

## PERBANYAKAN ANGGREK *Grammatophyllum scriptum* MELALUI PROLIFERASI TUNAS ADVENTIF SECARA *IN VITRO*

*In vitro* propagation of *Grammatophyllum scriptum* through adventitious shoot proliferation

Eneng Nurhasanah<sup>1</sup>, dan Ni Made Armini Wiendi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program studi Hortikultura, Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

<sup>2</sup>Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

### Abstract

A rapid and reliable micropropagation method was established for *Grammatophyllum scriptum*. The aims of this research was to study the effect of BAP and NAA in any range concentration toward adventitious shoot proliferation. Shoot explants from 12 months-old *in vitro* seedling of *Grammatophyllum scriptum* were cultured on GDB medium supplemented with 12 combinations of BAP (0 mg/l, 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l, and 2.5 mg/l) and NAA (0.5 mg/l, and 1.0 mg/l) in Randomized Block Design. The result showed that the application of BAP and NAA were not significantly different in shoot number, root number, and leaf number, but were significantly different in shoot-node number, and shoot length. The best shoot number was obtained from B1N2 (0.5 mg/L BAP+ 1.0 mg/L NAA). The best shoot-node number was obtained from B1N1 (0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA). B0N2 medium (0 mg/L BAP + 1.0 mg/L NAA) showed the best number at leaf and root. B2N1 (1.0 mg/L + 1.0 mg/L) showed the best number for shoot length. The optimum plant growth regulator combination for maximal adventitious shoot regeneration was found in B0N2 (0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA). The acclimatization was 100% successfully growth from all treatment.

**Keywords:** *Grammatophyllum scriptum*, *in vitro*, proliferation adventitious shoot, BAP, NAA

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

*Grammatophyllum scriptum* termasuk kedalam famili *Orchidaceae*, genus *Grammatophyllum* Blume. *Grammatophyllum* merupakan marga anggrek yang terdiri dari 10 spesies. Di Indonesia sampai saat ini yang diketahui baru 4 jenis yaitu *Grammatophyllum speciosum*, *Grammatophyllum scriptum*, *Grammatophyllum papuanum* dan *Grammatophyllum stapeliaeflorum*. Tetapi menurut para ahli taksonomi *Grammatophyllum papuanum* masih merupakan variasi dari jenis *Grammatophyllum speciosum* (LIPI, 1999).

Anggrek dari famili *orchidaceae* yang ada di dunia terdiri dari 20 000 hingga 35 000 spesies yang tersebar kedalam 800 genus (Rimando, 2001). Keragaman bunganya serta kemampuan tumbuhnya yang demikian luas menyebabkan penggemar anggrek ini terdapat diseluruh dunia. Namun disisi lain kelompok tumbuhan ini juga salah satu yang paling terancam keberadaannya. Menurut kelompok yang menangani anggrek (*Orchid Specialist Group*) dalam komisi penyelamatan jenis (*Species Survival Commission*) dari IUCN, ancaman terhadap anggrek secara umum diakui disebabkan oleh aktivitas manusia yaitu perubahan atau rusaknya habitat tumbuh anggrek baik rusak total, berubah bentuknya menjadi daerah penebangan pertanian atau pemukiman maupun terjadinya fragmentasi habitat, dan pengambilan dari alam untuk diperdagangkan, koleksi, maupun untuk kegunaan lainnya (Irawati, 2001).

Perbanyakan anggrek dapat dilakukan secara konvensional maupun non konvensional. Salah satu teknik budidaya anggrek yang banyak digunakan yaitu dengan kultur jaringan.

Media yang optimal untuk perbanyakan tanaman *Grammatophyllum scriptum* baik untuk bibit berupa planlet atau tunas sebagai sumber propagula untuk bahan perbanyakan belum pernah dilaporkan. Penelitian tentang pengaruh penambahan BAP dan NAA juga dilakukan oleh beberapa peneliti diantaranya yaitu Santoso (1999) pada penelitian induksi embrio somatik pada *Grammatophyllum speciosum* dengan menggunakan media Vacin-Went dengan kombinasi BAP dan NAA. Bhadra (2003) pada penelitian mikropropagasi dan perkecambahan anggrek spesies secara *in vitro* dengan menggunakan media MS dan Phytamax (PM) dengan kombinasi NAA, IAA, IBA, picloram, BAP, dan zeatin. Teng (1997) pada penelitian mikropropagasi *Spathoglottis plicata* dengan menggunakan media MS dengan kombinasi NAA dan BA.

### Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi terhadap kemampuan proliferasi tunas adventif *Grammatophyllum scriptum*. Penelitian ini diharapkan menghasilkan media yang optimal untuk perbanyakan planlet anggrek *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*, dan dapat menghasilkan tunas sebagai sumber propagula.

### Hipotesis

1. Zat pengatur tumbuh BAP nyata mempengaruhi daya multiplikasi dan pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.
2. Zat pengatur tumbuh NAA nyata mempengaruhi daya multiplikasi dan pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.
3. Terdapat interaksi antara NAA dan BAP terhadap daya multiplikasi dan pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2008 sampai dengan september 2008.

### Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas adventif anggrek *Grammatophyllum scriptum* dari bibit yang merupakan hasil kultur *in vitro* dari Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor.

Bahan yang digunakan untuk membuat media yaitu larutan stok media GDB modifikasi, NAA dengan konsentrasi 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l, BAP dengan konsentrasi 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l, dan 2.5 mg/l, gula dan arang aktif. Bahan pematik digunakan agar. Bahan untuk mengatur pH terdiri atas HCl 1 N dan KOH 1 N. Bahan untuk mensterilkan planlet terdiri atas air steril, sodium hipoklorit 5 %, tisu steril. Bahan untuk aklimatisasi yaitu media tanam arang sekam steril.

Alat untuk membuat media GDB modifikasi terdiri atas labu takar ukuran 500 ml, pipet volumetric, *stirer*, pengaduk kaca, botol kultur ukuran besar, corong, timbangan analitik, dan pH meter. Alat untuk penanaman terdiri atas *Laminar Air Flow Cabinet*, alat-alat diseksi, lampu bunsen, *petridish*. Alat

untuk aklimatisasi yang terdiri dari pinset, gelas plastik, *hand sprayer*, dan ruang aklimatisasi.

### Metode Penelitian dan Pengamatan

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) faktorial, dengan 2 faktor, yaitu zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi 0.5 mg/l dan 1.0 mg/l, dan BAP dengan konsentrasi 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l, dan 2.5 mg/l. Penelitian ini terdiri dari 12 kombinasi perlakuan.

1. B0N1 (0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
2. B1N1 (0.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
3. B2N1 (1.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
4. B3N1 (1.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
5. B4N1 (2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
6. B5N1 (2.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA)
7. B0N2 (0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)
8. B1N2 (0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)
9. B2N2 (1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)
10. B3N2 (1.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)
11. B4N2 (2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)
12. B5N2 (2.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA)

Setiap perlakuan terdiri dari 3 kelompok sehingga terdapat 36 satuan perlakuan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 10 tanaman sebagai satuan amatan sehingga terdapat 360 satuan amatan. Ulangan dijadikan kelompok berdasarkan hari penanaman.

Model statistika yang digunakan sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan:

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan pengaruh perlakuan pemberian NAA ke-j, pemberian BAP ke-k, dan kelompok ke-i

$\mu$  = Rataan umum

$\gamma_i$  = Nilai tambah pengaruh kelompok ke-i (i = 1, 2, 3, ..., r)

$\alpha_j$  = Nilai tambah pengaruh pemberian BAP ke-j (j = 1, 2, 3, 4, 5)

$\beta_k$  = Nilai tambah pengaruh pemberian NAA ke-k (k = 1, 2)

$(\alpha\beta)_{jk}$  = Nilai tambah pengaruh interaksi pemberian BAP ke-j, dengan pemberian NAA ke-k

$\varepsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat percobaan

Pengolahan data dilakukan dengan uji F pada sistem SAS (*Statistical Analysis Sistem*). Perlakuan yang berpengaruh nyata pada uji F diuji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Persiapan dan Sterilisasi Peralatan

Semua alat yang telah dicuci disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* bersuhu 121°C dan bertekanan 0.1 bar selama satu jam. Sedangkan pada saat persiapan tanam, alat diseksi dibuka kemudian dibakar dengan *alcohol* 70%.

#### Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok yang dibuat sesuai dengan komposisi media GDB modifikasi yang disimpan dalam tabung erlenmeyer. Pembuatan larutan stok Zat Pengatur Tumbuh NAA (golongan auksin) dilarutkan dengan larutan KOH 1 N, sedangkan BAP (golongan sitokinin) dilarutkan dengan DMSO (*Dimethyl sulfoxide*). Selanjutnya ditambahkan aquades sesuai volume yang diinginkan. Larutan stok ini disimpan dalam lemari es.

#### Pembuatan Media Kultur

Pembuatan media dilakukan dengan memipet sejumlah volume tertentu larutan stok, sejumlah konsentrasi BAP dan NAA. Kemudian gula dilarutkan sebanyak 30 g/l dengan aquades kedalam labu takar, kemudian tambahkan aquades sampai tanda tera. Kemasaman media dipertahankan pada pH 5,6-5,8 dengan menambahkan HCl 0,1 N atau KOH 0,1 N. Untuk media padat ditambahkan agar-agar 9 g/l dan arang aktif 2 g/l. Media kemudian dimasak sampai mendidih Media tersebut dituangkan kedalam botol kultur yang telah disterilisasi sebanyak 20 ml per botol dengan menggunakan botol berukuran 300 ml. Setelah itu disterilisasi dengan

menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi, selama 20 menit.

### Persiapan Ruang Tanam

Sebelum menanam eksplan, *laminar air flow cabinet* yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70% kemudian disterilkan dengan sinar Ultra Violet selama 1 jam. Alat tanam dan bahan-bahan yang akan digunakan juga disemprot dengan alkohol 70 % sebelum dimasukkan ke dalam *laminar air flow cabinet*.

### Penanaman Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah tunas anggrek *Grammatophyllum scriptum*. Bahan tanaman sebelumnya disterilisasi menggunakan chlorox. Bahan tanaman yang telah disterilisasi kemudian diletakkan pada cawan petri sebelum ditanam kedalam botol kultur. Setelah media perlakuan dan semua peralatan tanam disiapkan, bahan tanaman dapat segera ditanam di botol kultur. Pada setiap botol kultur ditanam 2 eksplan anggrek, Setelah penanaman botol kultur diletakkan diruang kultur.

### Inkubasi Kultur

Di dalam ruang kultur terdapat rak-rak bertingkat yang disusun sederhana berisikan lampu berflorusen putih dengan intensitas 1000-2000 lux untuk menyinari kultur. Suhu ruang disarankan antara 18-26 °C. Untuk menguraangi masalah akibat panas dalam ruang kultur sebaiknya diberikan AC. Penempatan botol-botol kultur diletakkan secara acak pada rak-rak tersebut.

### Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan setelah dikulturkan selama 20 minggu. Planlet yang akan diaklimatisasi terlebih dahulu dicuci dan dibersihkan dari agar, kemudian direndam dalam larutan fungisida dan bakterisida selama 1-2 menit. Fungisida yang digunakan yaitu Dithane M-45 sebanyak 2 g/l, dan bakterisida yang digunakan yaitu Agrept sebanyak 2 g/l. Selanjutnya planlet dipindahkan ke dalam gelas-gelas plastik berisi media yaitu arang sekam steril. Gelas-gelas tersebut disungkup dan disimpan di dalam ruang kultur selama 4 minggu.

### Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 20 Minggu. Peubah yang diamati antara lain:

1. Persentase eksplan terkontaminasi dan penyebabnya
2. Persentase eksplan hidup
3. Waktu muncul tunas baru
4. Jumlah tunas hasil multiplikasi
5. Jumlah buku per tunas
6. Jumlah daun dihitung berdasarkan daun yang sudah terbuka
7. Jumlah akar dihitung berdasarkan akar yang berada pada permukaan atas media
8. Tinggi tunas dihitung pada minggu awal setelah penanaman dan minggu terakhir pengamatan
9. Persentase keberhasilan aklimatisasi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kondisi Umum

Persentase kultur terkontaminasi pada media perlakuan tinggi. Persentase kontaminasi rata-rata per perlakuan tertinggi pada perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA sebesar 23.08%. Persentase eksplan hidup rata-rata per perlakuan terendah yaitu pada perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA sebesar 77.78% akibat kultur terkontaminasi. Rata-rata waktu muncul tunas yaitu pada 2 Minggu Setelah Tanam, pada perlakuan 2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA. Kontaminasi kultur disebabkan oleh cendawan dan bakteri. Kontaminasi cendawan dicirikan dengan adanya benang hifa. Sedangkan kontaminasi oleh bakteri dicirikan dengan adanya lapisan lendir dipermukaan media.

Kontaminasi yang terjadi pada penelitian diduga karena penanganan botol pada saat pengamatan kurang baik. Eksplan

yang terkontaminasi disterilisasi dengan sodium hipoklorit 5 % selama 10 menit, kemudian ditanam pada media baru dengan perlakuan yang sama. Apabila kontaminan menyerang eksplan dengan tingkat kontaminasi yang parah maka dilakukan pemotongan pada bagian eksplan yang terserang. Hal ini bertujuan agar kontaminan tidak menyebar keseluruh bagian eksplan.

Rekapitulasi sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan pengaruh perlakuan terhadap parameter pengamatan. Perlakuan NAA pada percobaan secara umum tidak nyata mempengaruhi jumlah tunas, daun, akar, dan buku per tunas. Perlakuan BAP pada percobaan nyata berpengaruh terhadap : jumlah tunas pada 2 MST, jumlah daun pada 4 MST, jumlah akar pada 6 MST, 8 MST, 12 MST, 16 MST, 18 MST, 20 MST, jumlah buku per tunas pada 6 MST, 8 MST, 10 MST, 14 MST, 16 MST, 18 MST, 20 MST. Interaksi BAP dan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar. Namun sangat nyata mempengaruhi jumlah buku per tunas.

### Waktu Muncul Tunas

Waktu muncul tunas baru lebih cepat terlihat pada perlakuan 2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA, dengan rata-rata waktu muncul tunas baru yaitu pada minggu ke- 2 MST. Haddix *et. al.* (2004) melaporkan bahwa tunas baru pada spesies angrek *Encyclia* muncul pada minggu ke-1 dalam media Vacin and Went (VW). Hal ini diduga bahwa pemberian BAP dan NAA mampu mempercepat waktu munculnya tunas. Talukder *et.al* (2002) melaporkan bahwa pemberian 2.5 mg/L BAP dan 0.5 mg/L NAA dalam proliferasi tunas pada angrek *Dendrobium* mampu mempercepat proliferasi tunas yaitu hanya dalam waktu 8.8 hari.

### Jumlah Tunas

Tunas baru muncul pada bagian buku eksplan. Proliferasi tunas pada percobaan ini terjadi diatas permukaan media. Penambahan BAP dan NAA pada percobaan diduga menyebabkan terjadinya proliferasi tunas.

Tabel 1. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Jumlah Tunas pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*

BAP (mg/l)	Jumlah Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
0.0	1.24	2.62	3.30	3.84	4.04
0.5	1.33	2.79	2.92	3.80	4.03
1.0	1.31	2.72	2.81	2.92a	3.22
1.5	1.37	2.86	3.32	3.53a	3.70
2.0	1.24	2.72	3.16	3.44a	3.57
2.5	1.32	2.86	3.34	3.30a	3.40
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn
NAA (mg/l)					
0.5	1.25	2.71	3.10	3.33	3.58
1.0	1.34	2.81	3.19	3.61	3.74
uji F	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Wattimena (1992) menyatakan bahwa untuk menghasilkan tunas adventif disamping memerlukan sitokinin dalam taraf konsentrasi tinggi tetap diperlukan auksin dalam taraf konsentrasi rendah. Penambahan BAP pada percobaan ini menunjukkan pengaruh tidak nyata terhadap jumlah tunas. Pada tabel 1, perlakuan 2.5 mg/l BAP tidak menghasilkan jumlah tunas tertinggi, sedangkan penambahan BAP 0 mg/l menunjukkan jumlah tunas tertinggi.

Penambahan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah tunas. Penambahan NAA 1.0 mg/l meningkatkan jumlah tunas. Sehingga perlakuan 1.0 mg/l NAA secara umum menghasilkan jumlah tunas tertinggi (tabel 1).

Tabel 2. Interaksi antara BAP dan NAA terhadap Jumlah Tunas pada *Grammatophyllum scriptum*.secara *in vitro*

Perlakuan	Jumlah Tunas Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
B0N1	1.21a	2.48a	2.89a	3.36a	3.64a
B1N1	1.41a	2.73a	3.00a	3.35a	3.50a
B2N1	1.20a	3.07a	3.24a	2.97a	3.53a
B3N1	1.27a	2.87a	3.26a	3.42a	3.48a
B4N1	1.27a	2.48a	3.10a	3.59a	3.86a
B5N1	1.16a	2.63a	3.09a	3.29a	3.48a
B0N2	1.27a	2.76a	3.70a	4.31a	4.43a
B1N2	1.24a	2.84a	2.84a	4.23a	4.57a
B2N2	1.41a	2.37a	2.38a	2.87a	2.90a
B3N2	1.47a	2.86a	3.39a	3.63a	3.92a
B4N2	1.21a	2.97a	3.21a	3.29a	3.28a
B5N2	1.47a	3.09a	3.59a	3.30a	3.33a
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Interaksi antara BAP dan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah tunas (tabel 2). Umumnya jumlah tunas pada setiap perlakuan mengalami peningkatan. Namun terlihat adanya penurunan jumlah tunas pada beberapa perlakuan. Adanya sitokinin endogen menyebabkan perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA mampu menghasilkan jumlah tunas yang tinggi. Adanya kontaminasi yang tinggi, dan pemotongan pada bagian tunas yang terkontaminasi menyebabkan jumlah tunas menjadi berkurang.

### Jumlah Buku Per Tunas

Pemberian BAP pada percobaan nyata mempengaruhi jumlah buku per tunas. Sedangkan penambahan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah buku per tunas pada *Grammatophyllum scriptum* (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Jumlah Buku Per Tunas pada *Grammatophyllum scriptum*.secara *in vitro*

BAP (mg/l)	Jumlah Buku Per Tunas Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
0.0	6.46	6.51a	6.32	6.55a	6.79a
0.5	5.86	6.19ab	5.84	6.04ab	6.29ab
1.0	5.61	5.57bc	5.40	5.45b	5.60b
1.5	5.78	5.86abc	5.81	5.83ab	6.04ab
2.0	5.54	5.34c	5.53	5.51b	5.83b
2.5	5.46	5.40c	5.35	5.29b	5.56b
Uji F	tn	**	tn	*	*
NAA (mg/l)					
0.5	5.94	5.95	5.96a	5.96	6.17
1.0	5.63	5.67	5.46b	5.59	5.87
Uji F	tn	tn	*	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

\*berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

\*\*berbeda sangat nyata pada Uji F dengan taraf 1 %

Perlakuan 0 mg/l BAP menghasilkan jumlah buku per tunas tertinggi (Tabel 3). Hal ini diduga tunas karena terjadinya kontaminasi yang tinggi pada beberapa media perlakuan sehingga dilakukan pemotongan bagian tunas yang terkena kotaminasi.

Perlakuan 0 mg/l BAP menghasilkan jumlah buku per tunas tertinggi (Tabel 3). Hal ini diduga tunas karena terjadinya kontaminasi yang tinggi pada beberapa media perlakuan sehingga dilakukan pemotongan bagian tunas yang terkena kotaminasi.

Interaksi antara BAP dan NAA menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah buku per tunas. Perlakuan 0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA menghasilkan buku per tunas tertinggi.

Interaksi antara BAP dan NAA menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah buku per tunas. Perlakuan

0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA menghasilkan buku per tunas tertinggi.

Tabel 4. Interaksi BAP dan NAA terhadap Jumlah Buku Per Tunas pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

Perlakuan	Jumlah Buku Per Tunas Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
B0N1	6.29a	6.27ab	5.70abc	5.87b	6.07abc
B1N1	5.90ab	6.12ab	6.25abc	6.38ab	6.62ab
B2N1	6.61a	6.48ab	6.48ab	6.42ab	6.43ab
B3N1	5.91ab	5.84abc	5.82abc	5.79bc	6.04abc
B4N1	5.59ab	5.50abc	5.81abc	5.80bc	5.98bc
B5N1	5.31ab	5.50abc	5.67abc	5.51bc	5.88bc
B0N2	6.63a	6.74a	6.93a	7.23a	7.50a
B1N2	5.82ab	6.27ab	5.43bcd	5.70bc	5.97bc
B2N2	4.61b	4.67c	4.32d	4.47c	4.78c
B3N2	5.64ab	5.88abc	5.80abc	5.88b	6.04abc
B4N2	5.49ab	5.17bc	5.26bcd	5.22bc	5.68bc
B5N2	5.60ab	5.30bc	5.02cd	5.07bc	5.25bc
Uji F	*	*	**	**	**

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
\*berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
\*\*berbeda sangat nyata pada Uji F dengan taraf 1 %

### Jumlah Daun

Tabel 5. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Jumlah Daun pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*

BAP (mg/l)	Jumlah Daun Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
0.0	7.57a	8.97a	12.24a	15.40a	17.54a
0.5	7.44a	8.52ab	10.60a	15.48a	17.26a
1.0	6.53a	7.58a	9.76ab	12.16b	14.01a
1.5	7.01a	8.13a	11.86ab	15.38a	17.26a
2.0	6.63a	7.20a	10.78b	13.35a	15.70a
2.5	6.33a	7.59a	11.18b	13.18a	15.75a
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn
NAA (mg/l)					
0.5	7.06	8.12	11.25	14.18	16.06
1.0	6.78	7.88	10.89	14.13	16.45
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Tabel 6. Interaksi BAP dan NAA terhadap Jumlah Daun pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

Perlakuan	Jumlah Daun Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
B0N1	7.49a	8.46ab	10.63ab	13.26a	15.24a
B1N1	7.49a	8.73ab	11.25ab	14.75a	16.42a
B2N1	7.63a	9.09ab	12.30ab	13.92a	15.35a
B3N1	6.83a	8.18ab	11.92ab	15.53a	17.13a
B4N1	6.62a	7.41ab	11.41ab	14.92a	16.81a
B5N1	6.29a	6.86b	10.01ab	12.67a	15.40a
B0N2	7.66a	9.49a	13.84a	17.53a	19.84a
B1N2	7.39a	8.31ab	9.94ab	16.20a	18.13a
B2N2	5.43a	6.07b	7.22b	10.37a	12.67a
B3N2	7.18a	8.08ab	11.80ab	15.22a	17.38a
B4N2	6.64a	6.99ab	10.16ab	11.78a	14.59a
B5N2	6.38a	8.32ab	12.34ab	13.70a	16.09a
Uji F	tn	*	*	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
\*berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Pemberian BAP dan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah daun. Perlakuan 0 mg/l BAP menghasilkan jumlah daun tertinggi. Penambahan 1.0 mg/l NAA menunjukkan jumlah daun tertinggi.

Interaksi antara BAP dan NAA tidak nyata mempengaruhi jumlah daun. Perlakuan BAP 0 mg/l+ NAA

1.0 mg/l memiliki jumlah daun tertinggi. Jumlah daun terendah dihasilkan pada perlakuan 2 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA. Menurut Wattimena *et.al.* (1992), pembentukan tunas adventif memerlukan sitokinin dalam taraf konsentrasi tinggi tetapi diperlukan juga auksin dalam taraf konsentrasi yang rendah. Atau pada proliferasi tunas aksilar hanya memerlukan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi tanpa auksin atau auksin dalam konsentrasi yang rendah. Hal ini berkebalikan dengan data hasil pengamatan. Perbedaan ini diduga karena adanya tingkat kontaminasi yang tinggi serta tidak dilakukannya subkultur berulang. Peningkatan tunas umumnya berbanding lurus dengan peningkatan jumlah daun.

### Jumlah Akar

Akar baru muncul pada buku eksplan. Akar baru yang muncul berwarna putih kehijauan. Penggunaan arang aktif pada percobaan ini bukan sebagai perlakuan, namun mempengaruhi peningkatan jumlah akar. Menurut Goerge & Sherrington (1984), Pengaruh arang aktif dalam media yaitu untuk mengabsorpsi senyawa-senyawa toxic yang dapat menghambat pertumbuhan kultur, mendorong morfogenesis, dan untuk mendorong pembentukan akar.

Penambahan BAP pada percobaan nyata mempengaruhi jumlah akar. Jumlah akar tertinggi terdapat pada perlakuan 0 mg/l BAP. Wattimena *et al.* (1992) menyatakan bahwa sitokinin dalam kultur jaringan berpengaruh terhadap proses pembelahan sel, proliferasi tunas ketiak, penghambatan akar, dan induksi umbi pada mikro kentang. Perlakuan NAA tidak berbeda nyata dalam jumlah akar. Pemberian NAA dalam konsentrasi tinggi (1.0 mg/l) menghasilkan jumlah akar tertinggi (tabel 7).

Tabel 7. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Jumlah Akar pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

BAP	Jumlah Akar Pada Minggu Ke- MST				
	4	8	12	16	20
0.0	6.15	7.61a	9.52a	11.78ab	13.68a
0.5	6.37	7.28ab	8.44abc	11.57abc	13.52ab
1.0	5.40	6.56abc	7.56bc	9.59bc	10.26c
1.5	5.95	6.96ab	9.21ab	11.98a	13.38ab
2.0	5.38	6.08bc	7.41bc	9.28c	10.82c
2.5	4.82	5.66c	7.22c	9.53bc	11.09bc
Uji F	tn	*	*	*	*
NAA (mg/l)					
0.5	5.86	6.78	8.45	10.54	11.91
1.0	5.50	6.60	8.00	10.70	12.33
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
\*berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Tabel 8. Interaksi BAP dan NAA terhadap Jumlah Akar pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

Perlakuan	Jumlah Akar Pada Minggu Ke- MST				
	4MST	8MST	12MST	16MST	20MST
B0N1	5.91a	6.97a	8.83a	10.53a	12.13a
B1N1	6.40a	7.02a	8.50a	11.03a	12.63a
B2N1	6.22a	7.71a	9.09a	10.51a	11.52a
B3N1	5.79a	6.83a	9.29a	11.77a	13.19a
B4N1	5.30a	6.10a	7.66a	9.67a	11.34a
B5N1	5.51a	6.02a	7.31a	9.72a	10.68a
B0N2	6.39a	8.26a	10.21a	13.03a	15.22a
B1N2	6.33a	7.53a	8.38a	12.10a	14.40a
B2N2	4.58a	5.40a	6.02a	8.67a	9.00a
B3N2	6.10a	7.09a	9.13a	12.19a	13.58a
B4N2	5.46a	6.06a	7.16a	8.90a	10.29a
B5N2	4.13a	5.29a	7.12a	9.33a	11.51a
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Interaksi antara BAP dan NAA pada Tabel 8 tidak nyata mempengaruhi jumlah akar. Jumlah akar tertinggi dari

minggu ke6 sampai dengan minggu k-20 dihasilkan pada media B0N2 (0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA). Menurut Wattimena *et al* (1992), sitokinin dapat menghambat akar dalam kultur jaringan tanaman. Nisbah auksin-sitokinin yang tinggi akan mendorong morfogenesis akar.

### Tinggi Tunas

Tinggi tunas diukur pada saat awal pengamatan (1 MST) dan pada akhir pengamatan (20 MST). Pemberian BAP dan NAA pada percobaan tidak nyata berpengaruh terhadap tinggi tunas. Perlakuan 1.5 mg/l BAP menghasilkan tinggi tunas tertinggi. Perlakuan 0.5 mg/l NAA merupakan perlakuan dengan tinggi tunas tertinggi (Tabel 9)

Tabel 9. Pengaruh penambahan BAP dan NAA terhadap Tinggi Tunas pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

BAP	Tinggi Tunas (cm) Minggu Ke -MST	
	1	20
0.0	4.25a	4.37a
0.5	4.05a	4.23a
1.0	4.43a	4.11a
1.5	3.98a	4.45a
2.0	3.46a	4.29a
2.5	3.24a	3.86a
Uji F	tn	tn
NAA (mg/l)	Tinggi Tunas (cm) Minggu Ke -MST	
0.5	4.14a	4.32a
1.0	3.66a	4.12a
Uji F	tn	tn

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %

Interaksi antara NAA dan BAP nyata mempengaruhi tinggi tunas. Perlakuan 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA memiliki tinggi tunas tertinggi (Tabel 10). Chowdhury *et.al.* (2003) melaporkan bahwa penambahan BAP (0.5 mg/L) dan kombinasi 1 mg/l BAP + 1 mg/l NAA mampu merangsang panjang daun dan panjang tunas pada tanaman anggrek *Doritaenopsis* Hal ini diduga karena tinggi tunas dipengaruhi oleh jumlah daun dan jumlah buku per tunas.

Tabel 10. Interaksi antara BAP dan NAA terhadap Rata-rata Tinggi Tunas pada *Grammatophyllum scriptum*.

Perlakuan	Rata-Rata Tinggi Tunas (cm) Minggu Ke -MST	
	1	20
B0N1	4.01b	3.83ab
B1N1	3.91b	4.15ab
B2N1	5.97a	4.96a
B3N1	4.02b	4.48ab
B4N1	3.67b	4.61a
B5N1	3.25b	3.88ab
B0N2	4.49b	4.91a
B1N2	4.19b	4.32ab
B2N2	2.90b	3.26b
B3N2	3.93b	4.42ab
B4N2	3.24b	3.97ab
B5N2	3.23b	3.83ab
Uji F	**	*

Keterangan : \*berbeda nyata pada Uji F dengan taraf 5 %

\*\*berbeda sangat nyata pada Uji F dengan taraf 1 %

### Persentase Keberhasilan Aklimatisasi

Pemilihan bibit meliputi jenis anggrek, keadaan bibit yang sehat dan steril, pertumbuhan bibit seimbang antara batang, akar, dan daun. Batang kekar, warna daun hijau tua dan segar, akar panjang dan lurus dengan arah yang berlawanan dengan pertumbuhan pucuk.

Planlet yang diaklimatisasi dari hasil perbanyakan *in vitro* dalam media GDB pada berbagai kombinasi perlakuan BAP dan NAA memiliki daya hidup dan daya tumbuh yang baik, serta memiliki persentase keberhasilan aklimatisasi sebesar 100% setelah 4 minggu diaklimatisasi.

Tabel 11. Persentase Keberhasilan Aklimatisasi pada *Grammatophyllum scriptum* secara *in vitro*.

Perlakuan	Jumlah Planlet diaklimatisasi	Jumlah Planlet Hidup	Jumlah Planlet Mati	Persentase Keberhasilan Aklimatisasi (%)
B0N1	3	3	0	100
B1N1	3	3	0	100
B2N1	3	3	0	100
B3N1	3	3	0	100
B4N1	3	3	0	100
B5N1	3	3	0	100
B0N2	3	3	0	100
B1N2	3	3	0	100
B2N2	3	3	0	100
B3N2	3	3	0	100
B4N2	3	3	0	100
B5N2	3	3	0	100

Keterangan : Data persentase keberhasilan aklimatisasi tidak diolah secara statistik

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Persentase kultur terkontaminasi pada media perlakuan tinggi. Persentase kontaminasi rata-rata per perlakuan tertinggi pada perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA sebesar 23.08%. Persentase eksplan hidup rata-rata per perlakuan terendah yaitu pada perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA sebesar 77.78% akibat kultur terkontaminasi. Rata-rata waktu muncul tunas yaitu pada 2 Minggu Setelah Tanam, pada perlakuan 2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA.

Hasil uji F menunjukkan bahwa perlakuan BAP dan NAA tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar. Perlakuan BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah buku per tunas dan tinggi tunas. Interaksi antara BAP dan NAA berpengaruh nyata pada peubah buku per tunas dan tinggi tunas. Perlakuan dengan jumlah tunas tertinggi diperoleh dari perlakuan 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA yaitu sebesar 4.6 tunas. Perlakuan 0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA memiliki jumlah akar, daun, dan buku per tunas terbesar, yaitu masing-masing sebesar 15.2 akar, 19.8 helai, dan 7.50 buku. Perlakuan 1.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA menghasilkan tinggi tunas tertinggi yaitu 4.96 cm. Perlakuan 0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA menghasilkan jumlah tunas total tertinggi yaitu sebesar 105.2 tunas, dan jumlah buku per tunas tertinggi sebesar 788.7 buku. Setelah 20 minggu dikulturkan planlet dengan jumlah total tunas terbesar dapat dijadikan sebagai bibit, dan planlet dengan jumlah buku per tunas terbesar dijadikan sumber propagula untuk perbanyakan.

Planlet *Grammatophyllum scriptum* hasil aklimatisasi memiliki daya hidup dan daya tumbuh yang baik, dengan persentase keberhasilan aklimatisasi sebesar 100 % setelah 4 minggu diaklimatisasi pada seluruh perlakuan.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan media yang lebih baik dari penelitian sebelumnya dengan cara menambahkan taraf konsentrasi NAA, sehingga kombinasi BAP dan NAA menjadi lebih beragam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhadra, S. K. and M. M Hossain. 2003. *In vitro* germination and mikropropagation of geodorum densiflorum (Lam.) Schltr., an Endangered Orchid Species. *Plant Tissue Cult.* 13(2) : 165-171.
- Chowdhury, Israt. Abu Reza Md, Mahfuzur Rahman, M. Obaidul Islam, and S. Matsui. 2003. Effects of Plant Growth Regulator on Callus Proliferation, Planlet Regeneration and Growth of Planlet Of *Doritaenopsis* Orchid. *Biotechnology.* Vol.2(3):214-221.

- George, F.E. and Paul Sherrington. 1984. Plant Propagation By Tissue Culture. Exegetics Ltd. England. 709 p.
- Haddix, L.M. and Marihelen Glass. 2004. In Vitro Shoot and Leaf Proliferation of *Encyclia tampensis* (Lindl.) Orchids. Proceeding 33<sup>rd</sup> PGRSA Annual Meeting. 201-203 p.
- Irawati. 2001. Konservasi anggrek di Indonesia. Seminar East Java Orchid Show - May 26<sup>th</sup>-31<sup>st</sup>, Purwodadi : Kebun Raya Purwodadi.
- Lembaga Biologi Nasional LIPI. 1980. Jenis-jenis Anggrek. Balai Pustaka. Jakarta. 97 hal.
- Rimando, Tito J. 2001. Ornamental Horticulture A Little Giant in The Tropics. SEAMO SEARCA and UPLB. Philipines. 99 p.
- Santoso, Untung. 1999. Induksi embrio somatik *Grammatophyllum speciosum* Bl. pada media vacin-went dengan kombinasi NAA dan BAP. Diakses dari situs <http://digilib.unikom.ac.id/go.php?id=jiptumm-gdl-res-1999-untung-1253-induksi> . Tanggal 3 April 2008.
- Talukder, S.K., K.M. Nasiruddin, S. Yasmin, L. Hassan, and R. Begum. 2003. Shoot Proliferation of *Dendrobium* Orchid With BAP and NAA. Journal of Biological Sciences 3(11):1058-1062.
- Teng, W. L., L. Nicholson and M. C . Teng. 1997. Micropropagation of *Spathoglottis plicata*. Plant Cell Reports 16 : 831-835
- Wattimena, G.A., Livy Winata Gunawan, Nurhayati Ansori Matjik, Endang Syamsudin, Ni Made Armini Wiendi, Andri Ernawati. 1992. Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dalam Kultur Jaringan Tanaman. Hal 64-77. *Dalam: Bioteknologi Tanaman*. Insitut Pertanian Bogor. Bogor. 309 hal

Lampiran 1. Rekapitulasi Hasil Uji F Pengaruh Perlakuan BAP (B), NAA (N), dan Interaksinya (Bxn) Terhadap Eksplan Hidup (%), Jumlah Tunas, Jumlah Daun, Jumlah Akar, Jumlah Buku Per Tunas pada Planlet *Grammatophyllum Scriptum*.

Peubah	Umur Eksplan (MST)	Perlakuan			KK (%)
		B	N	B x N	
Jumlah Tunas	2	*	tn	tn	11.16
	4	tn	tn	tn	11.16
	6	tn	tn	tn	11.16
	8	tn	tn	tn	14.94
	10	tn	tn	tn	16.52
	12	tn	tn	tn	16.86
	14	tn	tn	tn	16.69
	16	tn	tn	tn	15.55
	18	tn	tn	tn	16.84
	20	tn	tn	tn	17.73
Jumlah Daun	2	tn	tn	tn	13.71
	4	tn	tn	tn	11.58
	6	*	tn	tn	14.47
	8	tn	tn	*	14.47
	10	tn	tn	tn	16.15
	12	tn	tn	*	19.71
	14	tn	tn	tn	17.23
	16	tn	tn	tn	16.18
	18	tn	tn	*	15.82
	20	tn	tn	tn	15.87
Jumlah Akar	2	**	tn	tn	14.16
	4	tn	tn	tn	16.71
	6	*	tn	tn	16.26
	8	*	tn	tn	14.02
	10	*	tn	tn	16.85
	12	*	tn	tn	17.88
	14	tn	tn	tn	18.62
	16	*	tn	tn	16.79
	18	*	tn	tn	17.12
	20	*	tn	tn	16.21
Jumlah Buku Per Tunas	2	tn	tn	tn	14.22
	4	tn	tn	*	11.18
	6	**	tn	*	10.14
	8	**	tn	*	9.77
	10	*	tn	**	9.04
	12	tn	*	**	11.54
	14	*	tn	**	11.06
	16	*	tn	**	10.65
	18	*	tn	*	10.95
	20	*	tn	**	9.95

Keterangan : tn Tidak berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
 \* Berbeda nyata pada uji F dengan taraf 5 %  
 \*\* Berbeda sangat nyata pada uji F dengan taraf 1%