

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Gambaran tingkat keberhasilan kultur *in vitro* dapat diketahui melalui persentase eksplan hidup, kontaminasi, *browning* dan vitrifikasi. Selain itu, kesesuaian antara medium dan eksplan juga merupakan faktor penting untuk menentukan keberhasilan teknik kultur *in vitro*. Persentase Eksplan Hidup, Persentase Eksplan Kontaminasi, Persentase Eksplan *browning*, dan Persentase Eksplan Vitrifikasi Tunas Anggrek *Vanda tricolor* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap persentase eksplan hidup, kontaminasi, *browning*, dan vitrifikasi *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Perlakuan	Eksplan Hidup (%)	Eksplan <i>Browning</i> (%)	Eksplan Kontaminasi (%)	Vitrifikasi (%)
Pupuk daun 3g/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	55,6	44,4	0	33,3
Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L	22,23	77,67	0	33,3
POC 3ml/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	100	0	0	0
POC 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L	88,9	22,2	0	11,1
Medium MS + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	55,53	44,47	0	33,3
Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L	33,3	66,67	0	11,1

1. Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan hidup pada anggrek ini menunjukkan bahwa eksplan di dalam botol kultur mengalami respon pertumbuhan yang cukup signifikan, sebab beberapa eksplan juga menunjukkan *recovery* atau proses penghijauan kembali yang juga menunjukkan respon hidup sehingga nilai dalam tiap minggu dapat berubah. Persentase eksplan hidup juga dipengaruhi oleh tingkat *browning* pada eksplan tersebut, hal ini ditunjukkan berdasar hasil analisis tabel perlakuan Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L (22,23) yang menunjukkan tingkat persentase hidup yang rendah bukan disebabkan oleh kontaminasi namun terjadi pencoklatan atau *browning* dan vitrifikasi. Adanya peristiwa *browning* menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi terhambat.

Hasil analisis pada tabel I juga menunjukkan bahwa perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L (100) dan POC 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L (88,9) merupakan hasil yang tertinggi di dalam penelitian ini, sedangkan perlakuan Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L dan Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L persentase eksplan hidup kurang dari 50%. Pada setiap medium dengan penambahan ekstrak jagung muda memberikan pengaruh penurunan persentase eksplan hidup yang disebabkan oleh peningkatan *browning*. Ekstrak jagung muda yang mengalami kerusakan secara mekanis pada saat proses pembuatannya dapat memacu kerusakan integritas jaringan tanaman.

2. Persentase Eksplan *Browning*

Pencoklatan atau *browning* merupakan perubahan warna yang terjadi pada eksplan, dari warna hijau menjadi coklat atau hitam. *browning* timbul karena adanya senyawa fenol yang dikeluarkan eksplan akibat pembelahan sel yang terinduksi oleh ZPT dan kandungan medium yang dapat dimungkinkan dalam konsentrasi tinggi. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan dapat terhambat akibat dari *browning*.

Pada penelitian ini Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L menunjukkan tingkat *browning* yang sangat tinggi yaitu di atas 50% (77,67%). Penambahan ekstrak jagung muda pada medium perlakuan memberikan pengaruh peningkatan persentase eksplan *browning*. Tunas Anggrek *Vanda tricolor* yang mengalami *browning* disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Eksplan *Vanda tricolor* yang mengalami *Browning*.

○ : Menunjukkan *Browning*

Browning pada perlakuan medium ini disebabkan karena adanya aktivitas enzim yang terjadi di dalam bahan segar ekstrak jagung muda. Pembuatan ekstrak jagung muda untuk pengganti ZPT sintetik melalui proses pemotongan biji jagung sehingga menyebabkan kerusakan secara

mekanis. Kerusakan mekanis ini dapat memacu integritas jaringan tanaman. Hal ini menyebabkan enzim dapat kontak dengan substrat yang biasanya merupakan asam amino tirosin dan komponen fenolik seperti katekin, asam kafeat, dan asam klorogena sehingga substrat fenolik pada tanaman akan dihidroksilasi menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (dopa) dan dioksidasi menjadi kuinon oleh enzim phenolase (Blackweel, 2012).

Hasil yang tidak mengalami *browning* Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L yaitu (0%). Menurut hasil penelitian (Imanudin, 2016) rendahnya persentase *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. TDZ mampu menginduksi dengan baik sehingga dapat mendorong pembelahan sel. Selain itu, keberhasilan penanaman eksplan Anggrek *Vanda tricolor* juga dipengaruhi oleh arang aktif yang diberikan pada setiap perlakuan. Menurut Madhusudhanan dan Rohiman (2000), arang aktif sendiri dapat mengurangi pencoklatan pada medium yang diakibatkan pemanasan tinggi setelah sterilisasi dan menyerap senyawa fenol yang keluar dari jaringan tanaman yang terluka pada saat tahap inisiasi (Fridborg dan Erikson, 1975).

3. Persentase Eksplan Kontaminasi

Pengamatan persentase kontaminasi dianggap perlu dilakukan agar dapat mengetahui seberapa besar tingkat keberhasilan sterilisasi eksplan, alat dan medium. Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan eksplan Anggrek

tidak mengalami kontaminasi (0%) pada semua perlakuan, hal ini dikarenakan oleh beberapa faktor yaitu eksplan yang digunakan merupakan eksplan yang berasal dari kultur steril dan sterilisasi alat, bahan serta medium yang sudah tepat sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya *browning*. Pada setiap medium perlakuan diberikan PPM (*Plant Preservative Mixure*) yang dapat membantu meminimalisir terjadinya kontaminasi. Sesuai dengan pernyataan Sharaf dan Weathers (2006), PPM adalah salah satu bahan biosida dalam kultur cair yang termasuk golongan Isotiazolon yang dapat menghambat mikroba dan jamur.

4. Persentase Vitrifikasi

Eksplan dikategorikan vitrifikasi apabila mengalami kehilangan klorofil sehingga daun dan batang tampak menjadi putih transparan dan rapuh. Berdasarkan data Tabel 1, vitrifikasi yang terjadi pada penelitian ini rendah yaitu antara 11,1 – 33,3 %. Persentase vitrifikasi yang paling tinggi terjadi pada perlakuan pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L, pupuk daun 3g/L + ekstrak Jagung muda 100ml/L, medium MS + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L yaitu sebesar 33% , sedangkan pada perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L menunjukkan persentase vitrifikasi terendah yaitu 0%. Tunas yang mengalami vitrifikasi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Eksplan *Vanda tricolor* yang mengalami Vitrifikasi

○ : Menunjukkan Vitrifikasi

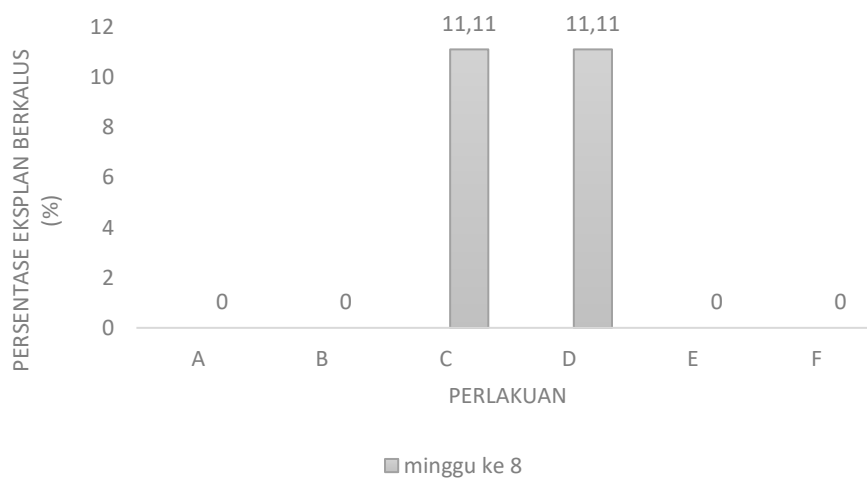
Vitrifikasi pada umumnya berhubungan dengan eksplan yang mengalami *browning*. Umumnya terjadi pada 2-4 minggu setelah eksplan mengalami *browning*. Namun, sebagian kecil eksplan dapat mengalami vitrifikasi secara langsung dimana eksplan yang berwarna hijau akan berubah menjadi putih transparan. Vitrifikasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti jenis eksplan yang digunakan, kelembaban relatif tinggi, intensitas cahaya rendah dan ketidakseimbangan unsur mikro dan hormon.

Pada penelitian ini vitrifikasi menunjukkan pertumbuhan yang tidak normal, warna daun, dan batang menjadi putih transparan, tanaman yang dihasilkan kerdil dan terlihat rapuh. Menurut Santoso dan Nursandi (2002) vitrifikasi terjadi akibat kegagalan atau adanya hambatan dalam proses proses pembentukan dinding sel (jaringan parenkim) dan hambatan proses pembentukan lignin. Hal ini menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat.

B. Pertumbuhan Eksplan Tunas Anggrek *Vanda tricolor*

1. Persentase Eksplan berkalus

Kemampuan eksplan dalam membentuk kalus pada medium perlakuan dengan penambahan ZPT dapat diketahui melalui persentase eksplan berkalus. Semakin besar persentase eksplan berkalus maka respon eksplan anggrek *Vanda tricolor* terhadap ZPT yang diberikan dalam medium semakin baik. Berdasarkan hasil penelitian, ZPT mempunyai pengaruh yang bervariasi terhadap pembentukan kalus pada eksplan anggrek *Vanda tricolor*. Grafik persentase eksplan berkalus pada akhir pengamatan (8MST) disajikan pada Gambar 3.



Keterangan:

A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Gambar 3. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC, dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap pertumbuhan kalus pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST

Pembentukan kalus terjadi pada beberapa perlakuan pada minggu ke-4 yaitu perlakuan POC (Pupuk Organik Cair) 3ml/L yang ditambahkan TDZ (*Thidiazuron*) dan Ekstrak jagung muda. Hal ini diduga medium POC mampu menginduksi kalus karena mengandung ZPT yaitu auksin, dan sitokinin. Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh tanaman yang seringkali digunakan untuk menginduksi morfogenetik tanaman (Zulkarnain, 2007).

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa terdapat auksin dan sitokinin yang terdapat pada zat pengatur tumbuh ini memiliki peran terhadap pertumbuhan eksplan. *Weier* dkk. (1974) dalam Abidin (1990) mengemukakan jika pada perbandingan sitokinin yang lebih besar dibandingkan dengan auksin, akan memperlihatkan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun, sebaliknya apabila sitokinin lebih rendah dari auksin, akan mengakibatkan stimulasi pada pertumbuhan akar. Sementara apabila perbandingan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun dan akar akan berimbang pula, tetapi bila konsentrasi sitokinin sedang dan konsentrasi auksin lebih rendah maka akan membentuk kalus.

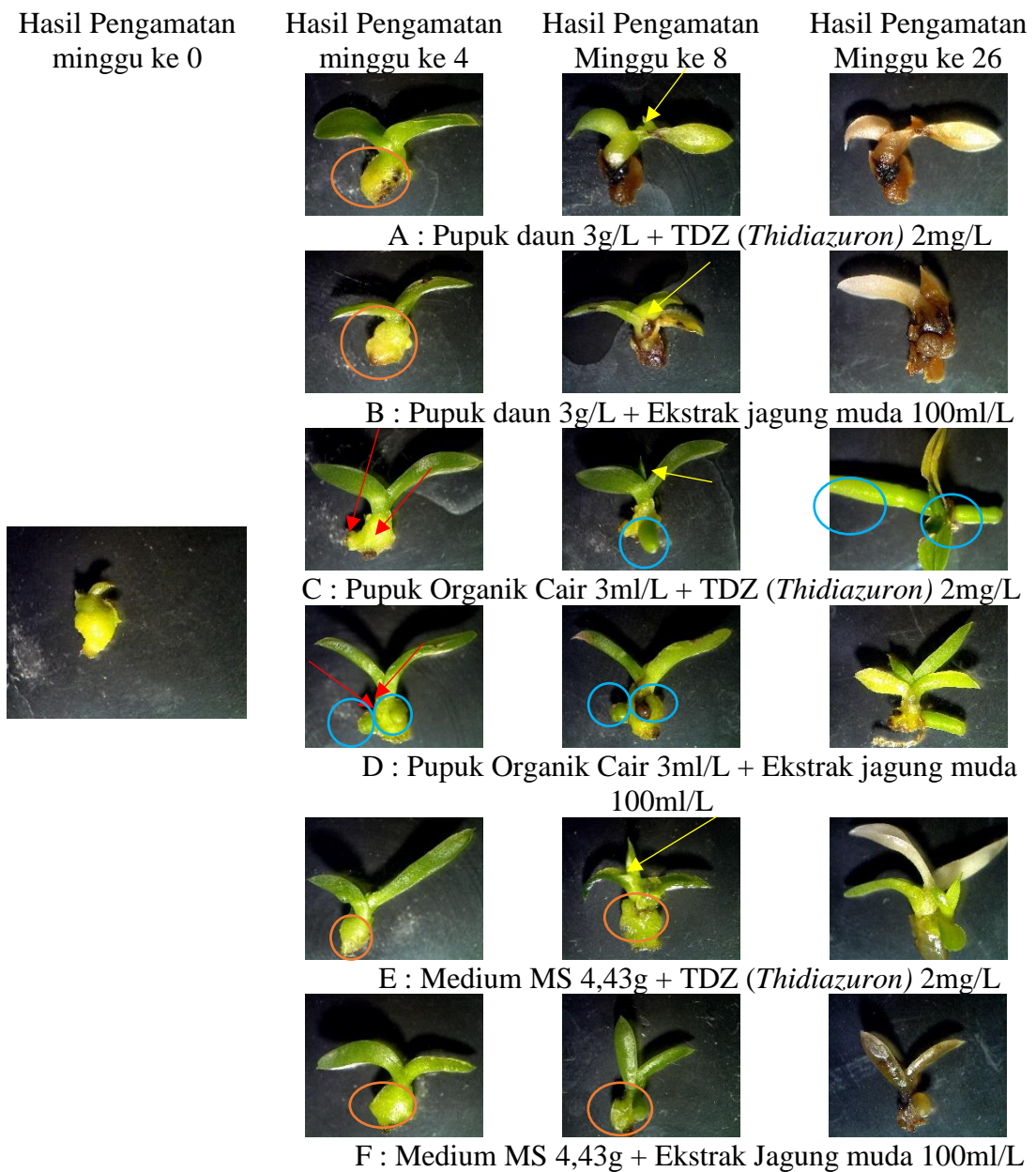
Pada setiap perlakuan yang menggunakan medium Pupuk daun belum terjadi pembentukan kalus pada tunas Anggrek *Vanda tricolor*. Induksi kalus pada medium pupuk daun dan medium MS ini hanya mampu memberikan respon pembengkakan yang mengarah ke pembentukan kalus. Pembengkakan ini menandakan kondisi sel pada eksplan mengalami pembesaran. Namun tidak sampai ke pembelahan sel yang nantinya akan membentuk kalus.





Seharusnya setelah terjadi pembengkakan eksplan akan menghasilkan kalus. . Hal ini sejalan dengan pernyataan Rineksane dan Sukarjan (2015) waktu yang dibutuhkan dalam perbanyakan dengan kultur *in vitro* pada *Vanda tricolor* Lindl. varietas *suavis* cukup lambat, baik dalam pertumbuhannya maupun pembentukan kalus dan tunas.

Pertumbuhan kalus yang belum maksimal pada perlakuan Pupuk daun medium MS terhadap eksplan Anggrek *Vanda tricolor* juga dapat disebabkan oleh kurangnya waktu pengamatan. Menurut Dwiyani (2013), salah satu kelemahan dalam budidaya anggrek genus *Vanda* adalah masa vegetatif yang panjang, sehingga membutuhkan waktu yang relatif lama menuju proses pembungaan.

2. Pengamatan Pertumbuhan Tunas.

Kemampuan eksplan dalam membentuk kalus pada medium perlakuan dengan penambahan ZPT dapat diketahui melalui persentase eksplan berkalus. Semakin besar persentase eksplan berkalus maka respon eksplan anggrek *Vanda tricolor* terhadap ZPT yang di berikan dalam medium semakin baik. Berdasarkan hasil penelitian, ZPT mempunyai pengaruh yang bervariasi terhadap pembentukan kalus pada eksplan anggrek *Vanda tricolor*. Grafik persentase eksplan berkalus pada akhir pengamatan (8MST) disajikan pada Gambar 4.



-  : Menunjukkan kemunculan Kalus
-  : Menunjukkan kemunculan daun
-  : Menunjukkan akar
-  : Menunjukkan pembengkakan

Gambar 4. Perkembangan kalus Anggrek *Vanda tricolor* pada Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) pada minggu ke-0 , ke-4, dan ke-8 MST

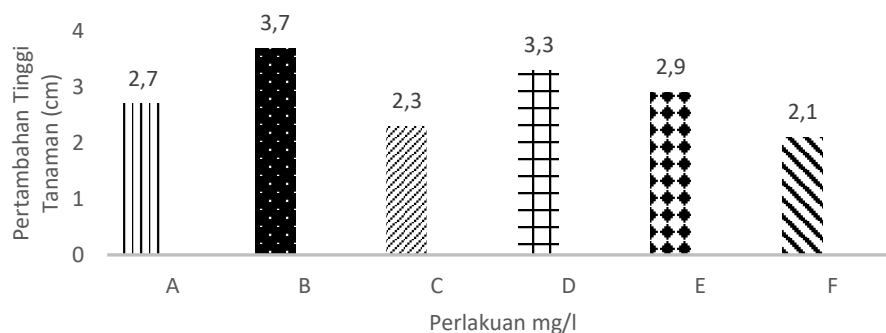
Pengamatan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perkembangan eksplan yang membentuk kalus atau tunas secara detail. Pengamatan perkembangan tunas dilihat pada perbesaran 0,7 dan perbesaran 0,8. Pengamatan perkembangan tunas minggu ke-4 dan ke-8 MST. Dari hasil pengamatan perkembangan tunas 0 mst , 4 mst , dan 8 mst menunjukkan adanya pembentukan kalus pada perlakuan Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L dan Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L. Hal ini diduga dalam ekstrak jagung muda terdapat hormon sitokinin dan auksin yang dapat merangsang pembelahan sel dan pembelahan sel. Sesuai dengan pernyataan Natsir (2002) bahwa penambahan auksin yang stabil cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan, sedangkan sitokinin di dalam ZPT yang ditambahkan dapat mendorong proses pembelahan sel. Pada perlakuan medium Pupuk daun 3g/L dan Medium MS hanya mampu memberikan respon pembengkakan yang mengarah ke pembentukan kalus. Pembengkakan ini menandakan kondisi sel pada eksplan mengalami pembesaran. Namun tidak sampai ke pembelahan sel yang nantinya akan membentuk kalus. Seharusnya setelah terjadi pembengkakan eksplan akan menghasilkan kalus. Waktu pengamatan pertumbuhan kalus juga lebih pendek yaitu hanya 8 MST. Hasil pengamatan perkembangan tunas minggu ke-4 juga di beberapa perlakuan menunjukkan pertumbuhan akar yang disebabkan adanya perbandingan sitokinin dan auksin yang berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun dan akar akan berimbang pula.

C. Pertumbuhan Tunas Anggrek *Vanda tricolor*

Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa pengaruh perlakuan TDZ dan ekstrak jagung muda pada medium yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata terhadap semua parameter. Pertumbuhan pada tunas Anggrek *Vanda tricolor* dapat dilihat dengan adanya penambahan tinggi tanaman dan jumlah daun pada eksplan tunas anggrek *Vanda tricolor*.

1. Tinggi Tunas

Tinggi tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan yang bertujuan untuk mengetahui respon dari perlakuan terhadap eksplan tunas *Vanda tricolor*. Grafik tinggi tunas disajikan pada Gambar 5.



Keterangan:

A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Gambar 5. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap penambahan tinggi pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam parameter tinggi eksplan Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 MST menunjukkan pengaruh yang tidak

berbeda nyata, sehingga perbedaan penggunaan medium pupuk daun, POC dan MS yang ditambahkan *Thidiazuron*, ekstrak jagung muda dan arang aktif tidak berpengaruh terhadap penambahan jumlah daun pada eksplan Anggrek *Vanda tricolor*. Selanjutnya, grafik tinggi eksplan Anggrek *Vanda tricolor* disajikan pada Gambar 5.

Dalam pertumbuhan Eksplan tunas anggrek ini faktor yang mempengaruhi adalah medium dan ZPT dari setiap perlakuan, setiap medium terdapat sukrosa sebagai gula atau sumber makanan dari tanaman tersebut, sedangkan ZPT merangsang pertumbuhan eksplan melalui pembelahan yang terjadi pada setiap eksplan. Namun demikian hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ulangan perlakuan tidak mengalami perubahan tinggi maupun pertumbuhan tunas selama 8 minggu. Hal ini diduga karena beberapa eksplan mengalami *browning* yang disebabkan senyawa fenolik yang teroksidasi sehingga dapat menghambat pertumbuhan eksplan serta mematikan jaringan tanaman dan membuat berwarna coklat (*browning*). Senyawa fenolik yang merupakan hasil dari oksidasi tersebut dikeluarkan oleh tanaman akibat adanya pembelahan sel. Pertambahan tinggi juga dapat dipengaruhi oleh peristiwa tumbuhnya kalus pada bagian bawah eksplan sehingga eksplan terhambat pertumbuhan tingginya.

Berdasarkan grafik pengaruh komposisi medium pupuk daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap penambahan tinggi pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST, menunjukkan bahwa pupuk daun dan pupuk organik cair dengan penambahan ekstrak jagung muda mampu

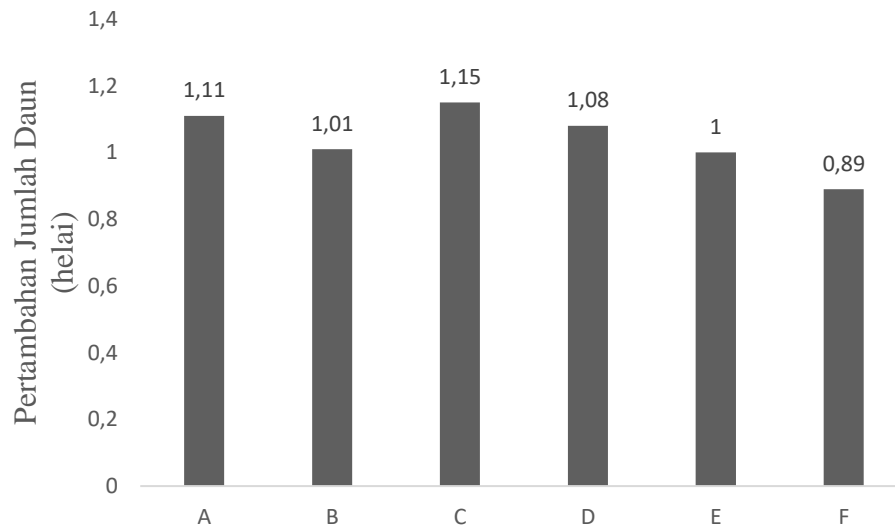
meningkatkan pertumbuhan tinggi tunas. Hal ini diduga di dalam pupuk daun dan pupuk organik cair mengandung unsur N tinggi yang mampu bersintesis dengan protein pada ekstrak jagung muda. Setiawati dkk (2016) juga menyebutkan dalam endosperm jagung muda banyak mengandung sebagian besar karbohidrat dan protein. Unsur N berfungsi untuk menyusun asam amino (protein), asam nukleat, nukleotida, dan klorofil pada tanaman, sehingga dengan adanya N, tanaman akan mempercepat pertumbuhan tanaman (tinggi, jumlah anakan, jumlah cabang).

Pada medium MS mengalami penurunan tinggi dengan penambahan Ekstrak jagung muda. Hal ini di duga dalam medium MS terdapat konsentrasi yang berbeda terhadap ekstrak jagung muda, di dalam medium MS lebih banyak mengandung asam amino esensial yang lebih kompleks dari pada medium lainnya. Sesuai dengan pernyataan (Yusnita, 2004) bahwa setiap tanaman membutuhkan komposisi yang berbeda – beda sehingga menyebabkan banyak diadakan penelitian untuk memodifikasi medium–medium yang memberikan respon yang berbeda terhadap berbagai macam tanaman. Sementara penambahan TDZ (*Thiadzuron*) mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman, sehingga medium MS di duga dapat bersintesis dengan baik pada pertumbuhan tinggi eksplan.

2. Pertambahan Jumlah daun

Perkembangan daun pada medium pupuk daun 3g/L, POC 3ml/L dan MS 4,43g yang ditambahkan *Thidiazuron* 2mg/L, ekstrak jagung muda 100ml/L

dan arang aktif 0,2 g/L diamati pertambahan jumlah daun. Hasil uji lanjut pertambahan jumlah daun disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap perkembangan jumlah daun pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Keterangan:

- A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L
- C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L
- E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Salah satu keberhasilan pertumbuhan tunas adalah dengan adanya penambahan jumlah daun yang baru dan membentuk sebuah planlet yang sempurna atau belum sempurna. Dari pertambahan jumlah daun sendiri juga dapat menghasilkan tunas – tunas baru yang akan menjadi tanaman utuh. Penambahan jumlah daun terjadi akibat pembelahan sel yang di induksi oleh ZPT sehingga dapat menjadi tanaman baru. Hasil analisis pertambahan jumlah daun 8 MST disajikan pada Gambar 6.

Pertambahan jumlah daun 8 MST menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata, sehingga perbedaan penggunaan medium pupuk daun, POC dan MS yang ditambahkan *Thidiazuron*, ekstrak jagung muda dan arang aktif tidak berpengaruh terhadap pertambahan jumlah daun pada eksplan Anggrek *Vanda tricolor*. Selanjutnya, hasil tersebut diuji lanjut α taraf 5%.

Pada penelitian ini jumlah daun mulai bertambah dari 4 minggu setelah tanam. Jumlah daun yang muncul pada eksplan pada setiap perlakuan bervariasi. Hal ini diduga karena adanya hormon endogen pada setiap eksplan berbeda kadarnya sehingga respon terhadap penambahan zat pengatur tumbuh menjadi bervariasi. Berdasarkan Gambar 5, diketahui bahwa pertambahan jumlah daun pada eksplan *Vanda tricolor* terbanyak ditunjukkan oleh perlakuan Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L yaitu sebanyak 1,15 helai. Banyaknya jumlah daun yang muncul juga disebabkan karena adanya kandungan Nitrogen (dalam bentuk NH_4^+), Magnesium (Mg) dan Mangan (Mn) yang terkandung dalam POC yang berfungsi sebagai pembentuk organ vegetatif dan pembentukan klorofil pada tanaman. Selain itu POC mengandung nitrogen yang lebih tinggi yaitu 13,86 %, unsur K dalam bentuk K_2O 14 % dan unsur P dalam bentuk P_2O_5 sebesar 8 %). Komposisi kandungan POC dapat mensuplai ketersediaan hara terutama unsur N, P dan K sehingga dapat memenuhi kebutuhan tanaman anggrek selama proses pertumbuhan dan perkembangan protokorm hingga membentuk planlet yang lengkap dengan organ-organ seperti batang, akar dan daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1988) bahwa untuk pembentukan tunas baru, tanaman

membutuhkan unsur Nitrogen (N), Kalium (K), Belerang (S), Besi (Fe) dan Seng (Zn) yang cukup. Yaronskaya dkk. (2006) menyatakan bahwa sitokinin mengatur biogenesis dan fungsi dari kloroplas yang mengatur ultrastruktur dari kloroplas, kegiatan enzim kloroplas, akumulasi pigmen dan laju fotosintesis.

Pertambahan jumlah daun eksplan *Vanda tricolor* terendah ditunjukkan pada perlakuan Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L yaitu 0,89 helai. Dari data tabel 2, terlihat bahwa setiap perlakuan dengan penambahan ekstrak jagung muda selalu mengalami penurunan pada jumlah daun. Berbeda dengan perlakuan medium TDZ yang memiliki efektifitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak jagung muda. Hal ini juga didukung oleh (Khawar dkk., 2003) TDZ (*Thiadzuron*) mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman.

3. Warna Daun

Hasil uji lanjut pertambahan warna daun disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap warna daun *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Perlakuan	Warna Daun
Pupuk daun 3g/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	3,78ab
Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L	2,67ab
POC 3ml/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	4,0a
POC 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L	3.8ab
Medium MS + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L	3,67ab
Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L	3,56ab

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. *Green Yellow*



Hasil sidik ragam warna daun (Lampiran Vc) menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata, sehingga perbedaan penggunaan medium pupuk daun, POC dan MS yang ditambahkan *Thidiazuron*, ekstrak jagung muda dan arang aktif tidak berpengaruh terhadap warna daun Anggrek *Vanda tricolor*. Berdasarkan data Tabel 2, diketahui bahwa pada medium perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L hasil rerata warna daun cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu 4,0, sedangkan pada medium perlakuan Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L hasil rerata warna daun cenderung lebih rendah yaitu 2,67. Perubahan warna yang terjadi pada eksplan disebabkan oleh beberapa eksplan yang mengalami *browning* dan sebagian mengalami perubahan warna dari hijau menjadi kuning karena kandungan sitokinin tunggal dalam ekstrak jagung muda belum kuat sehingga tidak dapat maksimal memacu perkembangan kloroplas dan klorofil menjadi lebih stabil.

Adanya variasi warna eksplan *Vanda tricolor* pada penelitian ini dipengaruhi oleh komposisi medium yang digunakan. Berdasarkan hasil skoring warna yang disajikan pada Tabel 2, pada medium perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L menunjukkan skor warna daun yang cenderung lebih tinggi dengan rerata tingkat skoring warna 5 *Green Yellow*. Hal tersebut diduga Warna hijau terbentuk oleh unsur N yang terdapat pada POC (Pupuk Organik Cair).

Unsur Nitrogen (N) merupakan unsur hara esensial yang keberadaannya bersifat mutlak untuk kelangsungan pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta dibutuhkan dalam jumlah banyak. Peranan utama Nitrogen bagi tanaman adalah untuk merangsang pertumbuhan tanaman secara keseluruhan, khususnya pembentukan hijau daun yang berguna dalam proses fotosintesis (Novizan, 2002). Kandungan N digunakan tanaman untuk membentuk asam amino yang akan diubah menjadi protein dan selanjutnya protein mempunyai peranan penting dalam membentuk klorofil. Selain itu, adanya sitokinin dalam medium dapat memacu pembentukan kloroplas dan klorofil menjadi lebih stabil.

Pada tabel 2, parameter warna daun setiap perlakuan dengan penambahan ekstrak jagung selalu mengalami penurunan terhadap warna daun. Sesuai dengan pernyataan George dan Sherrington (1984) yang mengatakan bahwa sitokinin dapat mendukung pembentukan klorofil. Peranan dari sitokinin dari TDZ (*Thiadzuron*) yang bahannya merupakan bahan – bahan yang lebih kompleks lebih dapat memacu pembentukan klorofil lebih cepat. Hal ini juga di dukung oleh Khawar dkk., (2003), TDZ (*Thiadzuron*) mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman.