + Air kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Tomat ml/L	53	0,0	47	0,0

1) Persentase Eksplan Hidup

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L+ ekstrak pisang 150 g/L menunjukkan persentase eksplan hidup tertinggi yaitu 67%. Hal ini dikarenakan pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L+ ekstrak pisang 150 g/L, rata-rata eksplan dapat tumbuh dengan baik yang ditandai dengan pertambahan tinggi tunas, pertambahan daun, munculnya akar dan munculnya tunas. Sementara itu persentase eksplan hidup terendah terdapat pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L dengan persentase 40%. Pada perlakuan tersebut eksplan banyak yang mengalami vitrifikasi dan *browning* serta kontaminasi, sehingga hal tersebut menjadi kendala dalam pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Terjadinya vitrifikasi, browning dan kontaminasi berpengaruh terhadap rendahnya persentase eksplan hidup pada multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*.

2) Persentase Eksplan Kontaminasi

Berdasarkan Tabel 1, kontaminasi hanya terjadi pada perlakuan NDM + TDZ 0.5 ml/L dengan persentase 6,7 %. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kontaminasi disebabkan oleh cendawan yang tumbuh pada medium yang ditandai dengan adanya miselium jamur berwarna putih keabu-abuan pada permukaan medium. Kontaminan tersebut diduga bukan berasal dari eksplan yang digunakan, karena tunas anggrek *Vanda tricolor* yang digunakan sebagai eksplan merupakan tunas yang sudah steril. Kontaminan diduga berasal dari proses pemberian ZPT (Thidiazuron) yang baru ditambahkan setelah sterilisasi medium di autoklaf. Penambahan TDZ dilakukan dengan menggunakan jarum suntik dan *millipore*.

Hal ini memungkinkan sumber kontaminan baru dapat masuk ke dalam medium pada saat penambahan ZPT lewat alat-alat yang digunakan. Menurut Daud *et al.*, (2012). Mikroba dapat hadir dari dalam eksplan itu sendiri atau dapat muncul kembali pada saat penanganan proses sterilisasi yang tidak efektif, kondisi di dalam laboratorium yang kurang higienis, peralatan yang laboratorium termasuk peneliti.

3) Persentase eksplan *Browning*

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + Ekstrak Tomat 150 ml/L mengalami tingkat *browning* paling tinggi yaitu sebesar 47%. Sementara itu perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L mengalami tingkat *browning* paling rendah yaitu 20%. Pada medium perlakuan yang diuji ditambahkan arang aktif 0,2 g/L. Penambahan arang aktif tersebut seharusnya dapat mengurangi oksidasi senyawa fenol yang dikeluarkan oleh anggrek *Vanda tricolor*. Hal ini dikarenakan arang aktif berfungsi untuk mencegah terjadinya *browning* pada eksplan akibat dari oksidasi senyawa fenol. Menurut Hutami (2006), penggunaan arang aktif dalam kultur *in vitro* dapat menyerap zat penghambat baik dari medium ataupun eksplan.

4) Persentase Eksplan *Vitrifikasi*

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa persentase eksplan *vitrifikasi* perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L merupakan persentase *vitrifikasi* paling tinggi yaitu sebesar 33,3%. Sementara pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L + Ekstrak Tomat 150 ml/L menunjukkan persentase *vitrifikasi* terendah yaitu 0%. Tingginya persentase *vitrifikasi* pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L diduga karena ketidakseimbangan hormon pada medium perlakuan yaitu hanya terdapat sitokinin tunggal.

B. Perkembangan Tunas

Tabel 2. Pengaruh komposisi medium NDM (TDZ, Air Kelapa, Ekstrak Pisang dan Ekstrak Tomat) terhadap Jumlah Tunas dan Persentase Eksplan Bertunas *Vanda tricolor* pada 8 MST

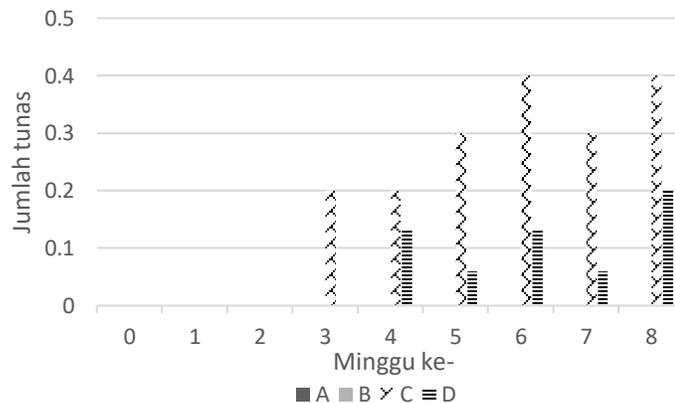
Perlakuan	Jumlah Tunas	Persentase Eksplan Bertunas (%)
NDM + TDZ 0,5 ml/L	0,00b	0,0
NDM + Air Kelapa 150 ml/L	0,00b	0,0
NDM + Air Kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Pisang 150 g/L	6,66a	46,6
NDM + Air kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Tomat ml/L	1,33ab	20,0

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan tidak ada pengaruh yang berbeda nyata menurut analisis DMRT pada taraf $\alpha=5\%$.

1) Pertambahan Tinggi Tunas

Berdasarkan Tabel 2, rerata pertambahan tinggi tunas, pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L menunjukkan hasil pertambahan tinggi tunas yang cenderung lebih tinggi (0,52 cm). Hal ini menggambarkan respon positif eksplan terhadap pemberian ZPT yang bersumber dari air kelapa dan ekstrak pisang ke dalam medium kultur berhasil mempercepat pertumbuhan dengan bertambahnya tinggi pada tunas anggrek *Vanda tricolor*. Sementara pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L) menunjukkan hasil yang cenderung lebih rendah (0,29 cm). Hal ini dapat diduga pemberian sitokinin tunggal tanpa diimbangi dengan auksin yang diperlukan untuk pemanjangan sel-sel tunas, sehingga dapat menghambat pemanjangan tunas.

2) Waktu Muncul Tunas



Keterangan : A (NDM + TDZ 0,5 ml/L)
B (NDM + air kelapa 150 ml/L)
C (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L)
D (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L)

Gambar 1. Rerata waktu muncul tunas *Vanda tricolor*

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa perlakuan (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L) menunjukkan waktu muncul tunas tercepat yaitu pada minggu ke-3 dengan rata-rata 0,2. Sementara itu pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L menunjukkan waktu muncul tunas terendah dengan rata-rata 0. Hal ini menunjukkan bahwa tunas tidak ada yang muncul pada perlakuan tersebut sampai pada 8 MST. Pada perlakuan NDM + kelapa 150 ml/L + pisang 150 g/L terkandung hormon sitokinin dan auksin. Menurut George dan Sherrington (1984) interaksi sitokinin dan auksin dapat merangsang eksplan untuk membentuk tunas. Dalam hal ini, diduga proses pembentukan tunas menjadi lebih cepat dengan adanya hormon tumbuh yang lengkap.

1) Pertambahan Jumlah Tunas

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L menunjukkan hasil pertambahan jumlah tunas

tertinggi (6,66), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L yaitu (1,33), sementara pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L. Dalam mikropropagasi, penambahan jumlah tunas sangat penting untuk diamati, karena semakin banyak tunas yang terbentuk, maka peluang untuk mendapatkan bibit semakin banyak. Pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L terkandung hormon sitokinin dari air kelapa yang mempunyai kemampuan besar untuk mendorong pembelahan sel dan proses diferensiasi (Gunawan, 1995), serta medium perlakuan terkandung hormon auksin dari ekstrak pisang yang dapat menstimulasi organogenesis dan pertumbuhan tunas dalam mikropropagasi pada tanaman (Dwiyani, 2009).

2) Persentase Eksplan Bertunas

Berdasarkan Tabel 3, perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L menunjukkan hasil persentase eksplan bertunas tertinggi yaitu 46,6%. Sementara hasil terendah ditunjukkan pada perlakuan A NDM + TDZ 0,5 ml/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L yaitu 0%. Hal ini menunjukkan pada persentase eksplan bertunas dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang diberikan pada medium perlakuan. Pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L terkandung hormon sitokinin dari air kelapa yang mempunyai kemampuan untuk mendorong pembelahan sel dan proses diferensiasi (Gunawan, 1995), serta medium perlakuan terkandung hormon auksin dari ekstrak pisang yang dapat menstimulasi organogenesis dan pertumbuhan tunas dalam mikropropagasi pada tanaman (Dwiyani, 2009). Hasil penelitian Inkiriwang, dkk (2016), perlakuan MS 50% + air kelapa 30% dan pupuk majemuk 1,5 g/L menghasilkan rata-rata eksplan bertunas tertinggi yaitu 6,78% pada pertumbuhan anggrek *Dendrobium*.

C. Perkembangan Daun

Tabel 3. Pengaruh komposisi medium NDM (TDZ, air kelapa, ekstrak pisang dan ekstrak tomat) terhadap pertumbuhan jumlah daun dan warna daun *Vanda tricolor* 8 MST.

Perlakuan	Pertambahan Jumlah Daun	Warna Daun
NDM + TDZ 0,5 ml/L	0,40b	3,13a
NDM + Air Kelapa 150 ml/L	0,53b	3,26a
NDM + Air Kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Pisang 150 g/L	3,26a	3,66a
NDM + Air kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Tomat ml/L	1,33b	3,60a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan tidak ada pengaruh yang berbeda nyata menurut analisis DMRT pada taraf $\alpha=5\%$.

Skor warna : 1 = 7,5 *Yellow Red* 
2 = 2,5 *Yellow* 
3 = 5 *Yellow* 
4 = 2,5 *Green Yellow* 
5 = 5 *Green Yellow* 

1) **Pertambahan Jumlah Daun**

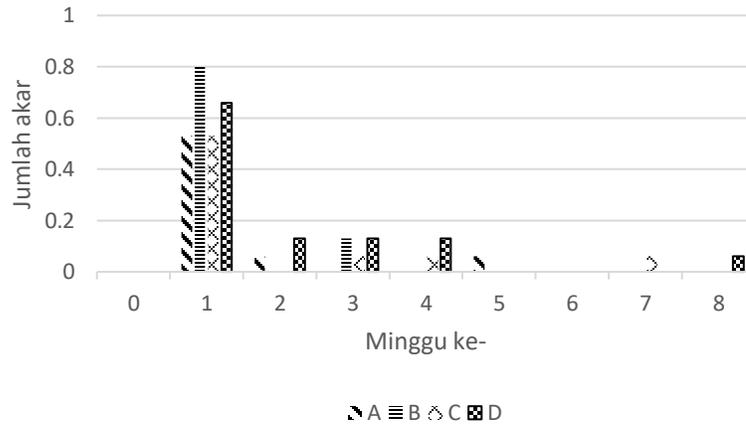
Berdasarkan Tabel 4, dapat diketahui bahwa Pertambahan jumlah daun eksplan *Vanda tricolor* terbanyak ditunjukkan oleh perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L dan ekstrak pisang 150 g/L yaitu sebanyak 3,26 helai. Diduga pada medium tersebut tersedia unsur K, Mg dan Fe yang terdapat di dalam ekstrak pisang dan air kelapa. Unsur K dan Fe berfungsi dalam metabolisme untuk menghasilkan ATP. Unsur Mg sangat diperlukan untuk proses fotosintesis karena Mg merupakan komponen molekul klorofil yang dibutuhkan dalam pembentukan klorofil. Unsur Fe berperan dalam transfer elektron, hal ini memungkinkan jumlah daun mencapai optimal (Djajanegara, 2010). Pertambahan jumlah daun eksplan *Vanda tricolor* terendah ditunjukkan pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L yaitu sebanyak 0,40 helai. Hal ini diduga pemberian sitokinin tunggal belum mampu mendorong pertumbuhan daun pada eksplan *Vanda tricolor*.

2) **Warna Daun**

Berdasarkan hasil skoring Tabel 3, pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L menunjukkan skor warna daun yang cenderung lebih tinggi dengan rerata tingkat skoring 5 *Green Yellow*. Kandungan karbohidrat yang tinggi pada pisang menyebabkan warna daun menjadi lebih hijau dan hormon sitokinin pada air kelapa mempengaruhi warna hijau daun. Menurut Dwijoseputro (1994) terbentuknya klorofil dipengaruhi oleh karbohidrat terutama dalam bentuk gula. Selain itu pengaruh sitokinin yang kuat dalam medium dapat memacu pembentukan kloroplas dan klorofil menjadi lebih stabil.

D. Perkembangan Akar

1. Waktu Muncul Akar



Keterangan : A (NDM + TDZ 0,5 ml/L)

B (NDM + air kelapa 150 ml/L)

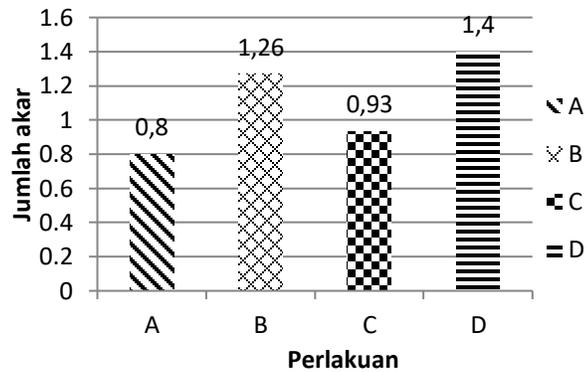
C (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L)

D (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L)

Gambar 2. Rerata waktu muncul akar *Vanda tricolor*

Berdasarkan rerata waktu muncul akar pada Gambar 8, dapat diketahui bahwa semua perlakuan menunjukkan waktu muncul akar yang sama yaitu pada minggu ke-1. Namun pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L menunjukkan rerata tertinggi yaitu 0,8. Diduga kandungan sitokinin dan auksin pada air kelapa dapat merangsang pertumbuhan akar pada tunas *Vanda tricolor*. Jumlah sitokinin dalam air kelapa lebih tinggi dari pada jumlah auksin, namun kandungan auksin dalam air kelapa tersebut dapat merangsang pembesaran dan pemanjangan sel dan merangsang pembentukan akar. Perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L dan perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L menunjukkan rerata terendah yaitu 0.53. Hal ini diduga pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L, interaksi bahan aktif dalam komposisi medium tersebut lebih mengarah pada pembentukan tunas.

2. Pertambahan Jumlah Akar



Keterangan : A (NDM + TDZ 0,5 ml/L)

B (NDM + air kelapa 150 ml/L)

C (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L)

D (NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L)

Gambar 3. Rerata pertambahan jumlah akar *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Berdasarkan histogram pada Gambar 3, dapat diketahui bahwa perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L memberikan hasil pertambahan jumlah akar yang cenderung lebih tinggi (1,40). Dalam hal ini diduga kandungan auksin didalam air kelapa dan ekstrak tomat mampu untuk memacu pertumbuhan akar terbanyak sehingga menghasilkan pertambahan jumlah akar yang cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pertambahan jumlah akar pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L pada Gambar 3 menunjukkan pertambahan akar muncul selama 5 minggu dari 8 minggu pengamatan, sehingga jumlah akar yang dihasilkan lebih banyak perlakuan lainnya. Pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L menunjukkan hasil pertambahan akar yang cenderung lebih rendah (0,8). Hal ini diduga pada medium NDM + TDZ 0,5 ml/L hanya terkandung 1 jenis hormon yaitu sitokinin tunggal dan tidak terdapat hormone auksin yang berfungsi untuk merangsang pembentukan akar, sehingga jumlah akar yang dihasilkan menjadi cenderung lebih rendah.

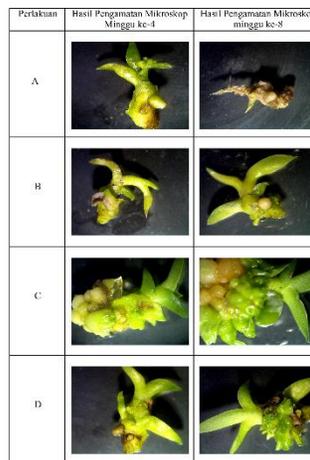
3. Persentase Eksplan Berakar

Tabel 2. Pengaruh komposisi medium NDM (TDZ, Air Kelapa, Ekstrak Pisang dan Ekstak Tomat) terhadap persentase eksplan berakar pada *Vanda tricolor* 8 MST.

Perlakuan	Persentase Eksplan Berakar (%)
NDM + TDZ 0,5 ml/L	53,3
NDM + Air Kelapa 150 ml/L	80,0
NDM + Air Kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Pisang 150 g/L	60,0
NDM + Air kelapa 150 ml/L+ Ekstrak Tomat ml/L	80,0

Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa pada perlakuan NDM + air kelapa 150 ml/L dan NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak tomat 150 ml/L menunjukkan hasil persentase eksplan berakar tertinggi yaitu 80%. Hal ini diduga Kandungan auksin dalam air kelapa ekstrak tomat dapat mencukupi kebutuhan dalam memacu pertumbuhan akar *Vanda tricolor*. Sementara hasil persentase eksplan terendah ditunjukkan pada perlakuan NDM + TDZ 0,5 ml/L yaitu 53,3%. Hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut hanya terdapat sitokinin tunggal. Menurut Pranata dkk. (2015) Sitokinin mempunyai peranan untuk memacu pertumbuhan tunas dan menghambat pertumbuhan akar.

E. Perkembangan Eksplan



Gambar 4. Perkembangan tunas Anggrek *Vanda tricolor*

IV. PENUTUP

A. Kesimpulan

Medium NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L dapat digunakan sebagai medium substitusi ZPT sintetik (Thidiazuron) untuk multiplikasi tunas anggrek *Vanda tricolor*.

B. Saran

Penggunaan medium NDM + air kelapa 150 ml/L + ekstrak pisang 150 g/L dapat digunakan sebagai medium substitusi multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*, maka untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal perlu diteliti kembali berapa konsentrasi yang tepat dalam pemberian air kelapa dan ekstrak pisang untuk pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor*.

DAFTAR PUSTAKA

- Daud NH, Jayaraman S dan Mohamed R (2012) Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Aspac J Mol Biol Biotechnol* 20:55-58.
- Djajaneegara, I. 2010. Pemanfaatan Limbah Buah Pisang dan Air Kelapa Sebagai Bahan Medium Kultur Jaringan Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) Tipe 229. Pusat Teknologi Bio Industri. Jakarta. 11 (03) : 373-380.
- Dwidjoseputro. 1994. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 200 p.
- Dwiyani, R, Purwanto, A, Indrianto, A, dan Semiarti, E, 2009. Peningkatan Kecepatan Pertumbuhan Embrio Anggrek *Vanda tricolor* Lindl pada Medium diperkaya dengan Ekstrak Tomat. Prosiding Bioteknologi. ISBN 978-602-95471-0-8.
- George, E. F. and Sherington, P.D. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetis Limited England. Basing stoke. 39-71 p.
- Palupi, Annisaauliani. 2011. Populasi Anggrek Khas Merapi Nyaris Punah. <http://nationalgeographic.grid.id/read/13280787/populasi-anggrek-khas-merapi-nyaris-punah?page=all>. Diakses tanggal 10 Juli 2018.
- Republika. 2015. Anggrek Khas Lereng Merapi Terancam Punah. <https://www.republika.co.id/berita/nasional/daerah/15/02/03/nj6qlj-anggrek-khas-lereng-merapi-terancam-punah>. Diakses pada tanggal 10 Juli 2018.
- Saputra, E.W.E. 2018. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Multiplikasi Tunas Anggrek *Vanda tricolor*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. 42 Hal.
- Tribun News. 2018. Pelestarian Anggrek *Vanda tricolor* Asli Gunung Merapi. <http://jogja.tribunnews.com/2018/06/28/pelestarian-anggrek-vanda-tricolor-asli-gunung-merapi?page=2>. Diakses pada tanggal 2 April 2019.