

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang sangat prospektif sebagai komoditas non migas. Anggrek termasuk ke dalam famili *Orchidaceae*, suatu famili yang sangat besar dan sangat bervariasi. Famili ini terdiri dari 200 genus dan tidak kurang dari 80.000 spesies. Bunga anggrek dimanfaatkan sebagai bunga pot, bunga potong dan tanaman taman. Anggrek *Dendrobium* menarik minat para penggemar tanaman hias karena mempunyai warna, bentuk dan ukuran yang sangat beragam, serta mempunyai daya tahan kesegaran bunga lebih lama sebagai bunga potong (Gunawan, 2007).

Teknik perbanyakan tanaman anggrek yang telah lazim dilakukan adalah dengan mengecambahkan biji-biji anggrek secara *in vitro* dengan metode kultur jaringan, yaitu dalam bentuk bibit dalam botol atau kultur biji (Sriyanti, 2007). Teknik kultur jaringan adalah teknik penumbuhan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro* (Nugroho dan Heru, 1996).

Media kultur yang biasa digunakan dalam kultur jaringan anggrek merupakan media yang teramu dalam media MS (Murashige and Skoog), VW (Vacin and Went) dan Knudson. Media tersebut mengandung unsur hara kimia makro nutrien, mikro nutrien, gula, vitamin, ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) auksin dan Sitokinin (Sriyanti, 2007). Sayangnya bahan baku media kultur tersebut, selain masih sulit diperoleh juga relatif mahal untuk skala produksi bagi para petani atau para pemula anggrek (Sandra, 2004).

Oleh karena itu, diperlukan media kultur alternatif dengan berbagai macam nutrisi yang dapat terjangkau dan mudah didapat. Namun nutrisi alternatif tersebut belum lengkap sehingga perlu penambahan suplemen atau ZPT alami yang mudah didapat, murah harganya dan aman bagi tanaman misal pisang dan air kelapa, namun tetap dapat mendukung proses pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara optimal. Widiastoety dan Purbadi (2003) menyatakan bahwa dengan penambahan

bahan organik kompleks air kelapa dan pisang dalam media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan *plantlet* anggrek.

Nutrisi yang digunakan untuk kultur anggrek selain nutrisi VW dapat menggunakan salah satu pupuk lengkap anorganik misal Growmore dengan kandungan NPK (32-10-10) dan nutrisi hidroponik misal resep formula AB-Mix EC 2 mS/cm (*Electro Conductivity* atau daya hantar listrik dengan satuan milli siemens persenti meter), dengan penambahan suplemen dan ZPT alami. Penggunaan pisang merupakan penggunaan salah satu bahan organik yang sangat umum diberikan dalam media kultur anggrek. Pisang sering digunakan sebagai sumber karbohidrat, suplemen dan ZPT (auksin) dalam penanaman anggrek secara *in vitro*, dapat meningkatkan pertumbuhan dan deferensiasi sel pada tanaman.

Rao (1977) mengungkapkan bahwa, pemberian buah pisang paling efektif untuk memacu pertumbuhan *Phalaenopsis* dibanding dengan buah nanas dan pepaya. Pemberian buah pisang ambon pada subkultur plantlet anggrek dendrobium dapat memacu pertumbuhan (Widiastoety dan Bahar, 1995).

## **B. Perumusan Masalah**

Keberhasilan penggunaan metode kultur jaringan sangat tergantung pada jenis media atau nutrisi yang digunakan. Media kultur tidak hanya mengandung unsur makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat sebagai sumber karbon atau bahan organik lainnya (Widiastoety dan Purbadi, 2003). Untuk mendapatkan media yang lebih ekonomis adalah dengan mengembangkan metode pengkombinasian berbagai macam nutrisi dengan ZPT organik. Usaha modifikasi media terbukti dapat menekan biaya produksi. Namun, masih sedikit sekali penelitian mengenai penggunaan nutrisi alternatif dan penambahan bahan-bahan organik dalam media yang dipergunakan dalam kultur jaringan anggrek. Upaya yang dapat dilakukan untuk menjembatani hal tersebut adalah dengan mengembangkan metode pengkombinasian berbagai macam nutrisi dengan ZPT alami untuk penumbuh anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*.

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi usaha kultur jaringan pada umumnya dan kultur anggrek pada khususnya. Manfaat tersebut antara lain dapat mengurangi biaya produksi dalam kultur jaringan anggrek *Dendrobium*. Oleh karena nutrisi dan ZPT sintetis yang biasa diimpor selain sulit diperoleh harganya-pun relatif mahal, maka dapat digantikan dengan penggunaan nutrisi alternatif dan ZPT alami. Nutrisi yang digunakan VW, pupuk lengkap anorganik Growmore dan nutrisi hidroponik AB-Mix sebagai penyuplai unsur hara makro dan mikro. Penambahan buah pisang pada subkultur anggrek *Dendrobium* dapat memacu pertumbuhan (Widiastoety dan Bahar, 1995).

Berdasarkan uraian tersebut, maka dalam penelitian ini dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu :

1. Apakah nutrisi Growmore dan nutrisi hidroponik AB-Mix dengan pemberian buah pisang berpengaruh dalam meningkatkan pertumbuhan *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro* ?
2. Berapakah konsentrasi buah pisang yang tepat untuk pertumbuhan *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro* ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan nutrisi media alternatif dan konsentrasi buah pisang yang tepat untuk pertumbuhan dan multiplikasi *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*.

### **D. Hipotesis**

Penggunaan macam nutrisi dan buah pisang dengan komposisi yang berbeda diduga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan multiplikasi *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Tanaman *Dendrobium***

Anggrek *dendrobium* merupakan salah satu genus anggrek yang memiliki daya tarik penampilan tinggi, dengan bentuk, warna dan ukuran yang

beraneka ragam. Sebagai anggota keluarga anggrek *Dendrobium* mempunyai 1500 spesies dengan klasifikasi botani sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Subdivisio : Angiospermae  
Classis : Monocotyledonae  
Ordo : Orchidales  
Familia : Orchidaceae  
Genus : *Dendrobium*  
Spesies : *Dendrobium Alice noda* × *Dendrobium Waipahu pink*

Secara morfologis anggrek *Dendrobium* merupakan tumbuhan yang hidup secara epifit dengan tipe tumbuhnya secara simpodial. Susunan tubuh tanaman terdiri dari akar, batang, daun, bunga dan buah (Gunawan, 2007).

*Dendrobium* mempunyai akar lekat atau akar substrat yang berfungsi sebagai penahan tanaman. Akar anggrek epifit umumnya lunak dan mudah patah. Ujungnya meruncing, licin, dan sedikit lengket. Akar anggrek juga mempunyai lapisan velamen yang bersifat spons (berongga) dan dibawahnya terdapat lapisan mengandung klorofil. Lapisan velamen berfungsi menyerap air dan melindungi bagian dalam akar (Gunawan, 2007).

*Dendrobium* memiliki pola pertumbuhan batang tipe simpodial yaitu pertumbuhan ujung batang lurus ke atas dan terbatas. Pertumbuhannya terhenti setelah titik maksimal. Selanjutnya tunas atau anakan baru keluar dari pangkal batang dan tumbuh membesar. Bentuk batang bulat memanjang dan beruas-ruas dengan panjang yang hampir sama.

Daun, bersifat sukulen, warna hijau segar dan keluar dari ruas batang, melekat pada batang tanpa tangkai daun. Posisi daun berhadapan atau berpasangan, daun memanjang, tulang daun sejajar dengan tepi daun hingga ujung daun. Ukuran dan ketebalan daun bervariasi dan mempunyai fungsi sebagai penyimpanan air (Darmono, 2003).

Bunga *Dendrobium* umumnya tersusun majemuk. Tumbuh dari tangkai bunga yang memanjang, muncul dari ketiak daun. Bunga memiliki

sepal berbentuk hampir menyerupai segitiga, bagian dasarnya bersatu dengan kaki tugu untuk membentuk taji. Petal biasanya lebih tipis dari sepal dan bibir bunganya membelah dan beraroma khas. Bunganya dapat bertahan kurang lebih dua minggu (Gunawan, 2007).

Buah *Dendrobium* berwarna hijau, berukuran besar dan menggebung di bagian tengah. Berbentuk seperti kapsul yang terbelah menjadi enam. Tiga diantaranya berasal dari rusuk sejati, sedang sisanya tempat melekatnya dua tepi daun buah yang berlainan dan merupakan tempat terbentuknya biji-biji anggrek yang ukurannya sangat kecil (Setiawan, 2004).

Biji anggrek (menyerupai beberapa tanaman saprofit atau semi parasit), mengandung embrio yang sangat kecil berdiameter 0,1 mm, tanpa jaringan cadangan makanan sebagaimana endosperm atau tonjolan kotiledon. Selama pekecambahan, embrio bertambah besar membentuk *protocorm*, jaringan yang menyerupai struktur *corm* kecil berwarna hijau yang mempunyai kemampuan fotosintesis (George dan Sherrington, 1984). Biji anggrek terdiri dari embrio dan testa (pelindung embrio) tanpa cadangan makanan atau endosperm. Jika bersimbiosis dengan mikoriza, biji anggrek dapat memperoleh yang diperlukan untuk tumbuh. Pada umumnya tingkat keberhasilan perkecambahan secara alami persentasenya sangat kecil (Untari, 2003).

## **B. Teknik Kultur Jaringan**

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1987). Menurut Wetter dan Constabel (1991) bahwa kultur jaringan tanaman terdiri dari sejumlah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan dan sel tanaman. Jaringan dapat dikulturkan pada media padat atau dalam medium cair. Jika ditanam dalam agar (media padat), jaringan akan membentuk kalus, yaitu massa sel atau sel-sel yang tidak tertata. Kultur agar juga merupakan teknik untuk meristem dan juga untuk mempelajari organogenesis.

Kultur jaringan dalam bahasa asing disebut *tissue culture*. Kultur adalah budidaya sedangkan jaringan adalah sekelompok sel yang mempunyai bentuk dan fungsi yang sama. Kultur jaringan dapat diartikan membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat-sifat sama seperti induknya (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Watherell (1982) menjelaskan teori totipotensi merupakan prinsip dasar yang digunakan dalam kultur jaringan seperti diisyaratkan oleh Schleiden dan Schwann, bahwa masing-masing sel tumbuhan mengandung informasi genetik dan sarana fisiologis tertentu yang mampu membentuk tanaman lengkap bila ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai. Bahan yang ditumbuhkan secara aseptik dalam media buatan dapat berasal dari daun, akar, kambium dan bagian-bagian lainnya.

Pengembangan tanaman secara *in vitro* sampai menjadi *plantlet* dan akhirnya menjadi tanaman lengkap yang siap dipindah ke medium tanah, terdapat beberapa tahap utama, yaitu: (1) pemilihan sumber tanaman yang akan digunakan sebagai bahan awal (jaringan meristem, eksplan, dan lain-lain), (2) penanaman dalam medium yang sesuai sampai terjadi perbanyakan (misalnya dalam bentuk kalus), (3) pembentukan tunas dan akar sampai terbentuk *plantlet*, (4) aklimatisasi, yaitu proses adaptasi di luar sistem *in vitro*, (5) penanaman pada medium biasa (dapat digunakan pakis halus, mos dan sabut kelapa (Yuwono, 2006).

### C. Manfaat Nutrisi

Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan *eksplan*. Pada awalnya menurut Santoso dan Nursandi (2004) media kultur jaringan komposisinya didasarkan pada bahan-bahan yang digunakan untuk kegiatan hidroponik yang berkembang sebelumnya. Sebagai nutrisi alternatif yang digunakan adalah pupuk anorganik lengkap yaitu Growmore dan AB-Mix. Beberapa macam media kultur jaringan yang umum digunakan misal VW, MS, di dalamnya berisi bahan-bahan kimia yang hampir sama, hanya berbeda dalam konsentrasi untuk setiap



persenyawaannya. Umumnya mengandung mineral–mineral yang terdiri dari unsur–unsur makro dan mikro, sumber karbon vitamin, asam amino, zat pengatur tubuh dan bahan organik lain yang diperlukan (Gunawan, 1987).

Komposisi dasar media yang dapat digunakan dalam kultur anggrek ada bermacam–macam diantaranya VW. Media VW merupakan media yang pertama digunakan untuk penanaman anggrek secara in vitro dan merupakan media standar tanpa penambahan unsur vitamin dan ZPT sintetis. Komposisi media VW terdiri dari trikalsium fosfat, potassium nitrat, potassium fosfat, ammonium fosfat, ferric tartrat, mangan sulfat, magnesium sulfat, air kelapa, gula dan agar (Gunawan, 2007).

Growmore dengan kandungan NPK 32-10-10 merupakan salah satu pupuk anorganik lengkap yang dapat dijadikan alternatif nutrisi kultur jaringan anggrek. Unsur hara makro dan mikro yang terdapat di dalam Growmore 100 g terdiri dari Total Nitrogen (N) 32%, Available Phosphoric Acid ( $P_2O_5$ ) 10%, Soluble Potash ( $K_2O$ ) 10%, Calcium (Ca) 0,05%, Magnesium (Mg) 0,10%, Sulfur (S) 0,20%, Boron (B) 0,02%, Copper (Cu) 0,05%, Iron (Fe) 0,10%, Manganase (Mn) 0,05%, Molybdenum (Mo) 0,0005%, Zinc (Zn) 0,05% (Anonim, 2009).

AB-Mix merupakan salah satu nutrisi hidroponik anorganik lengkap yang kandungan nutrisi di dalamnya dapat memenuhi kebutuhan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Nutrisi hidroponik AB-Mix mengandung unsur hara makro dan mikro, nutrisi ini terdiri dari  $NO_3^-$ ,  $H_2SO_4^-$ ,  $SO_4^-$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^-$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^+$ , Fe, Mn, Zn, B, Cu dan Mo. Nutrisi ini terdiri dari A dan B. Dalam nutrisi A terkandung  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{++}$  dan Fe. Dalam nutrisi B terdiri dari  $H_2PO_4^-$ ,  $SO_4^-$ ,  $K^-$ , Mn, Zn, B, Cu dan Mo. Kedua jenis nutrisi tidak boleh dicampur dalam keadaan pekat. Di dalam nutrisi A terdapat unsur Ca sedangkan dalam nutrisi B terdapat anion sulfat dan fosfat. Bila Ca dicampur dengan sulfat maka akan terbentuk  $CuSO_4$  atau gips yang merupakan endapan karena daya larutnya rendah sehingga tidak bisa diserap akar tanaman (Suhardiyanto, 2002).

#### **D. Manfaat Buah Pisang**

Bahan organik yang sekaligus berperan sebagai hormon pertumbuhan yang biasa ditambahkan pada media dasar untuk kultur anggrek adalah air kelapa dan ekstrak buah pisang, selain karbohidrat ekstrak buah pisang mengandung ZPT yang dapat memstimulir pertumbuhan tanaman (Widiastoety, 2008). Ekstrak buah pisang selain berfungsi sebagai koenzim untuk beberapa reaksi dalam metabolisme dan juga berperan dalam metabolisme energi yang berasal dari karbohidrat. Selain mengandung vitamin, mineral dan karbohidrat juga mengandung hormon alami yaitu auksin dan sitokinin. Pemberian ekstrak buah pisang ambon pada subkultur *plantlet* anggrek *Dendrobium* dapat memacu pertumbuhan (Widiastoety dan Bahar, 1995). Buah pisang juga mengandung hormon alami auksin dan giberelin yang dapat merangsang atau memstimulir pertumbuhan tanaman (Widiastoety *et al.* 2004; Lampiran 27).

Pisang raja merupakan salah satu jenis buah pisang yang banyak mengandung zat gizi yang dapat digunakan sebagai tambahan suplemen alami (organik) untuk pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Nilai nutrisi yang terdapat dalam 100 gr pisang porsi makan adalah : Kalori 116 kalori, protein 0,79 g, lemak 0,18 g, karbohidrat 31,15 g, serat 2,3 g, kalsium 2 mg, fosfor 28 mg, besi 0,58 mg, vitamin A 91 RE, vitamin B-6 0,24 mg, vitamin C, asam ascorbic, 10,9 mg, thiamin 0,046 mg, niacin 0,756 mg, dan air 67,3 g. Asam amino: tryptophan 0,009 g, threonine 0,021 g, lysine 0,037 g, glycine 0,027 g, proline 0,03 g (Anonim, 2008).

Kelebihan pisang raja bulu antara lain ukuran buah sedang dan getas, kulit warna kuning dengan bintik coklat, rasa buah sangat manis berwangi, daging kuning kemerahan tekstur lunak, panjang buah 12–18 cm dengan berat 100–120 g (Widiastoety dan Bahar 1995).

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian



Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2009 sampai Mei 2009 bertempat di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

## **B. Bahan dan Alat Penelitian**

### **1. Bahan penelitian**

Bahan tanam yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi plantlet anggrek silangan *Dendrobium Imelda romualdez* / *Alice noda* >< *Dendrobium Tomie* / *Waipahu pink*, berumur kurang lebih 4 bulan setelah semai dengan pertumbuhan calon daun tinggi 1–2 cm, belum membuka sempurna dan belum ada akar. Bahan kimia yang dipergunakan meliputi media vacin and Went (VW). Nutrisi pupuk lengkap anorganik (Growmore), nutrisi hidroponik formula AB Mix, alkohol 96%, spiritus, arang aktif, larutan deterjen, NaOH 1N, HCl 1 N. Bahan organik yang digunakan meliputi air kelapa hijau muda, pisang raja bulu, agar-agar powder, gula pasir dan akuades.

### **2. Alat penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kultur, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), refrigerator, autoklaf, petridish, erlenmeyer, pH meter, timbangan digital, pipet ukur, gelas ukur, magnetic stirrer, hotplate, pisau scalpel, pinset, lampu Bunsen, aluminium foil, kertas label, plastik tahan panas, EC meter dan rak kultur.

## **C. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan yaitu macam nutrisi (VW, Growmore, Formula AB-Mix) dan konsentrasi ekstrak pisang (0, 50, 100, dan 150 g/l). Dengan demikian, diperoleh 12 kombinasi perlakuan yaitu :

1. N1P0 = Nutrisi VW + pisang 0 g/l
2. N1P1 = Nutrisi VW + pisang 50 g/l
3. N1P2 = Nutrisi VW + pisang 100 g/l

4. N1P3 = Nutrisi VW + pisang 150 g/l
5. N2P0 = Nutrisi Growmore + pisang 0 g/l
6. N2P1 = Nutrisi Growmore + pisang 50 g/l
7. N2P2 = Nutrisi Growmore + pisang 100 g/l
8. N2P3 = Nutrisi Growmore + pisang 100 g/l
9. N3P0 = Nutrisi AB-Mix + pisang 0 g/l
10. N3P1 = Nutrisi AB-Mix + pisang 50 g/l
11. N3P2 = Nutrisi AB-Mix + pisang 100 g/l
12. N3P3 = Nutrisi AB-Mix + pisang 150 g/l

Setiap kombinasi perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

#### D. Pelaksanaan Penelitian

1. Sterilisasi botol dan alat

Alat-alat yang harus disterilkan antara lain : alat gelas yaitu botol kultur, petridish dan alat diseksi/alat tanam pinset, pisau scalpel disterilkan dengan autoklaf, terlebih dahulu alat-alat tersebut dicuci dengan larutan deterjen dan dikeringkan. Kemudian alat tersebut dibungkus dengan kertas payung (sampul warna coklat) atau kertas koran, seterusnya dimasukkan ke dalam autoklaf. Autoklaf dihidupkan dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 kg/cm<sup>3</sup> selama 30 menit.

2. Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan dilakukan dengan cara menimbang bahan-bahan kimia (sesuai komposisi media VW). Kemudian bahan tersebut dilarutkan dengan akuades steril dan diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer*, baru kemudian dimasukkan ke dalam botol dan disimpan ke dalam refrigerator.

Pembuatan larutan stok nutrisi hidroponik standar Joro formula AB-Mix (10 g). Formula AB-Mix terdapat dua unsur hara nutrien yaitu unsur hara makro dan mikro. Unsur hara makro dilarutkan ke dalam akuades steril 60 ml (larutan baku A) untuk unsur hara mikro sama dilarutkan ke dalam air 60 ml (larutan baku B) larutan diaduk sampai homogen. Kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam botol yang dilapisi atau

dibungkus dengan aluminium foil agar terlindung dari cahaya dan disimpan dalam refrigerator. Larutan baku A dan B dapat digunakan untuk pembuatan media hingga 12 liter.

### 3. Penyiapan media

#### a. Pembuatan modifikasi media VW Untuk 500 ml

Menyiapkan labu takar yang sudah diisi akuades sepertiga bagian dan masukkan larutan stok media VW sesuai kebutuhan. Kemudian menambahkan gula pasir 10 g, air kelapa 50 ml, arang aktif 0,5 g, ekstrak buah pisang (ambil pisang 100 g ditambahkan akuades 200 ml kemudian diblender hingga halus). Menambahkan pada larutan VW sesuai dengan perlakuan dan ditambahkan akuades sampai volume 500 ml, kemudian diaduk sampai homogen di atas hot-plate dengan magnetic-stirrer. Langkah selanjutnya pengukuran pH larutan, pH larutan disesuaikan menjadi 5,3, yaitu dengan penambahan NaOH 1 N untuk menaikkan pH atau HCl 1 N untuk menurunkan pH. Bila pH telah sesuai ditambahkan agar 4 g berfungsi sebagai bahan pematat kemudian larutan dimasak hingga mendekati mendidih dan larutan dituangkan ke dalam botol-botol kultur masing-masing 25 ml per botol, botol ditutup rapat dengan plastik tahan panas, kemudian siap dilakukan sterilisasi. Sterilisasi media botol yang telah diisi media disusun ke dalam autoklaf dan ditutup rapat. Autoklaf dihidupkan dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 kg/cm<sup>3</sup> selama 15-20 menit. Agar arang aktif dan buah pisang tidak mengendap pada saat media membeku, digojog pelan setelah media keluar dari autoklaf. Selanjutnya botol-botol tersebut ditempatkan di rak-rak kultur.

#### b. Pembuatan modifikasi media dengan nutrisi Growmore untuk 500 ml

Penggunaan Growmore untuk pembuatan media 500 ml sebanyak 1 g aduk sampai homogen. Selanjutnya metode dan bahan yang digunakan sesuai dengan metode dan bahan yang digunakan untuk pembuatan modifikasi media VW.

- c. Pembuatan modifikasi media dengan nutrisi formula AB-Mix untuk 500 ml

Menyiapkan labu takar yang telah diisi akuades 400 ml di tambahkan larutan baku A 2,5 ml, larutan baku B 2,5 ml diaduk sampai homogen. Kemudian mengukur larutan hingga EC 2 mS/cm dengan alat EC meter. Untuk menaikkan EC ditambahkan larutan baku A dan B secara proporsional, atau untuk menurunkan EC dengan menambahkan akuades. Bila EC telah sesuai, larutan dapat digunakan sesuai kebutuhan. Langkah selanjutnya metode dan bahan yang digunakan sesuai untuk pembuatan modifikasi media VW.

4. Penanaman *plantlet*

Penanaman *plantlet* dilakukan di dalam LAF di ruang aseptik (terkondisi). Buka tutup botol di bagian mulut botol dipanaskan, selama penanaman mulut botol didekatkan dengan api Bunsen untuk mencegah kontaminasi. Selanjutnya *plantlet* diambil dengan pinset steril dan ditanam di atas media, dan mulut botol kembali dipanasi, kemudian botol kultur ditutup kembali dengan plastik tahan panas.

5. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan di dalam ruang inkubasi botol kultur disusun pada rak-rak kultur sesuai dengan perlakuan dengan suhu ruang berkisar 25-27°C dengan tambahan pencahayaan lampu TL 40 watt yang diletakkan pada ketinggian 60 cm di atas botol kultur. Botol-botol kultur tersebut disemprot spirtus dengan interval waktu 2-3 hari sekali, untuk mencegah kontaminasi.

## **E. Peubah yang Diamati**

1. Tinggi *plantlet*

Tinggi *plantlet* diamati pada akhir penelitian yaitu 14 minggu setelah tanam (MST). Pengukuran tinggi *plantlet* ditentukan dari pangkal batang sampai ujung daun tertinggi.

2. Jumlah daun

Jumlah daun diamati pada akhir penelitian 14 MST dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun baik yang muncul pada setiap *plantlet* dan tunas.

3. Saat muncul akar pertama

Pengamatan saat muncul akar pertama dilakukan setiap 2 hari sekali penentuan dilakukan dengan cara menghitung hari setelah tanam (HST) sampai muncul akar pertama.

4. Jumlah akar

Pengamatan jumlah akar diamati pada akhir penelitian 14 MST, dengan cara menghitung jumlah akar baik yang muncul pada setiap *plantlet* dan tunas.

5. Panjang akar

Pengamatan panjang akar diamati pada akhir penelitian 14 MST, dilakukan dengan cara mengukur panjang akar dari pangkal akar sampai ujung akar.

6. Saat muncul tunas

Diamati dan dicatat saat munculnya tunas (dinyatakan dalam HST), ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada pangkal *plantlet*. Dikatakan tunas jika panjangnya sudah mencapai 2 mm.

7. Jumlah tunas

Jumlah tunas dihitung pada saat akhir pengamatan penelitian 14 MST dengan cara menghitung jumlah tunas yang terbentuk.

8. Saat muncul kalus

Diamati dan dicatat saat muncul kalus (dinyatakann dalam HST), ditandai dengan munculnya jaringan berwarna kehijauan pada pangkal plantlet.

#### **F. Analisis data**

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan uji F pada taraf 5% dan apabila signifikan dilanjutkan pada DMRT taraf 5%. Variabel saat muncul kalus dianalisis secara deskriptif.

### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

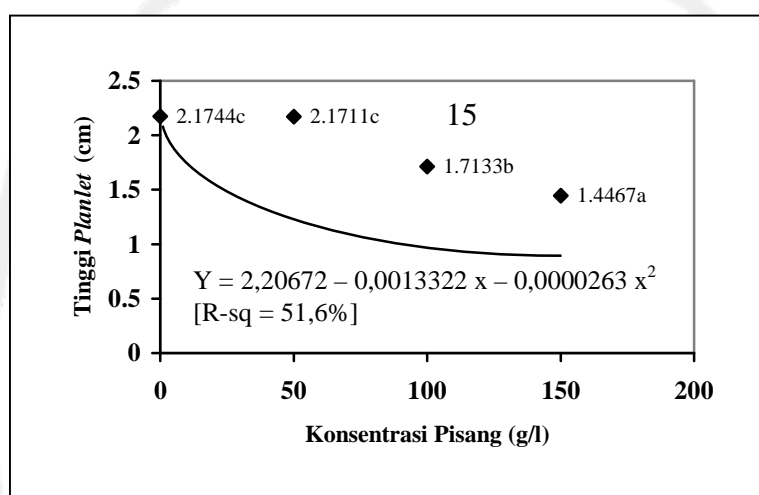
#### **9. Tinggi *Plantlet***

Pertumbuhan adalah proses kehidupan tanaman yang mengakibatkan perubahan ukuran tanaman semakin besar. Tinggi merupakan ukuran yang paling sering diamati baik sebagai indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan yang diterapkan. Penambahan tinggi *plantlet* disebabkan oleh dua proses yaitu pembelahan dan pemanjangan sel. Kedua proses ini terjadi pada jaringan meristem, yaitu pada titik tumbuh batang (Heddy, 1991).

Hasil analisis ragam (Lampiran 9) menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi pisang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap variabel tinggi *plantlet*, sedangkan komposisi nutrisi dan interaksi keduanya memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap tinggi *plantlet*. Penambahan pisang dapat memperkaya media kultur dengan zat-zat organik dan zat pengatur tumbuh yang terkandung dalam pisang, serta dapat menambah gula sebagai sumber energi, sehingga dapat menunjang pertumbuhan tanaman yang dikulturkan. Zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor terpenting dalam keberhasilan pertumbuhan tanaman yang dikulturkan (Koestiati, 1995). Buah pisang mengandung kadar gula yang cukup tinggi, dengan penambahan bubur buah pisang dalam media kultur menyebabkan kadar gula dalam media bertambah (Widiastoety *et al.*, 2004). Penambahan sumber karbohidrat yang berasal dari buah pisang pada media



kultur, sangat penting sebagai bahan baku penghasil energi dalam proses respirasi dan bahan pembentuk sel-sel baru (Widiastoety dan Bahar, 1995).



Keterangan : - Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%  
- x : Konsentrasi pisang  
- Y : Tinggi *plantlet*

Gambar 1. Pengaruh konsentrasi pisang terhadap tinggi *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*

Setelah dilakukan uji regresi diperoleh persamaan  $Y = 2,20672 - 0,0013322 x - 0,0000263 x^2$ , terdapat kecenderungan bahwa peningkatan konsentrasi pisang hingga 150 g/l menyebabkan pertumbuhan *plantlet Dendrobium* terhambat (Gambar 1). Pisang mengandung auksin dan giberelin yang berperan dalam pembesaran dan pemanjangan sel, sehingga sangat mungkin penggunaannya dalam jumlah tertentu dapat membantu meningkatkan tinggi tanaman. Auksin dalam budidaya jaringan berperan dalam mempengaruhi perkembangan dan pembesaran sel, sehingga tekanan dinding sel terhadap protoplasma berkurang, hal ini mengakibatkan protoplast

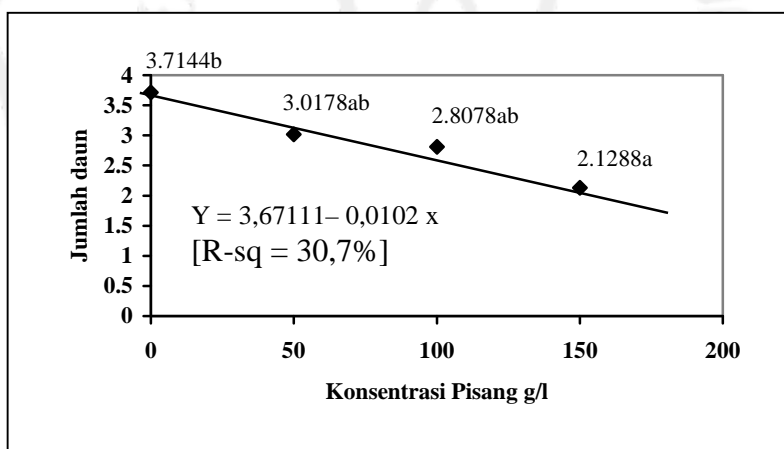
dapat mengabsorpsi air di sekitar sel, sehingga sel-sel menjadi panjang, terutama sel-sel di bagian meristem (Hidayat, 2007). Krisnamooty (1981) menyatakan bahwa penggunaan giberelin dapat meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman. Namun, berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa peningkatan konsentrasi pisang justru berpotensi menghambat pertumbuhan *plantlet*. Hal ini disebabkan penggunaan zat tumbuh yang berlebihan justru menghambat pertumbuhan tanaman itu sendiri. Sebagaimana diungkapkan Gardner *et al.* (1991), pemberian auksin dengan konsentrasi tinggi mempunyai efek menghambat pertumbuhan jaringan, yang disebabkan terdapat persaingan untuk mendapatkan tempat peletakan pada tempat kedudukan penerima, yaitu penambahan konsentrasi meningkatkan kemungkinan terdapatnya molekul yang sebagian melekat menempati tempat kedudukan penerima, yang menyebabkan kurang efektifnya gabungan tersebut. Diperjelas oleh George and Sherrington (1984), bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur in-vitro pada batas-batas tertentu mampu merangsang pertumbuhan, namun dapat bersifat sebagai penghambat apabila digunakan melebihi konsentrasi optimum. Penghambatan pertumbuhan tinggi *plantlet* juga dapat disebabkan akibat terlalu pekatnya kondisi diluar sel, sehingga menyebabkan cairan sel keluar secara osmosis, akibatnya terjadi plasmolisis. Dengan demikian pertumbuhan tanaman menjadi terhambat, sebagaimana diungkapkan Wijayani dan Widodo (2005), larutan yang pekat tak dapat diserap oleh akar secara maksimum disebabkan tekanan osmose sel menjadi lebih kecil dibandingkan tekanan osmose di luar sel sehingga kemungkinan justru akan terjadi aliran balik cairan sel-sel tanaman. Hasil uji DMRT 5% (Lampiran 16) terlihat bahwa penambahan pisang 0 dan 50 g/l tidak berbeda nyata satu sama lain dalam menyebabkan penurunan tinggi tanaman, tetapi berbeda nyata terhadap penambahan pisang 100 dan 150 g/l. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa, penurunan tinggi tanaman sudah tampak jika dalam media kultur ditambahkan pisang sebesar 50 g/l dan akan semakin turun jika konsentrasi pisang yang ditambahkan semakin besar.

Komposisi nutrisi dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan respon yang tidak berbeda nyata terhadap tinggi *plantlet* (Lampiran 9). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa, peningkatan maupun penurunan tinggi *plantlet* lebih dipengaruhi oleh penambahan konsentrasi pisang.

## 10. Jumlah Daun

Jumlah daun merupakan salah satu indikator pertumbuhan tanaman dan dapat digunakan sebagai data penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi (Sitompul dan Guritno, 1995). Penghitungan jumlah daun dilakukan pada akhir pengamatan dengan menghitung tiap helai daun pada tiap *plantlet* dan tunas.

Hasil analisis ragam (Lampiran 10) menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi pisang menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah daun, sedangkan komposisi nutrisi dan interaksi antara keduanya menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap jumlah daun.



Keterangan : - Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%  
 - x : Konsentrasi pisang  
 - Y : Jumlah daun

Gambar 2. Pengaruh konsentrasi pisang terhadap jumlah daun *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*

Hasil uji regresi diperoleh persamaan  $Y = 3,67111 - 0,0102 x$ , terdapat kecenderungan bahwa penambahan pisang justru menyebabkan penurunan jumlah daun dengan pola linear. Penurunan jumlah daun ini lebih disebabkan

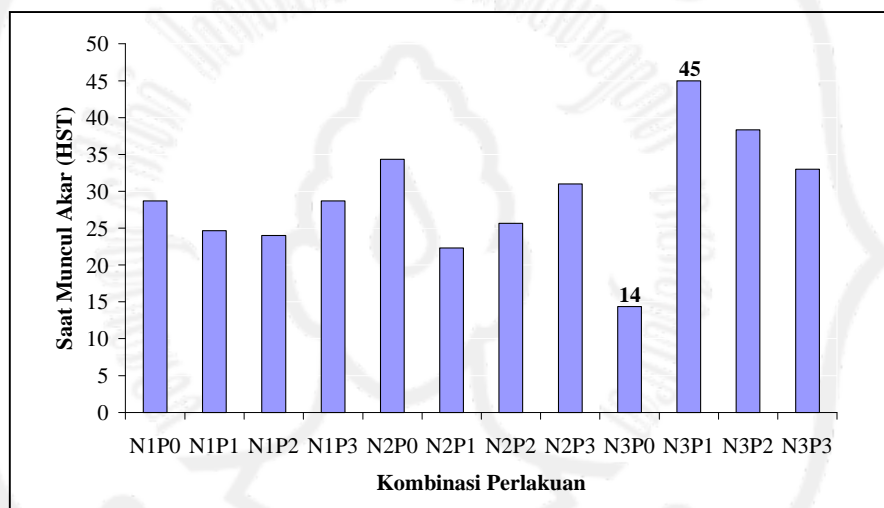
penurunan jumlah tunas, sehingga semakin sedikit tunas yang terbentuk, semakin sedikit pula terbentuknya daun pada *Dendrobium*. Berdasarkan gambar 2 dapat diketahui bahwa penurunan jumlah daun sudah terjadi pada konsentrasi 50 g/l dan terus menurun sampai penambahan 150 g/l pisang. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pisang yang ditambahkan menyebabkan penurunan jumlah daun pada *Dendrobium*. Menurut hasil penelitian Pramesyanti (1999) pemberian pisang ambon lumut 50 g/l media memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan dan jumlah luas daun. Hal tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian ini diduga karena penggunaan jenis pisang yang berbeda, yaitu menggunakan pisang raja. Diduga, pisang raja memiliki kandungan gula lebih tinggi dari pisang ambon, sehingga peningkatan konsentrasi gula dalam media justru menghambat pertumbuhan jumlah daun. Penghambatan tersebut disebabkan oleh pengaruh tekanan osmotik akibat penggunaan sumber karbohidrat dengan konsentrasi tinggi. Secara visual, tanaman yang mengalami tekanan karena pengaruh osmotik berupa penghambatan pertumbuhan ukuran dan jumlah daun. Widiastoety dan Purbadi (2003) menjelaskan bahwa tekanan yang disebabkan oleh perubahan osmotik akan merangsang akumulasi asam absisat (ABA) di dalam jaringan tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman dalam media. Selain akumulasi ABA, terjadi pula penghambatan sintesis sitokinin yang efeknya memperkuat penghambatan pertumbuhan yang diakibatkan oleh pengaruh ABA.

Komposisi nutrisi dan interaksi antara kedua perlakuan menunjukkan respon tidak berbeda nyata (Lampiran 10). Hal diduga karena kondisi fisiologis masing-masing eksplan akan memberikan respon yang berbeda terhadap perlakuan yang diberikan, mengingat eksplan berasal dari pembiakan secara generatif yaitu melalui biji, sehingga terdapat variasi genetik yang mengakibatkan perbedaan kondisi fisiologis masing-masing individu.

## 11. Saat Muncul Akar

Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Gardner *et al.*, 1991). Saat munculnya akar menjadi faktor yang penting dalam pertumbuhan tanaman karena tanaman akan lebih mudah menyerap unsur-unsur yang terdapat dalam media kultur.

Hasil analisis ragam (Lampiran 11) menunjukkan bahwa perlakuan komposisi nutrisi dan penambahan ekstrak pisang memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap saat muncul akar *plantlet Dendrobium*. Namun, interaksi keduanya memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap saat muncul akar *plantlet Dendrobium*.



Keterangan :

N1 : Nutrisi VW      N2 : Nutrisi Growmore      N3 : Nutrisi AB-Mix

P0 : Pisang 0 g/l      P1 : Pisang 50 g/l      P2 : Pisang 100 g/l      P3 : Pisang 150 g/l

Gambar 3. Pengaruh komposisi nutrisi dan konsentrasi pisang pada media kultur terhadap saat muncul akar *plantlet Dendrobium*

Gambar 3 menunjukkan bahwa semua komposisi nutrisi yang digunakan serta dengan atau tanpa penambahan pisang pada media kultur semua *plantlet* dapat memunculkan akar. Pada penelitian ini kemunculan akar tercepat diperoleh pada perlakuan nutrisi AB-Mix dan tanpa penambahan pisang yaitu 14 HST (Gambar 3). Penambahan pisang tidak mampu mempercepat kemunculan akar, dan jika dikombinasikan dengan komposisi

nutrisi, perlakuan N3P1 (Nutrisi AB-Mix dan penambahan pisang 50 g/l) menunjukkan rata-rata waktu pembentukan akar paling lambat, yaitu 45 HST (HST). Keadaan ini mengindikasikan bahwa kemunculan akar tidak bergantung pada komposisi nutrisi yang digunakan untuk media kultur. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan komposisi kandungan unsur-unsur pada masing-masing nutrisi baik jenis maupun jumlahnya, sehingga mengakibatkan perbedaan respon terhadap saat kemunculan akar pada *plantlet Dendrobium*. Hal ini sesuai dengan Hukum Minimum Leibig yaitu laju pertumbuhan tanaman diatur oleh adanya faktor yang berada dalam jumlah minimum dan besar kecilnya laju pertumbuhan ditentukan oleh peningkatan dan penurunan faktor yang berada dalam jumlah minimum tersebut (Agustina, 1990). Menurut Gardner *et al.* (1991) akar membutuhkan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan dan perkembangannya, seperti bagian-bagian tanaman yang lain. Oleh karena itu, apabila unsur-unsur dalam media tercukupi akan dapat merangsang dan mempercepat kemunculan akar.

Penambahan pisang juga tidak mampu mempercepat kemunculan akar. Selain sebagai sumber auksin, pisang merupakan sumber gula dan vitamin B1 yang dapat membantu merangsang pembentukan akar. Buah pisang mengandung kadar gula yang cukup tinggi, dengan penambahan bubur buah pisang dalam media kultur menyebabkan kadar gula dalam media bertambah (Widiastoety *et al.*, 2004). Gula merupakan salah satu bahan baku untuk menghasilkan energi dalam proses respirasi dan bahan baku pembentuk sel-sel baru tanaman. Hasil penelitian Widiastoety dan Bahar (1995) menunjukkan bahwa pemberian sumber karbon: sukrosa, glukosa dan fruktosa secara terpisah cukup efektif dalam mempercepat pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* anggrek *Dendrobium*. Verheij dan Coronel (1992) menyatakan bahwa secara umum pada setiap 100 g buah pisang dari berbagai macam kultivar mengandung vitamin B1 (tiamin). Vitamin B1 dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan akar anggrek (Arditti, 1992).

Namun, pada penelitian ini saat muncul akar tercepat justru terjadi pada kombinasi perlakuan N3P0 dan saat muncul akar paling lambat terjadi

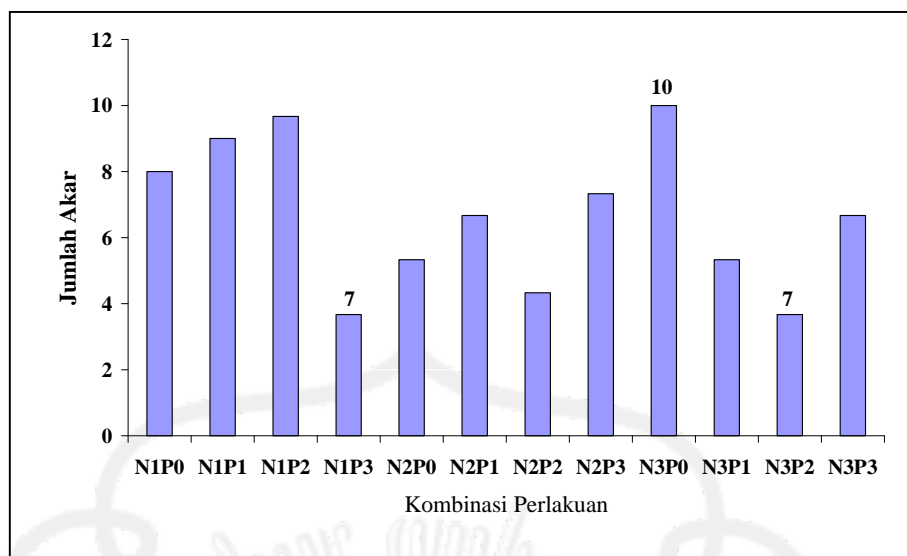


pada kombinasi perlakuan N3P1. Hal ini diduga pisang yang digunakan pada penelitian ini kandungan auksin dan vitamin B1-nya rendah, sehingga belum mampu mempercepat saat muncul akar pada eksplan *Dendrobium*. Akan tetapi, interaksi antara komposisi nutrisi dan penambahan pisang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap saat muncul akar pada *plantlet Dendrobim*. Hal ini dimungkinkan kandungan unsur-unsur yang terdapat pada pisang (Lampiran 27) mampu melengkapi maupun menambah kuantitas unsur-unsur pada masing-masing nutrisi, sehingga interaksi antara keduanya dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap saat muncul akar (Lampiran 11). Pengaruh interaksi antara kedua perlakuan yang terbaik terdapat pada kombinasi perlakuan N3P0 (nutrisi AB-Mix tanpa penambahan pisang).

## 12. Jumlah Akar

Jumlah unsur hara yang diserap tanaman tergantung pada kesempatan untuk mendapatkan nutrisi dalam media. Hal ini sering didekati melalui luas permukaan akar dan jumlah unsur hara yang tersedia dalam media, karena kebutuhan tanaman akan unsur hara yang tersedia dalam media perakaran akan saling mengisi (Sitompul dan Bambang, 1995). Variabel pengamatan jumlah akar merupakan indikasi pertumbuhan dan pelebaran akar dalam usahanya memperlus permukaan bidang serap.

Berdasarkan hasil penelitian, semua kombinasi perlakuan mampu memunculkan akar. Hasil analisis ragam (Lampiran 12) menunjukkan bahwa komposisi nutrisi dan penambahan pisang serta interaksi antara keduanya memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap jumlah akar *Dendrobium*.



Keterangan :

N1 : Nutrisi VW      N2 : Nutrisi Growmore      N3 : Nutrisi AB-Mix  
 P0 : Pisang 0 g/l      P1 : Pisang 50 g/l      P2 : Pisang 100 g/l      P3 : Pisang 150 g/l

Gambar 4. Pengaruh komposisi nutrisi dan konsentrasi pisang pada media kultur terhadap jumlah akar *plantlet Dendrobium*

Gambar 4 menunjukkan bahwa jumlah akar terbanyak terdapat pada kombinasi perlakuan N3P0 (nutrisi AB-Mix tanpa penambahan pisang). Hal ini diduga bahwa sebelumnya eksplan sudah ditanam pada media buatan dan dimungkinkan kandungan ZPT pada eksplan sudah tinggi, sehingga menghasilkan jumlah akar terbanyak. Jumlah akar terkecil terdapat pada kombinasi perlakuan (N1P3). Hal ini dapat diinterpretasikan bahwa jumlah akar tidak bergantung pada komposisi nutrisi dan penambahan pisang. Perbedaan komposisi masing-masing jenis nutrisi baik dari segi kandungan maupun jumlah unsur-unsurnya diduga mengakibatkan respon yang berbeda terhadap jumlah akar masing-masing perlakuan. Akar tanaman tumbuh dan berkembang mengikuti respon ketersediaan unsur hara dan status zat pengatur tumbuh yang ditambahkan, khususnya auksin. Akar tanaman akan berkembang dengan pesat apabila kebutuhan unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman terbatas (Anonim, 2007). Ditambahkan oleh Untari dan Puspaningtyas (2006), pertumbuhan perakaran juga didukung dengan suplai unsur bahan organik yang dibutuhkan untuk pertambahan jumlah akar eksplan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut tampak bahwa penambahan

auksin dari pisang diperlukan jaringan tanaman untuk membentuk akar. Meskipun demikian penambahan auksin tidak selamanya meningkatkan jumlah akar sebab penambahan auksin jenis tertentu dengan konsentrasi tertentu dapat pula menurunkan jumlah akar (Fuchs, 1986).

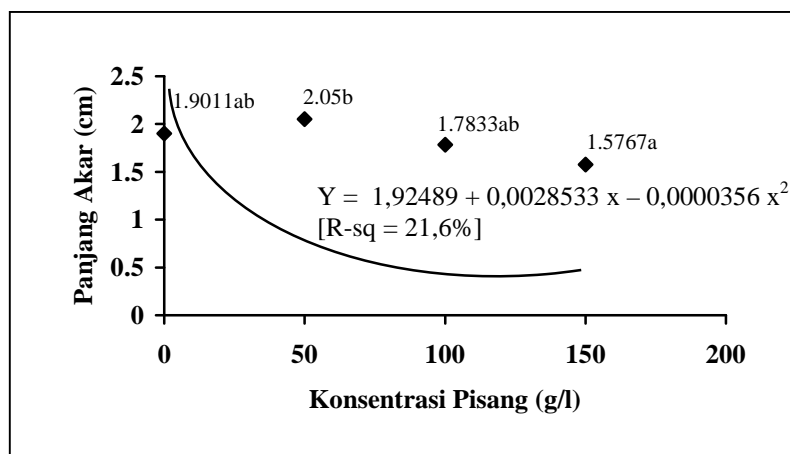
Dalam penelitian ini, kombinasi perlakuan yang memberikan respon tidak berbeda nyata terhadap jumlah akar diduga disebabkan komposisi nutrisi dan pisang yang ditambahkan ke dalam media kultur belum mencukupi kebutuhan nutrisi eksplan anggrek, sehingga perkembangan akar sedikit terhambat. Pertumbuhan akar juga tergantung pada peran unsur fosfor, kalsium, mangan, besi, dan boron. Sebagian besar fosfor di dalam tanaman adalah sebagai zat pembangun dan terikat dalam senyawa-senyawa organik dan hanya sebagian kecil terdapat dalam bentuk anorganik sebagai ion-ion fosfat (Anonim, 2007). Unsur fosfor yang diberikan dalam jumlah yang tinggi berpengaruh terhadap penambahan jumlah akar melebihi tunas (Salisbury dan Ross, 1995). Diduga jumlah unsur fosfor pada masing-masing nutrisi berbeda, sehingga memberikan respon yang berbeda terhadap jumlah akar. Hal ini berkaitan dengan pendapat Watherell (1982) bahwa konsentrasi optimum dari masing-masing unsur nutrisi untuk pertumbuhan berbeda-beda tergantung pada jenis tanaman maupun tujuan kultur yang diinginkan, selain itu juga berkaitan dengan umur dan ukuran *plantlet*. Ukuran *plantlet* yang digunakan pada penelitian ini adalah 1,0–2,0 cm sehingga diharapkan eksplan telah siap diinduksi di media perakaran. Ukuran eksplan 1,5-2,0 cm merupakan ukuran yang telah siap diinduksi pada media perakaran (Suryandari, 1998).

### 13. Panjang Akar

Panjang akar merupakan hasil perpanjangan sel-sel di belakang meristem ujung (Dewi, 2007). Pengukuran panjang akar dilakukan dengan mengukur akar terpanjang pada *plantlet*. Selain untuk menyerap unsur hara, akar berfungsi sebagai penguat berdirinya tanaman. Semakin panjang akar diharapkan bidang penyerapan unsur hara semakin luas, sehingga distribusi nutrisi dari media tanam ke tanaman dapat berjalan dengan lancar. Hal ini juga

dapat membantu dalam proses aklimatisasi, yaitu menunjukkan *plantlet* dalam keadaan sehat sehingga memungkinkan tingginya persentase keberhasilan aklimatisasi.

Berdasarkan hasil analisis ragam (Lampiran 13) diketahui bahwa komposisi nutrisi tidak berpengaruh terhadap variabel panjang akar, tetapi penambahan pisang berpengaruh nyata terhadap variabel panjang akar, sedangkan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap panjang akar. Menurut Gandawidjaya (1978) penambahan bubur buah pisang yang pada umumnya mengandung auksin dapat memacu pertumbuhan akar. Pemberian auksin pada *plantlet* angrek *Dendrobium* dapat merangsang pertumbuhan akar (Widiastoety *et al.*, 2004). George and Sherrington (1984) menyatakan bahwa auksin berpengaruh terhadap pertumbuhan, merangsang dan mempercepat pertumbuhan akar serta meningkatkan kualitas dan kuantitas akar. Hasil penelitian Arditti dan Ernsts (1992) menunjukkan bahwa buah pisang mengandung hormon tumbuh seperti auksin dan giberelin. Menurut Heddy (1991), bahwa auxin mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel. Auxin (IAA) dalam budidaya jaringan berperan dalam mempengaruhi perkembangan dan pembesaran sel, sehingga tekanan dinding sel terhadap protoplasma berkurang, hal ini mengakibatkan protoplast dapat mengabsorpsi air di sekitar sel, sehingga sel menjadi panjang terutama sel-sel di bagian meristem (Hidayat, 2007). Penambahan pisang sebagai sumber auksin dapat meningkatkan pembelahan sel-sel akar, sehingga dapat mendorong pemanjangan akar.



- Keterangan : - Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%
- x : Konsentrasi pisang
  - Y : Panjang akar

Gambar 5. Pengaruh konsentrasi pisang terhadap panjang akar *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*

Berdasarkan uji regresi diperoleh persamaan  $Y = 1,92489 + 0,0028533x - 0,0000356x^2$ , terdapat kecenderungan bahwa dengan peningkatan konsentrasi pisang sampai 150 g/l akan menurunkan panjang akar. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Rostiana dan Seswita (2007) pada kultur *Piretrum* (*Chrysanthemum cinerariifolium*) bahwa penghambatan panjang akar sejalan dengan konsentrasi auksin yang semakin meningkat. Hal ini didukung oleh Maynerd *et al.* (1991) dalam Gati *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa kelebihan auksin dapat menghambat elongasi akar. Menurut Vuylseteker *et al.* (1998), pemberian auksin dapat membentuk akar lebih banyak, tetapi akan menghambat proses pemanjangan akar lateral. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Ross (1995) bahwa konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi untuk suatu jenis tanaman tertentu akan mendorong sintesis etilen yang kemudian menghambat pemanjangan akar.

Selain akibat peningkatan auksin yang menyebabkan sintesis etilen yang dapat menghambat pemanjangan akar, penghambatan pemanjangan akar ini juga disebabkan oleh kelebihan karbohidrat atau zat gula yang diakibatkan oleh penambahan pisang. Peningkatan konsentrasi gula dalam media kultur akan mengakibatkan kondisi di luar sel tanaman menjadi hipertonis, sehingga kondisi ini menyebabkan tekanan osmotik sel tanaman meningkat, akibatnya terjadi plasmolisis yang menyebabkan kematian sel-sel somatik pada akar. Hal ini dikuatkan oleh pendapat Gandawidjaya (1998), konsentrasi sukrosa yang tinggi dalam media kultur dapat menghambat pertumbuhan sel-sel somatik. Hal ini diduga akibat tekanan osmotik yang terlalu tinggi, sehingga menyebabkan kematian sel-sel akibat terjadinya lisis atau pecahnya dinding

sel. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi pisang, semakin tinggi pula konsentrasi gula dalam media sehingga semakin hipertonis kondisi lingkungan sel, akibatnya terjadi penghambatan pemanjangan akar.

Berdasarkan uji DMRT 5% (Lampiran 18) dapat diketahui bahwa penambahan pisang pada taraf konsentrasi 0, 50, 100, dan 150 g /l berbeda nyata satu sama lain dalam meningkatkan panjang akar. Penambahan pisang 50 g/l paling optimal untuk meningkatkan panjang akar eksplan *Dendrobium*.

Komposisi nutrisi diketahui tidak memberikan respon yang berbeda nyata terhadap panjang akar eksplan *Dendrobium* (Lampiran 13). Hal ini berarti bahwa komposisi nutrisi yang digunakan, baik VW, Growmore maupun AB-Mix, tidak mampu meningkatkan pemanjangan akar karena pemanjangan akar dipengaruhi oleh konsentrasi auksin dan karbohidrat yang terkandung dalam pisang. Analisis ragam juga menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara kedua perlakuan. Diketahui bahwa semua nutrisi telah memenuhi kebutuhan unsur makro dan mikro bagi pertumbuhan awal tanaman, namun berbeda dalam konsentrasinya. Oleh karena itu, diduga bahwa penambahan pisang sebagai bahan organik ke dalam media kultur akan melengkapi kekurangan dari unsur-unsur yang terkandung pada masing-masing jenis nutrisi, sehingga dapat menyeimbangkan konsentrasi unsur-unsur masing-masing nutrisi tersebut. Dengan demikian, kebutuhan mineral sebagai sumber hara makro dan mikro dapat terpenuhi dari penambahan pisang, sehingga dapat menunjang keberhasilan kultur. Santosa dan Nursandi (2004) mengemukakan, hampir dapat dipastikan bahwa kesuksesan kegiatan kultur jaringan akan sangat ditentukan dan tergantung oleh pemilihan media yang digunakan.

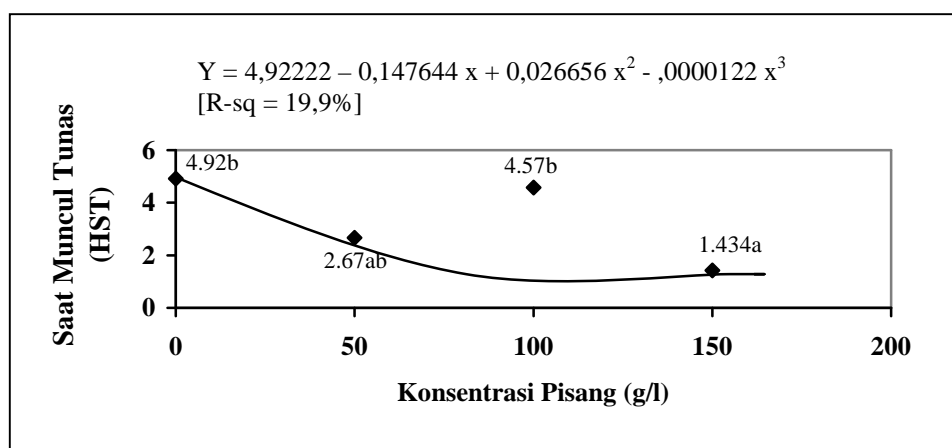
#### **14. Saat Muncul Tunas**

Tunas merupakan ranting muda yang baru tumbuh atau calon tanaman baru yang tumbuh dari bagian tanaman (Rahardja dan Wiryanta, 2003). Pengamatan saat muncul tunas dilakukan untuk mengetahui tingkat keefektifan suatu kegiatan kultur jaringan dalam menghasilkan tunas.



Hasil analisis ragam (Lampiran 14) menunjukkan bahwa komposisi nutrisi tidak berpengaruh nyata terhadap saat muncul tunas, sedangkan konsentrasi pisang berpengaruh nyata terhadap rata-rata saat muncul tunas, serta interaksi antara kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata saat muncul tunas. Tampak bahwa komposisi nutrisi dan penambahan pisang menunjukkan kecepatan saat munculnya tunas yang bervariasi.

Setelah dilakukan uji regresi dan diperoleh persamaan  $Y = 4,92222 - 0,147644 x + 0,026656 x^2 - 0,0000122 x^3$ , terdapat kecenderungan bahwa peningkatan konsentrasi pisang mempercepat saat kemunculan tunas. Saat muncul tunas tercepat justru pada perlakuan penambahan pisang 150 g/l yaitu 1 HST. Pisang mengandung auksin yang berfungsi mempercepat pembelahan sel serta memacu pembelahan sel, sehingga dengan semakin besar penambahan pisang sampai pada konsentrasi 150 g/l dapat mempercepat inisiasi tunas. Menurut Wattimena (2000) konsentrasi auksin optimum yang dibutuhkan untuk merangsang pertumbuhan batang dan tunas lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk merangsang pertumbuhan akar. Namun demikian, terlihat pada tabel bahwa pada konsentrasi pisang 100 g/l kecepatan saat muncul tunas turun, yaitu 4,57 HST. Hal ini diduga disebabkan sifat genetik masing-masing *plantlet* berbeda satu sama lain mengingat *plantlet* yang digunakan berasal dari biji hasil persilangan dari dua varietas anggrek yang berbeda, sehingga setiap individu yang dihasilkan dari proses persilangan mempunyai potensi berbeda dalam hal kecepatan pembentukan tunas. Hal ini dikuatkan oleh pendapat Tisdale dan Nelson (1975), bahwa dari beberapa hasil penelitian menunjukkan gen mempunyai pengaruh pada proses fisiologi.



- Keterangan : - Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%
- x : Konsentrasi pisang
  - Y : Saat muncul tunas

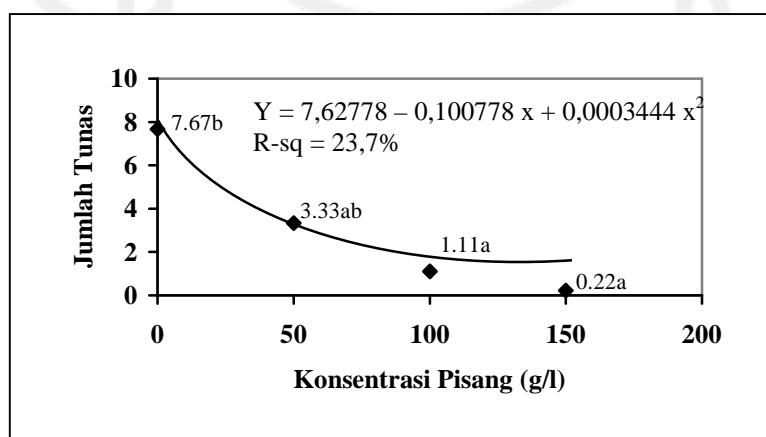
Gambar 6. Pengaruh konsentrasi pisang terhadap saat muncul tunas *plantlet* anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*

Komposisi nutrisi diketahui memberikan respon tidak berbeda nyata terhadap saat muncul tunas pada *plantlet* anggrek (Lampiran 14). Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan kadar unsur hara pada masing-masing jenis nutrisi. Sebagaimana diungkapkan oleh Soepardi (1983), respon tanaman yang optimal akan dicapai bila unsur-unsur hara tersebut dalam keadaan seimbang. Analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara macam nutrisi dan penambahan pisang. Hal ini disebabkan pisang kaya akan mineral yang dapat menyeimbangkan unsur-unsur yang terkandung dalam masing-masing nutrisi sehingga pertumbuhan eksplan menjadi optimum. Menurut Salisbury dan Ross (1992) pada rentang konsentrasi rendah yang disebut daerah kahat, pertumbuhan naik sangat tajam bila unsur diberikan lebih banyak dan konsentrasinya dalam tumbuhan meningkat sehingga pertumbuhan meningkat. Penambahan pisang pada masing-masing nutrisi tampaknya memberikan pengaruh positif terhadap saat muncul tunas. Sebagaimana diungkapkan oleh Widiastoety dan Bahar (1995), pisang yang ditambahkan pada medium kultur jaringan dapat merangsang pembelahan sel dan mendorong diferensiasi sel, sehingga semai dapat tumbuh dan berkembang. Untari dan Puspitaningtyas (2006) menambahkan pisang ambon diketahui mengandung unsur-unsur kalium (K), fosfor (P) dan besi (Fe) sehingga memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan tunas. Dengan demikian, penambahan pisang dapat meningkatkan status hara pada media sehingga dicapai kondisi yang optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan *plantlet*.

## 15. Jumlah Tunas

Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur jaringan. Semakin banyak tunas yang terbentuk, dapat dilakukan multiplikasi kultur untuk mendapatkan tunas-tunas baru dalam jumlah yang semakin banyak juga.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan pisang pada berbagai taraf konsentrasi memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah tunas, akan tetapi komposisi nutrisi maupun interaksi antara keduanya memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap variabel jumlah tunas. Penambahan ekstrak pisang ternyata justru menghambat jumlah tunas *Dendrobium*. Telah diketahui bahwa pisang mengandung auksin, sehingga dengan peningkatan konsentrasi pisang yang ditambahkan pada media berarti meningkatkan konsentrasi auksin. Peningkatan konsentrasi auksin justru menghambat jumlah tunas, diduga karena auksin lebih berperan pada pembentukan akar. Hal ini sesuai dengan penelitian Yunus (2007) pada eksplan bawang merah, bahwa diduga karena fungsi auksin yang cenderung memacu pembentukan dan pertumbuhan akar sehingga efek yang ditimbulkannya dapat menghambat pembentukan tunas. Ditambahkan oleh Wattimena (2000) bahwa proliferasi tunas aksilar hanya memerlukan sitokinin dalam konsentrasi tinggi tanpa auksin atau auksin dalam konsentrasi yang rendah sekali.



Keterangan : - Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%  
- x : Konsentrasi pisang  
- Y : Jumlah tunas

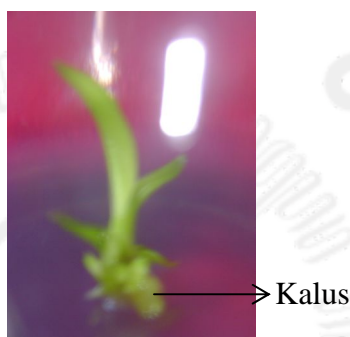
Gambar 7. Pengaruh konsentrasi pisang terhadap jumlah tunas anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*

Setelah dilakukan uji regresi dan didapatkan persamaan  $Y = 7,62778 - 0,100778 x + 0,0003444 x^2$ , terdapat kecenderungan bahwa dengan peningkatan konsentrasi pisang sampai 150 g/l akan menghambat jumlah tunas yang terbentuk. Namun, jika dilakukan uji DMRT 5% (Lampiran 20) terlihat bahwa penambahan pisang 50, 100, dan 150 g/l tidak berbeda nyata satu sama lain tetapi berbeda nyata terhadap penambahan 0 g/l pisang. Dapat dikatakan bahwa penambahan pisang pada konsentrasi 50 g/l sudah dapat menghambat multiplikasi anggrek *Dendrobium* karena peningkatan konsentrasinya memberikan pengaruh tidak berbeda nyata secara DMRT 5% pada variabel jumlah tunas.

Komposisi nutrisi tidak berbeda nyata terhadap variabel jumlah tunas (Lampiran 15). Ini berarti bahwa komposisi nutrisi yang digunakan dalam kultur *Dendrobium* tidak mempengaruhi jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan. Penurunan jumlah tunas hanya dipengaruhi oleh penambahan pisang. Analisis ragam (Lampiran 15) juga menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara komposisi nutrisi dan penambahan ekstrak pisang terhadap variabel jumlah tunas. Hal ini diduga karena perbedaan status hara pada masing-masing nutrisi belum mencukupi untuk multiplikasi tunas. Selain itu, diduga bahwa sebagian eksplan yang digunakan sudah membentuk primordia tunas sehingga setelah penanaman, tunas yang tumbuh lebih banyak. Untuk pembentukan tunas baru, tanaman membutuhkan unsur nitrogen (N), kalium (K), belerang (S), besi (Fe) dan seng (Zn) yang cukup. Unsur N, S, Fe dan tiamin dapat merangsang pembelahan sel, sehingga meningkatkan pertumbuhan tunas samping. Defisiensi unsur N, K, S, Fe dan Zn pada semai menyebabkan penambahan jumlah tunas terhambat dan secara umum menghambat pertumbuhan tanaman (Wattimena, 1988).

## 16. Saat Muncul Kalus

Kalus merupakan suatu kumpulan sel yang tidak terorganisasi dan aktif membelah diri (meristematik) yang sering terjadi karena pelukaan jaringan tanaman atau pengkulturan berbagai jaringan tanaman (Yusnita, 2004). Kalus yang dihasilkan melalui propagasi secara *in vitro* terbentuk karena adanya pelukaan pada jaringan dan respon terhadap hormon (Hartman *et al.*, 1990). Kemunculan kalus ditandai dengan adanya perubahan bentuk pada pangkal eksplan, seperti terjadi pembengkakan pada jaringan yang mengalami kontak dengan media secara langsung.



Gambar 8. Saat muncul kalus *Dendrobium*

Dari hasil penelitian (Lampiran 8) menunjukkan bahwa tidak semua kombinasi perlakuan mampu memunculkan kalus. Auksin umumnya ditambahkan ke dalam nutrisi media untuk menginduksi kalus. Pada penelitian ini, perlakuan N3P1 mampu membentuk kalus. Hal ini dimungkinkan bahwa kandungan auksin eksogen yang terdapat pada pisang dapat digunakan untuk pertumbuhan kalus, sedangkan pada perlakuan N1P0, N2P0 dan N3P0 sebagian ulangan dapat membentuk kalus pada 2 MST. Auksin umumnya ditambahkan ke dalam nutrisi media untuk menginduksi kalus dari eksplan (George dan Sherrington, 1984). Warna kalus yang terbentuk pada *plantlet* anggrek *Dendrobium* adalah hijau dengan tekstur kompak. Semua kalus yang terbentuk mampu melanjutkan tahap pertumbuhan selanjutnya, yaitu membentuk tunas. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu : kompak, intermediate dan friabel (Turhan,

2004). Warna hijau pada kalus merupakan klorofil yang diduga terbentuk akibat pengaruh sitokinin yang ditambahkan pada media, yaitu berasal dari air kelapa sebagaimana diungkapkan Santoso dan Nursandi (2004), sitokinin dapat mendorong pembentukan klorofil.

