

Pertumbuhan Anggrek Dendrobium Hibrida pada Kultur Cair dengan Penambahan BA dan NAA

Growth and Regeneration of Dendrobium Hybrid Orchids in Liquid Culture with The Addition of BA and NAA

Alifatul Aqidah¹, Parawita Dewanti^{2*}, Firdha Narulita Alfian³

^{1,2}Institution/affiliation; address, tel/fax of institution/affiliation (11pt)

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jl. Kalimantan no 37 Jember

²Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jl. Kalimantan no 37 Jember

³Program Studi Magister Bioteknologi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan no 37 Jember

e-mail: *parawita.faperta@unej.ac.id

ABSTRAK

Dendrobium merupakan anggrek yang memiliki nilai ekonomis tinggi karena ketertarikan dari warna dan bentuk bunga. Permintaan yang tinggi dan ketersediaan yang terbatas sehingga metode kultur *in vitro* sangat dibutuhkan untuk memperoleh anggrek dengan jumlah banyak dan pertumbuhannya dalam waktu yang singkat. Media MS cair dengan eksplan *protocorm like bodies* (PLB) dapat digunakan untuk menghasilkan pertumbuhan yang lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi BA dan NAA terbaik terhadap pertumbuhan PLB pada kultur cair serta hasil PLB terbaik yang disubkultur pada media regenerasi. Bahan tanam menggunakan PLB umur 3 bulan yang ditanam pada media MS cair dengan perlakuan kombinasi BA dan NAA masing-masing pada konsentrasi BA (0 mgL⁻¹, 0.1 mgL⁻¹, 0.2 mgL⁻¹), NAA (0.5 mgL⁻¹, 1.0 mgL⁻¹, 1.5 mgL⁻¹). Media regenerasi menggunakan MS padat dengan bahan organik 15% air kelapa, 15% ekstrak kentang, 15% ekstrak pisang, 0.2% arang aktif. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi BA dan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah hidup PLB rata-rata terbaik yaitu 85.52% dan panjang PLB rata-rata terbaik yaitu 1.27 gram pada perlakuan 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA.

Kata kunci: *Protocorm Like Bodies, Banana royal, In Vitro, Anggrek, Dendrobium*

ABSTRACT

Dendrobium is an orchid that has high economic value because of the attractiveness of the color and shape of the flower. High concentrations and limited availability of *in vitro* culture are needed to obtain large numbers of orchids and their growth in a short time. Liquid MS media with *protocorm like bodies* (PLB) explants could be used to produce more optimal growth. This study aims to obtain the best combination of BA and NAA on PLB growth in liquid culture and the best PLB yield subcultures on media regeneration. Planting material using PLB age 3 months grown on liquid MS media with a combination treatment of BA and NAA at concentrations of BA (0 mgL⁻¹, 0.1 mgL⁻¹, 0.2 mgL⁻¹), NAA (0.5 mgL⁻¹, 1.0 mgL⁻¹, 1.5 mgL⁻¹). Regeneration media using solid MS with organic ingredients 15% coconut water, 15% potato extract, 15% banana extract 0.2% activated charcoal. The experiment used a completely randomized design with three replications. The results showed that the combination of BA and NAA had a significant effect on the number of PLB lives with the best average being 85.52% and the length of PLB with the best average being 1.27 grams on treatment 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA.

Keywords: *Protocorm Like Bodies, Banana royal, In Vitro, Orchidaceae, Dendrobium*

PENDAHULUAN

Anggrek (*Orchidaceae*) merupakan salah satu tanaman hias yang memiliki nilai estetika sehingga menjadi ketertarikan oleh banyak orang untuk dibudidayakan. Anggrek banyak tersebar sekitar 6000 spesies tanaman anggrek di dunia (Fandani *et al*, 2018). Terdapat beberapa jenis anggrek yang dibudidayakan secara komersial, diantaranya anggrek jenis *Cattleya*, *Cymbidium*, *Mokara*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, dan *Dendrobium*. Anggrek jenis *Dendrobium* merupakan anggrek yang biasa hidup pada daerah tropis dan relatif mudah dalam membudidayakannya. Anggrek jenis ini merupakan genus terbesar dari anggrek yang memiliki lebih dari 1300 spesies berbeda (Maitra, *et al*, 2020). *Dendrobium* adalah spesies anggrek yang memiliki warna bunga yang beragam dan banyak dijadikan sebagai bunga hias sehingga memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. *Dendrobium* hibrida merupakan hasil persilangan *Dendrobium* spesies yang bertujuan untuk menghasilkan bibit unggul dan meningkatkan keanekaragamannya (Nurana *et al*, 2017). Permintaan bibit anggrek setiap tahunnya terus meningkat dan harganya pun juga berkembang cukup fluktuatif, dapat dilihat dari (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2015) bahwa Indonesia hingga tahun 2014 melakukan impor bibit anggrek dari beberapa negara terbesar Taiwan sebesar 51.52%, lalu Thailand sebesar 30.90%, dan Jepang sebesar 17.58%, sehingga hal ini perlunya keseimbangan antara permintaan peminat dan ketersediaan bibit anggrek.

Perkembangbiakan anggrek *Dendrobium* dirasa sulit untuk dilakukan karena memiliki biji sangat kecil dan tidak memiliki endosperma oleh karenanya kultur *in vitro* menjadi salah satu metode yang dibutuhkan untuk menghasilkan anggrek dalam jumlah banyak dan waktu yang lebih singkat. Kultur *in vitro* memiliki manfaat diantaranya dapat menghasilkan tanaman baru yang sifatnya sama dengan induknya, dapat terhindar dari bakteri, waktu yang dibutuhkan juga lebih singkat (Nongdam and Tikendra, 2014). Beberapa hal yang mendukung keberhasilan kultur *in vitro* yaitu kondisi steril, penggunaan eksplan dan komposisi media dan zat pengatur tumbuh yang tepat. Media cair dapat menghasilkan pertumbuhan lebih baik daripada media padat (Mbiyu, *et al*, 2012), dimana jika MS cair ditambahkan dengan kombinasi 0.1 mgL⁻¹ BA dan 1.0 mgL⁻¹ NAA maka akan menghasilkan pembentukan PLB yang lebih banyak daripada MS padat (Puchooa, 2004), selain itu kombinasi BA dan NAA yang sesuai juga dapat memacu pertumbuhan eksplan yang baik (Yuswanti *et al*, 2015). Pada penelitian Barwonoadi *et al*. (2017) disebutkan bahwa pemberian BA dalam media kultur jaringan anggrek *Dendrobium lasianthera* tidak menunjukkan respon berbeda nyata pada variabel jumlah daun dan jumlah akar yang baru terbentuk, namun dapat mempercepat pembentukan tunas baru dan meningkatkan jumlah tunas baru yang terbentuk. Media kultur anggrek *Dendrobium anosmum* menggunakan BA tunggal hingga 1 mgL⁻¹ dapat membentuk tunas dan daun tertinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Nguyen, *et al*, 2020). Mangena (2020) menyebutkan bahwa golongan sitokinin seperti BA memiliki banyak fungsi utama dalam perkembangan tanaman dan morfogenesis. BA terlibat dalam regulasi pembelahan sel, pembentukan tunas adventif, dan pengurangan dominasi apikal, termasuk pembentukan akar. Sedangkan, pemberian NAA sebagai sumber auksin pada kultur cair tanaman anggrek *Dendrobium* hibrida juga memberikan pengaruh yang baik pada penelitian Hartati, *et al* (2017) yang menggunakan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindley) sebagai eksplan. Namun demikian, peningkatan konsentrasi NAA hingga 5 mgL⁻¹ cenderung menghambat munculnya tunas. Pada anggrek jenis *Paphiopedilum callosum* kombinasi BA dan NAA beserta kombinasi TDZ (Thidiazuron) dan NAA berhasil menginduksi tunas dengan baik (Huy, *et al*, 2019). Sehingga pada penelitian ini akan dikaji pengaplikasian media berupa MS cair dengan beberapa kombinasi BA dan NAA untuk menghasilkan kombinasi terbaik pada pertumbuhan anggrek *dendrobium* hibrida.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT Agrotechnopark Universitas Jember pada bulan Januari sampai Agustus 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow*, botol kultur steril, *shaker*, pH meter, autoclave, mikropipet. Bahan yang digunakan adalah PLB anggrek *dendrobium* hibrida (*Dendrobium banana royal*) yang berumur 3 bulan, media Murashige and Skoog (MS), *Benzil Adenin* (BA), *Naphtalene Acetic Acid* (NAA), aquades, alkohol 70%, alkohol 96%.

Metode Penelitian

Sterilisasi Alat

Alat-alat berupa botol kultur, pinset, dan lainnya dicuci dahulu hingga bersih menggunakan deterjen lalu dibilas dengan air mengalir, setelah itu memasukkan kedalam autoclave untuk dilakukan sterilisasi selama 30 menit dengan suhu 121°C .

Pembuatan Media Cair

Media yang digunakan media MS cair, yaitu dengan mencampur seluruh komponen mulai dari stok A sampai stok F dan vitamin sebanyak 2.5 ml ke dalam 9 gelas ukur untuk volume media 125 ml, lalu menambahkan 30 gL⁻¹ sukrosa sebanyak 3.75 gram, kemudian memasukkan hormone BA dan NAA dengan masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan, lalu menambahkan aquades steril hingga mencapai volume 125 ml pada seluruh perlakuan.

Tahap berikutnya dilakukan penyesuaian pH hingga 5.4 lalu memasukkan media yang telah dicampurkan tadi ke dalam masing-masing botol selai sebanyak 25 ml dan menutup menggunakan plastik packing yang dilapisi wrap. Botol selai yang telah berisi media dimasukkan ke dalam autoclave untuk dilakukan sterilisasi pada suhu 121°C, setelah media dilakuka sterilisasi maka dipindahkan ke rak kultur untuk dilakukan pengamatan selama satu minggu agar mengetahui terkontaminasi atau tidak sebelum dilakukan penanaman.

Penanaman pada Media Cair

Penanaman dilakukan pada *laminar air flow* (LAF) dengan memasukkan semua alat dan media yang akan digunakan, lalu membiarkan pada kondisi cahaya UV menyala selama 60 menit. Selanjutnya memasukkan botol PLB ke dalam LAF dan memulai penanaman dengan menimbang PLB sebanyak 0.5 gram ke dalam botol selai yang sudah berisi media untuk setiap masing-masing perlakuan, setelah itu dilanjutkan dengan memindahkan semua botol selai yang telah terisi PLB ke *shaker* untuk dilakukan penggojokan selama 7 minggu dengan kecepatan 80 rpm dalam kondisi suhu 26°C.

Pembuatan Media Regenerasi

Media regenerasi dilakukan dengan melakukan pencampuran seluruh komponen media mulai dari stok A sampai stok F dan vitamin dengan penambahan 8 gL⁻¹ agar, lalu memasukkan sukrosa, 15% air kelapa, 15% ekstrak kentang, 15% ekstrak pisang, 0.2% arang aktif ke dalam gelas ukur dan menambahkan aquades hingga volume 500 ml, lalu melakukan pengaturan pH hingga 5.4 lalu memasak sambil dilakukan pengadukan hingga mendidih dan seluruh bahan menjadi homogeny, kemudian memasukkan ke dalam autoclave selama 30 menit pada suhu 121°C, dan media diletakkan pada rak kultur sambil melakukan pengamatan ±3 hari untuk mengetahui terjadi atau tidak kontaminasi.

Penanaman pada Media Regenerasi

Penanaman dilakukan dengan memindahkan PLB hasil kultur cair pada perlakuan terbaik pada media MS padat dengan penambahan 8 gL⁻¹ agar, lalu memasukkan sukrosa, 15% air kelapa, 15% ekstrak kentang, 15% ekstrak pisang, 0.2% arang aktif. Setelah pemindahan PLB pada perlakuan terbaik ke dalam media regenerasi, kemudian botol kultur diletakkan kembali pada rak pemeliharaan dengan suhu ruangan dan kondisi steril untuk mengetahui perkembangan serta pertumbuhannya menjadi tanaman lengkap.

Analisis Data

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) kombinasi BA dan NAA yang masing-masing terdiri dari 3 taraf BA (0 mgL⁻¹, 0.1 mgL⁻¹, 0.2 mgL⁻¹) dan NAA (0.5 mgL⁻¹, 1.0 mgL⁻¹, 1.5 mgL⁻¹). Total terdapat 9 perlakuan dan dilakukan ulangan 3 kali sehingga terdapat 27 unit percobaan. Parameter pengamatan terdiri dari Berat PLB (g), Jumlah Hidup PLB (%), dan Panjang PLB (cm). Analisis data hasil pengamatan kemudian diolah dengan analisis sidik ragam (ANOVA), jika diketahui adanya perbedaan nyata atau sangat nyata maka akan dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

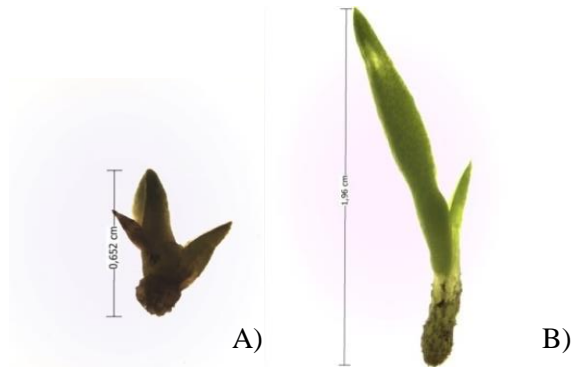
Hasil penelitian pada pertumbuhan anggrek *Dendrobium* hibrida terdiri dari beberapa parameter diantaranya berat PLB, presentase jumlah PLB yang hidup, dan panjang PLB yang diperoleh data kuantitatif. Data kuantitatif tersebut kemudian dianalisis menggunakan sidik ragam dan uji lanjut DMRT taraf 5%. Tahap pertumbuhan PLB pada media cair dilakukan selama 7 minggu menggunakan *shaker* dimana dalam waktu tersebut sudah terlihat pertumbuhan dari tunas yang belum sempurna. Gambar 1 menunjukkan PLB umur 3 bulan setelah tebar biji yang selanjutnya disebut PLB pada minggu ke-0.

Gambar 1 menunjukkan PLB umur 3 bulan yang kemudian akan dilakukan penanaman pada media cair untuk media pembesaran planlet. Setelah 7 minggu masa kultur di media cair, terdapat perubahan pada kenampakan planlet anggrek *Dendrobium* (Gambar 2). Beberapa PLB menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi kecoklatan yang diduga karena terjadinya peristiwa *browning* (Gambar 2A). Peristiwa ini disebabkan oleh adanya senyawa fenolik yang menghambat proses pertumbuhan anggrek. Adanya senyawa fenolik diduga karena *Dendrobium* banyak hidup di daerah tropika, sehingga dapat mengalami oksidasi yang mengakibatkan terjadi cekaman luka secara menerus pada jaringan tanaman (Nurasa *et al.*, 2017).

Selain itu beberapa PLB juga menunjukkan hasil perkembangan yang baik dengan warna yang PLB tetap berwarna hijau (Gambar 2B). Warna hijau sendiri berasal dari pigmen hijau pada daun yaitu klorofil yang sangat dibutuhkan untuk proses fotointesis pada tanaman (Shin *et al.*, 2011). Sehingga PLB yang berwarna hijau segar tersebut mengindikasikan bahwa proses fotosintesis pada PLB tersebut berjalan dengan baik.



Gambar 1. PLB pada minggu ke-0

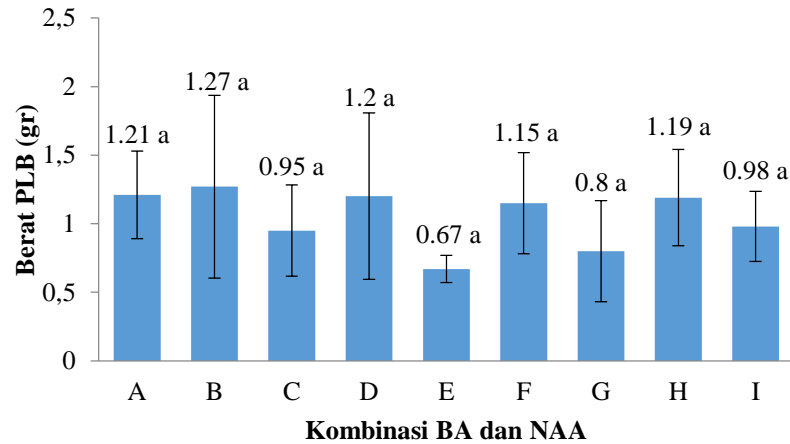


Gambar 2. Bentuk *protocorm like bodies* 7 minggu setelah tanam pada kultur cair
(A) PLB yang mengalami *browning* (B) PLB dengan warna hijau

a. Berat PLB

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak berbeda nyata pada beberapa perlakuan kombinasi BA dan NAA terhadap berat PLB anggrek pada umur 7 minggu. Pengukuran berat PLB dilakukan saat awal penanaman yaitu sebanyak 0.5 gram dan dilakukan pada umur 7 minggu setelah tanam. Hasil sidik ragam diperoleh perlakuan tidak berbeda nyata dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil berat PLB diperoleh perlakuan terbaik yaitu perlakuan B (0 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA) dengan rata-rata-rata terbesar 1.27 gram. Hal ini dapat dikarenakan tidak adanya penggunaan sitokinin sehingga adanya hormone auksin mengakibatkan terjadinya peningkatan air terhadap permeabilitas sel dan terjadi penurunan pada tekanan dinding sel kemudian kulit biji pecha dan air masuk kedalam yang menyebabkan bertambahnya volume sel, NAA mendorong terjadinya elongasi sel dan meningkatkan berat basah pada penyerapan air oleh sel (Paramartha *et al*, 2012).

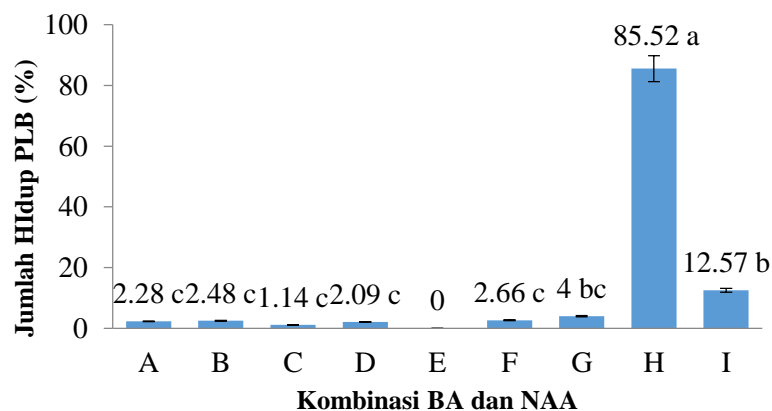


Gambar 3. Rata-rata berat PLB pada 7 minggu setelah tanam pada kultur cair. A) 0 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; B) 0 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; C) 0 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; D) 0.1 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; E) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; F) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; G) 0.2 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; H) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; I) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA.

b. Jumlah Hidup PLB

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan H (0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA) sebesar 85.52% PLB yang tetap hidup setelah 7 minggu masa kultur cair. Jumlah PLB dipengaruhi oleh kombinasi auksin dan sitokinin, menurut Nuraina, *et al.*, (2010) bahwa penggunaan 1 mgL⁻¹ NAA dapat menghasilkan pertambahan rata-rata jumlah PLB. NAA dapat menghasilkan perkembangan sel yang kemudian terjadi peningkatan jumlah.

Pada Gambar 4 juga dapat dilihat bahwa PLB yang mengalami kematian terbesar pada perlakuan E (0.1 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA). Kematian PLB tersebut dikarenakan terjadi peristiwa *browning* pada eksplan. *Browning* atau pencoklatan pada jaringan tanaman terjadi karena adanya senyawa fenol yang bersifat toksik dan menghambat pertumbuhan eksplan. Beberapa upaya untuk mengurangi pencoklatan sudah banyak dilakukan diantaranya penggunaan PVP (*polivinil pirolidon*), pemberian senyawa antioksidan, dan penggunaan arang aktif sebanyak 2 gL⁻¹ untuk menghambat kerja enzim fenol (Widiyanti *et al.*, 2014).

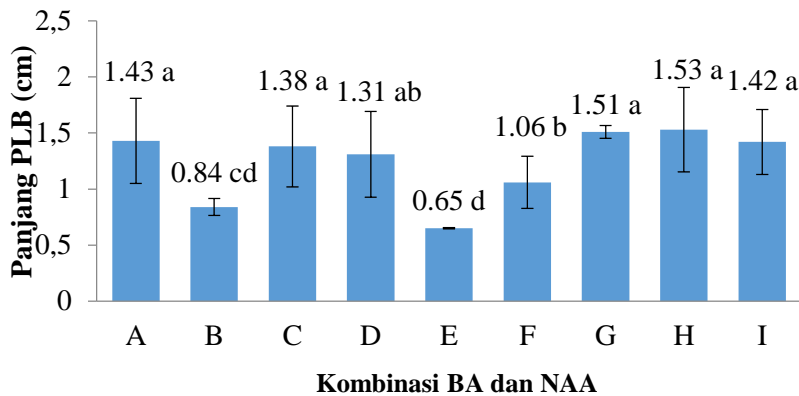


Gambar 4. Jumlah hidup PLB 7 minggu setelah tanam pada kultur cair. A) 0 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; B) 0 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; C) 0 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; D) 0.1 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; E) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; F) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; G) 0.2 mgL⁻¹ BA +

0.5 mgL⁻¹ NAA; H) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; I) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA.

c. Panjang PLB

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan H (0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA) sebesar 1.53 cm, sedangkan hasil rata-rata panjang PLB terendah yaitu perlakuan E (0.1 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA) sebesar 0.65 cm (Gambar 5). Pertumbuhan tahap akhir PLB terbaik yaitu terdapat pada perlakuan (0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA) sebesar 1.53 cm. Hal ini dikarenakan terjadinya interaksi yang sesuai antara hormon auksin dan sitokinin, jika konsentrasi auksin lebih tinggi maka dapat meningkatkan pertumbuhan akar sedangkan jika konsentrasi hormon auksin lebih rendah maka dapat mengalami pembentukan pada tunas. Pengaplikasian hormone BA dapat meningkatkan pembelahan dan pertambahan sel pada tanaman kultur *in vitro*, sehingga hal ini dapat menjadikan kriteria untuk proses regenerasi yang mana PLB telah berbentuk dan berwarna hijau (Kriswanto, *et al*, 2017).

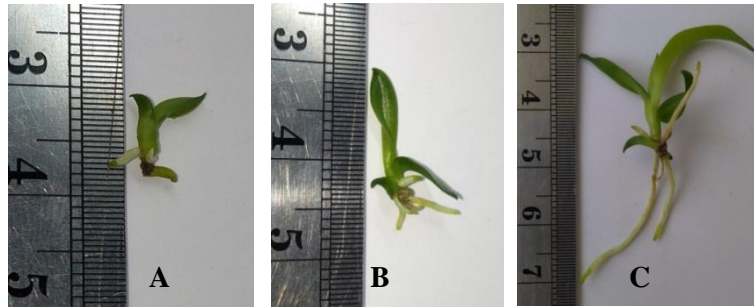


Gambar 5. Panjang PLB 7 minggu setelah tanam pada kultur cair. A) 0 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; B) 0 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; C) 0 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; D) 0.1 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; E) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; F) 0.1 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA; G) 0.2 mgL⁻¹ BA + 0.5 mgL⁻¹ NAA; H) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA; I) 0.2 mgL⁻¹ BA + 1.5 mgL⁻¹ NAA.

Tabel 1. Hasil regenerasi dari perlakuan terbaik kultur cair

Parameter	Minggu ke-7	Minggu ke-9	Minggu ke-12
Jumlah daun	2±0.5	3±2.1	5±1.99
Jumlah akar	2±0.67	4±2	6±1
Panjang akar (cm)	0.9±0.34	1.7±1.1	2.02±0.4
Tinggi planlet (cm)	1.5±0.47	2.4±0.72	4.9±0.84

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa beberapa rata-rata parameter minggu ke 7 sampai minggu ke 12 semakin mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan penggunaan bahan organik memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan *planlet* anggrek yaitu pemberian ekstrak kentang pada anggrek *dendrobium* memperoleh hasil terbaik terhadap tinggi *planlet* (Ambarwati *et al*, 2021).



Gambar 6. Morfologi *planlet* anggrek pada media regenerasi (A) Regenerasi 7 MST(B) Regenerasi 9 MST (C) Regenerasi 12 MST

1 Berdasarkan Gambar 6. Diketahui bahwa media regenerasi menghasilkan perkembangan dan
2 pertumbuhan yang baik hingga mampu menghasilkan tanaman lengkap. Parameter sampai akhir
3 pengamatan diperoleh rata-rata jumlah daun per eksplan yaitu 5.6, rata-rata jumlah akar per eksplan yaitu
4 4.8, rata-rata panjang akar per eksplan yaitu 2 cm, dan rata-rata tinggi *planlet* yaitu 4.9 cm.

6 Pembahasan

7 Berdasarkan hasil pertumbuhan anggrek diperoleh pada media cair dengan kombinasi BA dan NAA
8 yang sesuai. Hasil akhir yang diperoleh bahwa pada minggu ke 7 untuk morfologi, bentuk, ukuran, dan
9 warna terbaik pada perlakuan kombinasi 0.2 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA, sedangkan pada kombinasi
10 perlakuan 0.1 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA rata-rata PLB mengalami *browning*. Hal ini diakibatkan
11 adanya senyawa fenol pada media sehingga mengakibatkan terhambatnya penyerapan unsur hara oleh
12 eksplan. Fenol yang muncul diduga akibat adanya luka pada jaringan tanaman (Syahrudin, 2011).
13 Selanjutnya pada hasil berat PLB menunjukkan bahwa perlakuan terbaik ada pada perlakuan kombinasi 0
14 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA sebesar 1.27 gram. Adanya hormon auksin berpengaruh terhadap peningkatan
15 air terhadap permeabilitas sel sehingga terjadi penurunan pada tekanan dinding sel dimana air akan masuk
16 kedalamnya sehingga volume sel akan bertambah. Pemberian NAA disini dapat mengakibatkan
17 pertambahan sel sehingga meningkatkan berat basah pada penyerapan air oleh sel (Paramartha *et al*,
18 2012).

19 Hasil persentase jumlah PLB hidup menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata pada perlakuan
20 terbaik kombinasi 0.2 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA sebesar 85.52%, jumlah PLB dipengaruhi oleh
21 kombinasi hormon dimana jika dilakukan penambahan 1 mgL^{-1} NAA akan menghasilkan pertambahan
22 rata-rata jumlah PLB (Nuraini, *et al*, 2010). Dari data jumlah hidup PLB, dapat diketahui juga untuk
23 jumlah PLB mati bahwa banyak perlakuan mengalami pencoklatan yang mana sudah sangat umum
24 ditemukan pada bagian tanaman karena pengaruh fisik dan biokimia, salah satunya karena adanya
25 kandungan senyawa fenol yang tinggi pada *Dendrobium* hibrida dan dapat mengalami oksidasi jika
26 terjadi pelukaan (Nurana *et al*, 2017). Beberapa upaya sudah dilakukan untuk mengurangi pencoklatan
27 diantaranya penambahan 2 gL^{-1} arang aktif pada media, penggunaan PVP (*polivinil pirolidon*), dan
28 pemberian senyawa antioksidan.

29 Hasil akhir panjang PLB menunjukkan bahwa berbeda nyata dengan perlakuan terbaik yaitu
30 kombinasi 0.2 mgL^{-1} BA + 1.0 mgL^{-1} NAA sebesar 1.53 cm. Menurut Mok, *et al*, (2000) adanya hormon
31 BA pada media yaitu dapat meningkatkan pembelahan dan pertambahan ukuran pada sel tanaman kultur
32 *in vitro*, sedangkan fungsi NAA dapat berpengaruh terhadap persentasi hidup eksplan (Sutriana *et al*,
33 2014) sehingga jika dilakukan kedua hormon dilakukan kombinasi dengan konsentrasi yang sesuai maka

34 dapat menghasilkan pertumbuhan baik pada eksplan (Yuswanti *et al*, 2015).

35 Hasil pada media regenerasi diperoleh pertumbuhan yang baik untuk setiap minggu hingga
36 menghasilkan tanaman lengkap meskipun tidak semua *planlet* mengalami perkembangan dengan ukuran
37 yang sama. Penggunaan bahan organik yang sesuai akan menghasilkan pertumbuhan yang baik pada
38 kultur *in vitro*, pemberian ekstrak kentang sebanyak 150 gL⁻¹ dapat menghasilkan tinggi *planlet* pada
39 anggrek *oncidium* sp. (Ambarwati *et al*, 2021). Selain itu pemberian air kelapa sebanyak 150 mL⁻¹ juga
40 merupakan konsentrasi optimal terhadap jumlah daun hal tersebut karena terdapat hormon sitokinin
41 didalamnya (Wiyatie *et al*, 2018). Hasil minggu ke 7 mulai terlihat perkembangan akar karena adanya
42 diferensiasi sel pada PLB yang sifatnya masih meristematik. Akar memiliki kemampuan dalam menyerap
43 nutrisi pada media, sehingga semakin banyak jumlah akar maka penyerapan nutrisi terhadap pertumbuhan
44 tanaman akan semakin optimal. Air kelapa juga berperan terhadap pertumbuhan akar karena memiliki
45 kandungan sitokinin serta kalsium yang mengakibatkan pertambahan jumlah dan panjang akar (Pratama
46 dan Nilahayati, 2018). Hasil regenerasi diperoleh hingga minggu ke 12 yang mana terlihat pembentukan
47 daun dan akar hingga menjadi tanaman lengkap, hal ini dikarenakan penggunaan bahan organik berupa
48 air kelapa dan ekstrak kentang yang berperan aktif dan berpengaruh nyata pada pertumbuhan *planlet*.

49

50

KESIMPULAN

51 Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik pada kultur cair yaitu pada kombinasi 0.2 mgL⁻¹
52 BA + 1.0 mgL⁻¹ NAA yaitu pada parameter jumlah hidup PLB sebesar 85.52% dan panjang PLB sebesar
53 1.53 cm. Hasil akhir pada media regenerasi diperoleh rata-rata jumlah daun per eksplan 5.6, rata-rata
54 jumlah akar per eksplan 4.8, rata-rata panjang akar per eksplan 2 cm, dan rata-rata tinggi *planlet* 4.5 cm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih pada UPT Agrotechnopark Universitas Jember atas fasilitas yang disediakan sampai terselesaikannya penelitian ini, dan dana penelitian dari hibah PPBI Universitas Jember Tahun 2021 atas nama Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, I. D., Alfian, F. N. dan Dewanti, P. 2021. Respon Anggrek *Dendrobium* sp., *Oncidium* sp., dan *Phalaenopsis* sp. Terhadap Pemberian Empat Jenis Nutrisi Organik yang Berbeda pada Tahap Regenerasi Planlet. Jurnal Agrikultura, No. 32, Vol. 1, 27-36.
- Bawonoadi, G., Wiendi, N. M. A. dan Krisantini. 2017. Proliferasi In Vitro Plb Anggrek *Dendrobium lasianthera* Hasil Induksi Mutasi Genetik dengan Kolkisin Melalui Penambahan Benzyl Adenine. Buletin Agrohorti, No. 5, Vol. 2, 146-157.
- Suryani, R., 2015, Outlook Anggrek, Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Fandani, H. S., Mallomasang, S. N. dan NengahKorja, I. 2018. Keanekaragaman Jenis Anggrek Pada Beberapa Penangkaran di Desa Ampera dan Desa Karunia Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi. Jurnal Warta Rimba, No. 3, Vol. 6, 14-20.
- Hartarti, S., Arniputri, R. B., Soliah, L. A., dan Cahyono, O. 2017. Effects of Organic Additives and

- Naphthalene Acetic Acid (NAA) Application on The In Vitro Growth of Black Orchid Hybrid (*Coelogyne pandurata* Lindley). Bulgarian Journal of Agricultural Science. No. 23, Vol 6, 951-957.
- Huy, N. P., Luan, V. Q., Cuong, L. K., Nam, N. B., Tung, H. T., Hien, V., T., Le, D. T., Paek, K. Y., and Nhut, D. T. 2019. Strategies for The Regeneration of *Paphiopedilum callosum* Through Internode Tissue Cultures Using Dark-light Cycles. HortScience, No. 54., Vol. 5, 1-6.
- Kriswanto, B. S, Soeparjono, S, and Restanto, D. P, 2017. The Propagation of Orchid Through Formation of Protocorm Like Bodies (PLB) for Supporting The Rescue of Phalaenopsis Orchid in Indonesia, Proceedings of The International Conference of FoSSA, Jember, Agustus 1-3.
- Maitra, S., Sairam, S., Shankar, T. dan Gaikwad, D. J. 2020. Growing of *Dendrobium* Orchids in Greenhouse. In: Protected Cultivation and Smart Agriculture. New Delhi Publishers, New Delhi, India.
- Mangena, P. 2020. Benzyl adenine in plant tissue culture- succinct analysis of the overall influence in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] seed and shoot culture establishment. Journal of Biotech Research, No. 2020, Vol. 11, 23-34.
- Mbiyu, M., Muthoni, J., Kabira, J., Muchira, C., Pwaiswai, P., Ngaruiya, J., Onditi, J., and Otieno, S. 2012. Comparing Liquid and Solid Media on the Growth of Plantlets From Three Kenyan Potato Cultivars. American Journal of Experimental Agriculture, No. 1, Vol. 2, 81-89.
- Nguyen, H.T., Dinh, S. T., Ninh, T. T., Nong, H. T., Dang T. T. T., Khuat, Q. V., Dang, A. T. P., Ly, M. T., Kirakosyan, R. N. and Kalashnikova, E. A. 2020. In Vitro Propagation of *Dendrobium anosmum* Lindl. Collected in Vietnam. Agronomy, No. 2022, Vol. 12, 324-338.
- Nongdam, P., and Tikendra, L. 2014. Establishment of an Efficient In Vitro Regeneration Protocol for Rapid and Mass Propagation of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. Using Seed Culture. The Scientific World Journal, No. 1, Vol 2014, 8.
- Nuraini, A, Heriliya, W, Suminar, E, and Marlina, E, 2010. Responses of *Protocorm Like Bodies* Hybrid *Dendrobium* Orchid on Various Types and Concentration of Cytokinin and Auxin on Murashige and Skoog (MS) Medium. International Seminar on Horticulture to Support Food Security, Bandar Lampung, June 22-23.
- Nurana, A. R., Wijaya, G. dan Dwiyani, R. 2017. Pengaruh 2-iP dan NAA terhadap Pertumbuhan *Planlet* Angrek *Dendrobium* Hirbida pada Tahap Subkultur. Jurnal Agrotrop, No. 7, Vol. 2, 139-146.
- Paramartha, A. I., Ermavitalini, D. dan Nurfadilah, S. 2012. Pengaruh Penambahan Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium Taurulinum* J.J Smith secara *In Vitro*. Jurnal Sains dan Seni ITS, No. 1, Vol. 1, 40-43.
- Pratama, J., dan Nilahayati. 2018. Modifikasi Media MS dengan Penambahan Air Kelapa untuk Subkultur I Angrek *Cymbidium*. *Agrium*. Jurnal *Agrium*, No. 15, Vol. 2, 96-109.
- Puchooa, D. 2004. Comparison of Different Culture Media for The *In Vitro* of *Dendrobium* (Orchidaceae). International Journal of Agriculture & Biology, No. 6, Vol. 5, 884-888.
- Shin, Y. K., Baque, Md. A., Elghamedi, S., Lee, E. U., and Paek, K. Y. 2011. Effects of Activated

- Charcoal, Plant Growth Regulator and Ultrasonic Pre-Treatments On *In Vitro* Germination and Protocorm Formation of *Calanthe* Hybrids. Australian Journal of Crop Science, No. 5, Vol. 5, 582-588.
- Syahruddin, M., Nazirah, L. dan Nilahayati. 2011. Pemberian NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Planlet Tanaman ANggrek (*Dendrobium* sp.) secara Teknik *In Vitro*. Jurnal Agrium, No. 1, Vol. 8, 43-47.
- Sutriana, S., Jumin, H. B. dan Mardaleni. 2014. Interaksi BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Eksplan Angrek Vanda secara *In Vitro*. Jurnal Dinamika Pertanian, No. 1 Vol. 29, 1-8.
- Widayanti, A. I., Dwiyani, R. dan Yuswanti, H. 2014. Pengaruh Kombinasi Naphtalene Acetic Acid (NAA) –Benzyl Amino Purine (BAP) dan Jenis Eksplan Pada Mikropropagasi ANggrek *Vanda tricolor* Lindl. Var. *suavis*. Jurnal Agrotrop, No. 1, Vol. 4, 13-18.
- Wijayani, Y., Solichatun. dan Mudyantini, W. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm Like Bodies* Angrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BI. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. Jurnal Bioteknologi, No. 2 Vol. 4, 33-40.
- Wiyatie., Muslimin. dan Dewi. 2018. Pertumbuhan *protocorm Like Bodies* Angrek *Ceologyne Celebensis* J.J. Smith Pada berbagai Konsentrasi Air Kelapa secara *In Vitro*. Jurnal Warta Rimba, No. 3, Vol. 6, 33-41.
- Yuswanti, H., Dharma, I. P., Utami. Dan Wiraatmaja, I. W. 2015. Mikropropagasi Angrek *Phalaenopsis* dengan menggunakan Eksplan Tangkai Bunga. Jurnal Agrotrop, No. 2, Vol. 5, 161-166.