

**OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN MULTIPLIKASI LINI KLON PLBS ANGGREK
Spathoglottis plicata BLUME MELALUI MODIFIKASI KOMPOSISI MEDIUM
MS DAN SITOKININ¹⁾**

***Optimization of Growth and Multiplication of PLBs Orchid Clone Line
Spathoglottis plicata Blume through Composition Modified MS Medium
and Cytokinin¹⁾***

**Atra Romeida²⁾, Surjono Hadi Sutjahjo³⁾, Agus Purwito³⁾,
Dewi Sukma³⁾, dan Rustikawati²⁾**

ABSTRACT

This experiment was aimed to obtain the best combination formulations of vitamin and sucrose concentrations of the medium, and the best combination between types of cytokinins and its concentration on inducing the best multiplication of line clone Protocorm Like Bodies (PLBs) *Spathoglottis plicata* orchid in lagre number using Murashige and Skoog (MS) solid medium in vitro. PLBs were used as an explant materials was grown on MS modification medium that they were accordance with the treatment. This experiment was arranged in Completely Randomized Design (CRD) with two factors. The first factors was formulations of vitamin composition and concentrations of sugar medium with consists of four different formulations (J1 = vitamin MS + sucrose 30 g L⁻¹, J2 = vitamin B5 + sucrose 30 g L⁻¹, J3= vitamin MS + sucrose 40 g L⁻¹, J4 = vitamin B5 + sucrose 40 g L⁻¹). The second factors was seven level combination of cytokinin types and it concentrations (S0 = without cytokinin (controle), S1 = 20 µM BA, S2 = 40 µM BA, S3 = 20 µM kinetin, S4 = 40 µM kinetin, S5 = 75 ml L⁻¹ coconut milk, and S6 = 150 ml L⁻¹ coconut milk). The best growth and multiplication of PLBs orchid *S. plicata* produced on MS medium B5 vitamins modification combined with 30 g L⁻¹ sucrose concentration. There were available on MS medium enrichment with 75 ml L⁻¹ coconut milk as well as on MS medium supported by 20 µM BA based on the highest number of PLBs per explant, number of plantlets per explant, number of roots formed, plantlet height and visual appearance and performance of the observations at 6 mst.

Keywords : Orchid, *Spathoglottis plicata*, Cytokinin, Benzyl Adenin, Coconut milk, in vitro

PENDAHULUAN

Anggrek *Spathoglottis plicata* Blume. Merupakan salah satu jenis anggrek tanah (*terrestrial*) yang banyak terdapat di Bengkulu dan dapat tumbuh pada tempat-tempat yang marginal dan kurang subur (Romeida 2008). Namun keberadaan anggrek ini masih belum begitu diminati, karena warna bunganya yang sangat terbatas (pink sampai ungu), tergantung tempat tumbuhnya. Selain itu, anggrek *S. plicata* masih memiliki kelemahan antara lain mekar bunga yang tidak bersamaan, bunga cepat layu, penampilan tanaman yang kurang proporsional karena memiliki daun yang sangat besar dibandingkan dengan bunganya yang sangat kecil, tangkai bunga yang terlalu panjang sehingga mudah rebah dan bunganya kecil-kecil. Dengan demikian maka masih banyak yang perlu dikaji supaya mendapatkan tanaman yang proporsional, sesuai dengan selera konsumen. Walaupun masih banyak

kekurangannya, ada *trend* yang mulai berkembang saat ini, yaitu penggunaan anggrek *S. plicata* sebagai ornament taman dan sebagai tanaman border. BALITHI Segunung mulai tahun 2007 sudah melepas 3 varietas baru hasil persilangan yaitu *Spathoglottis* var. Kartika, var. Bintang Segunung dan var. Ani Bambang Yudhoyono (Kartikaningrum *et al.*, 2007)

Penggunaan zat pengatur tumbuh sitokinin alami maupun sintetik untuk memacu multiplikasi dan pertumbuhan tunas mikro sudah digunakan secara luas pada berbagai jenis tanaman, namun jenis dan konsentrasinya berbeda-beda untuk berbagai jenis tanaman. Penggunaan sitokinin juga sangat penting untuk perbanyak *in vitro* berbagai jenis anggrek termasuk anggrek *S. plicata*. Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sangat berperan dalam proses proliferasi sel (Ramirez-Parra, 2005), menginduksi pembelahan sel serta pembentukan dan perkembangan tunas (Mok, 1994), mengaktifkan pucuk tunas lateral yang dorman (Napoli, *et al.*, 1999) serta memperlambat *senescence* (Gan dan Amasino, 1995). Umumnya anggrek sudah dapat tumbuh baik tanpa penambahan sitokinin pada medium tanamnya. Namun dengan penambahan sitokinin dapat memacu multiplikasi PLB dan plantlet menjadi lebih cepat.

Multiplikasi PLB dan plantlet anggrek *Dendrobium* Cv. Thampomas tercepat dan tertinggi didapat pada Media MS dengan penambahan 3 ppm BAP (Romeida, 2004), sedangkan untuk anggrek *Dendrobium* silangan (Cv. Thampomas X Cv. Jaq. Hawaii) di dapat pada media MS dan Media Knudson C dengan penambahan 2% arang aktif dan 5 ppm BAP (Romeida dan Hidayanti 2005). Jumlah plantlet terbanyak anggrek *Dendrobium* Chao Praya Smile dihasilkan pada medium MS dengan penambahan 4,4 μ M BA (Hee *et al.*, 2009). Pembentukan embrio somatik sekunder dan perkembangannya menjadi plantlet kopi Arabika dihasilkan pada medium dengan penambahan 0,6 μ M IAA dan 22,2 μ M BAP (Oktavia *et al.*, 2003).

Sementara Seeni dan Latha, 1992, melaporkan bahwa regenerasi eksplan daun anggrek *Red Vanda* (*Rhenanthera imschootiana*) pada medium Mira *et al.* (1976) dengan penambahan 44,4 μ M BA, 17,7 μ M NAA, 2 g/l sukrosa dan 2 g/L pepton menghasilkan kalus mulai dari 10 sampai 12 minggu setelah tanam. Perkembangannya membentuk PLB baru terjadi pada medium yang diperkaya dengan 10% air kelapa dan 35 g/L bubur buah pisang setelah 12 minggu kemudian. PLB yang berkembang menjadi tunas baru terjadi setelah 12 minggu berikutnya lagi. Jumlah tunas tertinggi (multiplikasi tunas tertinggi) dihasilkan pada anggrek *Blue Vanda* yang mampu mencapai 40 tunas per eksplan juga dihasilkan pada medium yang sama dengan medium untuk *Red Vanda* hanya konsentrasi air kelapa ditingkatkan menjadi 15% (Seeni dan Latha, 2000).

Penggunaan medium MS dengan modifikasi vitamin medium menggunakan B5 telah pula dilakukan untuk meningkatkan multiplikasi dan meningkatkan ketegaran tanaman sebelum diaklimatisasi. Ahmad *et al.* (2007) menyatakan bahwa penggunaan 30 g/L sorbitol dapat meningkatkan proliferasi tunas dan akar, mampu meningkatkan berat basah akar pada batang bawah peach G 677. Sementara, Kenyo (2002), melaporkan bahwa medium $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan 60-90 g/L sukrosa mampu mempertahankan pertumbuhan optimum Lili kultivar Avignon dan Bergamo, tanpa menyebabkan pertumbuhan abnormal selama percobaan *in vitro*. Selain itu

pembentukan rimpang mikro jahe Gajah dapat pula distimulasi dengan pemberian 4,61 ppm BAP dan 30 g/L sukrosa (Marlin 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi komposisi vitamin dan konsentrasi gula medium yang paling tepat untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan plantlet anggrek *S. plicata*. Mendapatkan jenis dan konsentrasi sitokinin terbaik dalam memproduksi pertumbuhan dan multiplikasi PLB dan plantlet lini klon anggrek *S. plicata* dalam jumlah besar secara *in vitro*. Mengevaluasi pengaruh interaksi kedua faktor perlakuan dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan plantlet anggrek *S. plicata* sampai 6 minggu setelah tanam (mst).

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB, pada bulan Agustus hingga Oktober 2010. Bahan tanam yang digunakan adalah lini klon PLB anggrek *S. plicata* yang dihasilkan dari multiplikasi 1 biji anggrek yang dikultur pada medium MS selama 6 mst.

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah formulasi vitamin dan konsentrasi gula yang terdiri dari empat macam formulasi yaitu J1 = vitamin MS + gula 30 g/l, J2 = vitamin B5 + gula 30 g/l, J3 = vitamin MS + gula 40 g/l, J4 = vitamin B5 + gula 40 g/l. Faktor kedua adalah penambahan sitokinin (3 jenis dengan 2 taraf konsentrasi) yang terdiri dari 7 kombinasi perlakuan yaitu S0 = tanpa sitokinin (kontrol), S1 = BA 20 μ M, S2 = BA 40 μ M, S3 = kinetin 20 μ M, S4 = kinetin 40 μ M, S5 = air kelapa 75 ml/L, dan S6 = air kelapa 150 ml/L. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak lima kali (5 botol kultur). Medium dasar yang digunakan dalam percobaan ini adalah medium Murashige dan Skoog (MS) yang telah dimodifikasi sesuai dengan perlakuan. Setiap botol kultur diisi medium sebanyak 20 ml/botol, selanjutnya diinkubasi selama 1 minggu untuk mengetahui apakah medium benar-benar sudah steril. Medium yang steril selanjutnya ditanam dengan 10 PLB yang sudah memanjang, tapi belum berkembang sempurna membentuk plantlet dengan ukuran tinggi rata-rata 0,5 -1,0 cm.

Pengamatan karakter kualitatif seperti warna plantlet, warna daun, dilakukan secara visual setiap minggu. Sedangkan karakter pertumbuhan (kuantitatif) yang diamati setiap minggu meliputi jumlah anakan, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar. Pengamatan tinggi plantlet dilakukan pada akhir percobaan atau pada saat sub kultur.

Untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan yang diberikan, dilakukan uji F pada taraf 5 % untuk karakter kuantitatif. Bila terdapat beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) pada taraf 5%. Data kualitatif akan dibuat tabulasi dan ditampilkan secara visual menggunakan foto.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Modifikasi komposisi medium tanam dengan mengubah formulasi komposisi vitamin dan konsentrasi gula yang terdapat di dalam medium MS memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf uji F 5% terhadap jumlah PLB akhir (multiplikasi PLB), jumlah plantlet, jumlah daun, jumlah akar dan tinggi plantlet pada 6

minggu setelah tanam (mst). Hasil uji lanjut menggunakan UJBD pada taraf 5% disajikan pada Tabel 1. Perbedaan kombinasi jenis dan konsentrasi sitokinin di dalam medium MS (7 kombinasi perlakuan) yang digunakan sebagai medium tanam percobaan multiplikasi PLBs anggrek *S. plicata* memberikan respon berbeda nyata pada taraf uji F 5% terhadap jumlah PLB akhir (multiplikasi PLB), jumlah plantlet, jumlah daun, jumlah akar dan tinggi plantlet pada 6 minggu setelah tanam (mst). Hasil uji lanjut menggunakan UJBD pada taraf 5% disajikan pada Tabel 2. Tidak terdapat pengaruh interaksi yang nyata kedua faktor perlakuan yaitu antara komposisi medium (formulasi vitamin dan gula) dengan sitokinin (jenis dan konsentrasinya) terhadap semua karakter pertumbuhan dan multiplikasi PLBs anggrek *S. plicata* pada 6 mst.

Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan (UJBD) pada taraf 5% seperti disajikan pada Tabel 1, modifikasi formulasi vitamin B5 dengan konsentrasi gula 30 g L⁻¹ merupakan kombinasi terbaik dalam multiplikasi PLBs anggrek *S. plicata*. Kombinasi perlakuan tersebut mampu menghasilkan multiplikasi tertinggi dan berbeda nyata dengan ketiga kombinasi perlakuan lainnya, dengan kriteria jumlah PLB akhir terbanyak yaitu 31 PLB baru per eksplan. Jumlah PLB yang berkembang menjadi plantlet juga sangat tinggi yaitu 13,1 plantlet per eksplan dengan jumlah daun mencapai 4,4 helai per plantlet. Kedua karakter pertumbuhan vegetatif tersebut merupakan indikator dari taraf multiplikasi yang sangat penting dalam produksi benih massal. Sementara untuk karakter jumlah akar terbanyak yaitu 2,8 helai per plantlet dan tinggi plantlet tertinggi yaitu 6,8 cm juga dihasilkan dengan modifikasi Vitamin B5 dengan peningkatan konsentrasi gula medium MS menjadi 40 g L⁻¹ (Tabel 1).

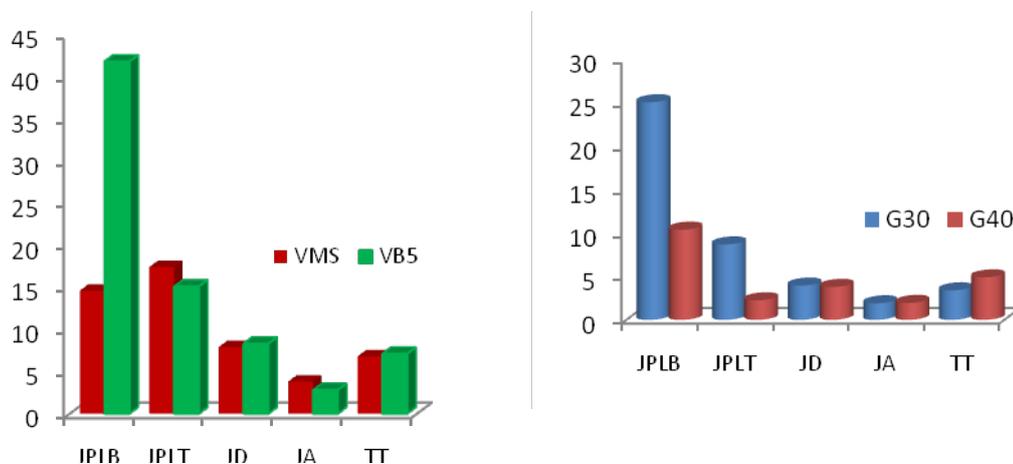
Tabel 1. Pengaruh Formulasi Komposisi Vitamin dan Konsentrasi Gula Medium terhadap Pertumbuhan PLB Anggrek *S. plicata* pada 6 mst.

Komposisi vitamin dan konsentrasi gula	Peubah yang diamati pada 6 MST				
	JPLB (PLBs/eksplan)	JPLT (plantlet/eksplan)	JD (helai/plt)	JA (helai/plt)	TT (cm)
J1 (Vitamin MS + gula 30 g/L)	19,20 b	4,30 b	3,50 a	2,10 ab	2,70 c
J2 (Vitamin B5 + gula 30 g/L)	31,00 a	13,10 a	4,40 a	1,70 ab	4,10 bc
J3 (Vitamin MS + gula 40 g/L)	10,00 c	2,00 c	3,90 a	1,10 b	3,00 bc
J4 (Vitamin B5 + gula 40 g/L)	10,80 c	2,50 c	3,70 a	2,80 a	6,80 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada UJBD taraf 0,0

Perbedaan formulasi komposisi vitamin medium juga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap karakter yang diamati. Penggunaan vitamin B5 lebih baik dibandingkan dengan vitamin MS (standar) dalam multiplikasi PLB guna menghasilkan PLB baru dalam jumlah besar. Jumlah PLB akhir rata-rata yang dihasilkan mencapai 41,8 PLBs per eksplan setelah 6 mst. Kecepatan multiplikasi PLBs anggrek *S. plicata* sangat penting dalam produksi lini klon guna menghasilkan bahan tanam yang seragam. Sementara untuk Jumlah plantlet akhir, jumlah daun,

jumlah akar dan tinggi plantlet berdasarkan UJBD 5% tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Gambar 1). Penampilan pengaruh modifikasi vitamin dan konsentrasi gula terhadap pertumbuhan dan multiplikasi PLB disajikan pada Gambar 2. Komposisi vitamin B5 ternyata mengandung konsentrasi beberapa senyawa organik yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan komposisi vitamin MS. Perbandingan konsentrasi vitamin B5 (Gamborg B-5 medium) dengan vitamin MS adalah konsentrasi Nicotinic acid 2 x lebih tinggi, Thiamin-HCl 20 x lebih tinggi, dan Pyridoxine-HCl 10 x lebih tinggi. Namun ada kelebihan vitamin MS yaitu mengandung asam amino Glycine dengan konsentrasi 2 ml L⁻¹ sementara vitamin B5 tidak terdapat Glycine (Gamborg, 2002). Beberapa tanaman seperti wortel sangat membutuhkan asam amino sebagai sumber NH² sebagai nitrogen tereduksi yang berfungsi sebagai buffer yang mampu menjaga kestabilan pH medium terutama dalam menginduksi pembentukan embrio somatiknya (Ramage dan Williams, 2002 serta Dahleen dan Bregitzer, 2002). Namun untuk anggrek ternyata ada atau tidak nya glycine tidak terlalu berpengaruh terhadap pertumbuhan dan multiplikasi PLB.



Gambar 1. Pengaruh Formulasi jenis vitamin dan konsentrasi gula medium MS terhadap Multiplikasi PLB Anggrek *S. plicata* pada 6mst.

Kiri : Modifikasi Vitamin, Kanan : Modifikasi Gula.

Konsentrasi gula di dalam medium tanam juga berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan multiplikasi PLB anggrek *S. plicata*. Konsentrasi gula 30 g L⁻¹ merupakan konsentrasi terbaik untuk multiplikasi PLB karena mampu menghasilkan jumlah PLB akhir tertinggi (25,1 PLBs/PLB) dan jumlah PLB yang mampu berkembang menjadi Plantlet (8,7 plantlet/PLB), peningkatan konsentrasi gula medium menyebabkan menurunnya pembentukan PLB (Gambar 1). Konsentrasi gula terlalu tinggi dapat menyebabkan medium menjadi terlalu pekat sehingga konsentrasi medium menjadi lebih pekat dibandingkan dengan konsentrasi air di dalam sel. Akibatnya akan terjadi plasmolisis (Marlin, 2005).

Sementara untuk tinggi tanaman diperlukan konsentrasi gula yang lebih tinggi yaitu 40 g L⁻¹, karena pada tahap ini gula sangat dibutuhkan sebagai sumber energi dalam metabolisme sel. Kebutuhan energi diserap oleh PLB dari medium tanam

selanjutnya akan dirombak dalam proses glikolisis dan siklus sel guna mendapatkan energi yang sangat dibutuhkan untuk pembelahan dan diferensiasi sel. Gula juga akan dirubah menjadi selulosa akan menjadi komponen utama penyusun dinding sel. Di dalam botol kultur tanaman tidak melakukan fotosintesis oleh karena itu kebutuhan gula dipenuhi dari penyerapan langsung melalui medium tanam. Penampilan PLB akhir dan plantlet hasil percobaan modifikasi vitamin dan konsentrasi gula disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Penampilan Pengaruh modifikasi vitamin MS dan konsentrasi gula terhadap pertumbuhan dan Multiplikasi PLB pada 6 mst

Penambahan beberapa kombinasi jenis dan konsentrasi sitokinin (7 kombinasi perlakuan) memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah PLB akhir, jumlah plantlet akhir, jumlah akar dan tinggi tanaman, namun berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah daun pada taraf uji F 5%.

Hasil percobaan ini mendapatkan bahwa perlakuan medium MS dengan penambahan air kelapa 75 ml L^{-1} sangat baik dalam menginduksi pertumbuhan dan multiplikasi PLB, dengan kriteria tingginya jumlah PLB akhir yang terbentuk yaitu mencapai 11 PLBs per eksplan, jumlah plantlet akhir sebanyak 5,9 plantlet per eksplan, jumlah akar (2,6 helai/plantlet) dan tinggi plantlet yang terbentuk (4,72 cm/plantlet). Jumlah PLB akhir yang terbentuk tidak berbeda nyata dengan perlakuan peningkatan konsentrasi air kelapa menjadi 150 ml L^{-1} (9,6 PLB per eksplan) sama dengan jumlah PLB yang terbentuk pada medium MS dengan penambahan BA $20 \mu\text{M}$ (9,6 PLB per eksplan) setelah 6 mst (Tabel 2). Baiknya pertumbuhan dan multiplikasi PLB menggunakan air kelapa diduga anggrek lebih menyukai sitokinin alami, karena komposisi air kelapa lebih kompleks dibandingkan dengan sitokinin sintetik seperti BA dan kinetin. Air kelapa disamping mengandung zeatin juga terdapat diphenyl urea, gula dan beberapa senyawa organik lainnya (Mederos-Molina, 2004).

Jumlah plantlet tertinggi dihasilkan pada medium MS dengan penambahan BA $20 \mu\text{M}$ (6,4 plantlet per eksplan) dan medium MS dengan penambahan air kelapa 75 ml L^{-1} (5,9 plantlet per eksplan). Jumlah plantlet yang dihasilkan 2-3 kali lipat dibandingkan dengan perlakuan lainnya dalam meninduksi pertumbuhan dan multiplikasi PLB (Tabel 2).

Berbeda dengan jumlah PLB dan jumlah plantlet akhir yang terbentuk pada 6 mst, perbedaan jenis dan konsentrasi sitokinin tidak berpengaruh nyata terhadap

jumlah akar dan jumlah daun, karena rata-rata jumlah akar dan jumlah daun yang terbentuk sama dengan kontrol, bahkan dengan pemberian kinetin 20 μM , pembentukan akar justru semakin berkurang walaupun tidak berbeda nyata dengan kontrol dan paling sedikit yaitu 0,4 helai per plantlet (Tabel 2).

Tidak berpengaruhnya jumlah akar yang terbentuk dengan perlakuan sitokinin disebabkan karena sitokinin berfungsi memacu pembelahan sel dan multiplikasi tunas bukan untuk perakaran. Secara alami sitokinin di dalam tumbuhan diproduksi pada meristem tip akar dan ditranslokasi secara *acropetal* menuju ujung pucuk, selanjutnya berfungsi dalam pembelahan sel pada meristem tip pucuk atau ujung batang (Moore 1979). Penelitian ini sejalan dengan percobaan *in vitro* pada umumnya. Penggunaan sitokinin lebih tepat bila arah dan tujuan penelitian adalah untuk multiplikasi tunas bukan ke arah induksi dan perkembangan perakaran.

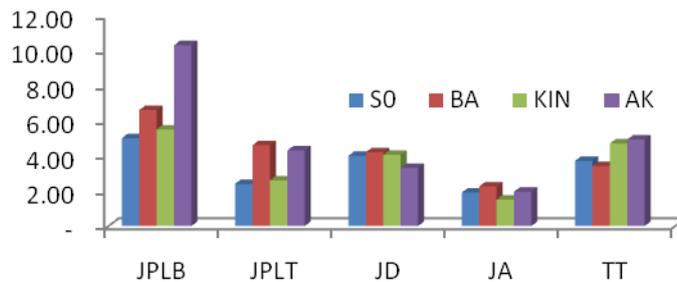
Tabel 2. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Pertumbuhan Plantlet *S. plicata* pada 6 mst.

Komposisi vitamin dan konsentrasi gula	Peubah yang diamati pada 6 MST				
	JPLB (plb/eksplan)	JPLT (plb/eksplan)	JD (helai/plt)	JA (helai/plt)	TT (cm)
S0 (Kontrol/tanpa sitokinin)	5,00 bc	2,40 bc	4,00 a	1,90 b	3,71 ab
S1 (BA 20 μM)	9,60 ab	6,40 a	3,90 a	2,30 a	3,92 ab
S2 (BA 40 μM)	3,60 c	2,80 bc	4,50 a	2,20 a	2,90 b
S3 (Kinetin20 μM)	6,80 b	1,50 c	4,40 a	0,40a	4,72 a
S4 (Kinetin 40 μM)	4,20 bc	3,70 bc	3,70 a	2,60 a	4,68 a
S5 Air Kelapa 75 ml L ⁻¹)	11,00 a	5,90 a	3,00 a	1,50 a	5,75 a
S6 (Air Kelapa 150 ml L ⁻¹)	9,60 ab	2,70 bc	3,60 a	2,40 a	4,11 ab

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada UJBD 0,05

Bila dibandingkan ketiga jenis sitokinin yang diberikan pada medium tanam angrek *S. Plicata* yaitu BA, kinetin dan air kelapa, terlihat bahwa untuk induksi pertumbuhan dan multiplikasi PLB sebaiknya menggunakan air kelapa, karena kecepatan multiplikasi PLB menjadi 2 kali lipat dibandingkan dengan kontrol, yaitu dari rata-rata 5 PLB per eksplan pada kontrol menjadi 10,3 PLB per eksplan dengan penambahan air kelapa ke dalam medium tanam (Gambar 3).

Penambahan air kelapa kedalam medium tanam dapat memacu perkembangan PLB menjadi plantlet dan tinggi tanaman dengan pengaruh yang sama baiknya dengan pemberian BA 20 μM . Sementara untuk pembentukan akar dan daun, perbedaan jenis sitokinin tidak berpengaruh, sehingga tidak ada pengaruhnya digunakan atau tidak, seperti umumnya perbanyak dengan teknik *in vitro*, untuk memacu pertumbuhan akar sebaiknya menggunakan auksin saja. Terdapat banyak keuntungan dengan penambahan air kelapa kedalam medium tanam, antara lain air kelapa mudah didapat dan harganya juga murah, sehingga sangat menguntungkan untuk perbanyak angrek dalam skala komersial nantinya.



Gambar 3. Pengaruh Jenis Sitokinin terhadap Multiplikasi PLB Anggrek *S. plicata* pada 6 mst.

Hasil penelitian ini diketahui pula bahwa penggunaan kinetin kurang baik untuk multiplikasi PLB anggrek *S. plicata* karena jumlah akhir PLB, plantlet, dan tinggi tanaman yang dihasil jauh lebih rendah dibandingkan dengan pemberian BA dan air kelapa. Penampilan visual hasil percobaan pengaruh penambahan beberapa jenis dan konsentrasi sitokinin ke dalam medium MS disajikan pada Gambar 4.

Jumlah PLB akhir, jumlah plantlet, jumlah daun yang banyak dan warna daun yang hijau tua dengan beberapa akar yang kuat dihasilkan pada medium MS dengan penambahan air kelapa, sementara akar yang besar, kuat dengan bulu akar yang sangat banyak dihasilkan pada medium MS dengan penambahan BA. Plantlet dengan kriteria yang demikian sangat dibutuhkan karena akan dapat beradaptasi dengan baik pada medium non aseptik setelah dilakukan aklimatisasi.



Gambar 4. Penampilan Pengaruh modifikasi vitamin MS dan konsentrasi Gula terhadap pertumbuhan dan Multiplikasi PLB pada 6 mst

Pembengkakan pangkal batang yang selanjutnya diikuti dengan keluarnya fenol dengan jumlah yang cukup banyak (memenuhi permukaan medium dan medium berubah warna menjadi coklat kehitaman) pada medium tanam hanya dijumpai pada perlakuan plantlet yang ditanam pada medium MS + vitamin B5 + gula ditingkatkan menjadi 40 g/L dan penambahan 150 ml/L air kelapa. Plantlet dengan kriteria yang seperti itu diduga akan dapat diarahkan untuk menginduksi pembungaan secara *in vitro*, karena ciri-ciri tunas yang demikian merupakan fase awal dari pembentukan

bunga secara *in vitro* pada anggrek *Dendrobium*. Sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Hee *et al.* (2009) pada anggrek *Dendrobium* Chao Praya Smile, Tee *et al.* (2008) pada anggrek *Dendrobium* Sonia-17, dan Sim *et al.* (2008) pada anggrek *Dendrobium* Madame Thong-In. Ketiga peneliti tersebut melaporkan bahwa induksi pembungaan pada ketiga jenis anggrek *Dendrobium* yang berbeda memiliki ciri-ciri dan tahapan yang sama, yaitu diawali dengan pembengkakan pangkal batang, tidak terbentuk akar, selanjutnya terjadi *bolting* (pemanjang ruas batang), muncul tangkai bunga (*inflouescent*) dan terakhir akan terbentuk bunga *fluorescent* secara *in vitro*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap karakter kualitatif dan kuantitatif, dapat diambil kesimpulan bahwa pertumbuhan dan multiplikasi PLB anggrek *S. plicata* terbaik dihasilkan pada medium MS dengan modifikasi vitamin B5 dan konsentrasi gula 30 g L⁻¹ dan pada medium MS dengan penambahan air kelapa 75 ml L⁻¹ serta pada medium MS dengan penambahan BA 20 µM dengan kriteria jumlah PLB akhir dan jumlah plantlet akhir tertinggi, jumlah akar dan tinggi tanaman serta penampilan visual hasil pengamatan pada 6 mst.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional melalui Penelitian Hibah Bersaing tahun I yang telah membiayai penelitian ini melalui dana DIPA Dit Litabmas nomor 0541/023-4.1.01/00/2011 tanggal 20 desember 2010 berdasarkan surat perjanjian nomor 026/SP2H/PL/ Dit.Litabmas/IV/2011 tanggal 14 April 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad TA, NA Abbasi, IA Hafiz and A Ali. 2007. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of Peach rootstock GF-677. Pak. J. Bot. 39(4) : 1269-1275
- Dahleen L S and P Bregitzer P. 2002. An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo-derived callus cultures of commercial cultivars. *Crop Science*. 42, 934–938.
- Gamborg O L. 2002 Plant tissue culture. Biotechnology. Milestones. *In vitro Cellular and Developmental Biology—Plant* 38, 84–92.
- Gan S and RM Amasino. 1995. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science* 270:1986-1988
- Hee KH, CS Loh and HH Yeoh. 2009. Early *in vitro* flowering and seed production in culture in *Dendrobium* Chao Praya Smile (Orchidase). *Plant Cell Rep* 26 : 2055-2062
- Kartikaningrum S, Y Sulyo, NQ Hayati, Suryanah dan YA Bety. 2007. Keragaan karakter kualitatif hasil persilangan anggrek *Spathoglottis*. *J. Hort. Edisi Khusus* (2) : 138-147.
- Kenyo A, HK Murdaningsih, T Herawati dan JS Darsa. 2002. Tanggap dua kultivar Lili terhadap kombinasi komposisi medium MS dan gula pasir untuk konservasi *in vitro*. *Zuriat* 13(2) : 87-96.

- Marlin. 2005. Pembentukan rimpang mikro jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) secara *in vitro* dengan pemberian Benzyl Amino Purine dan sukrosa. *Jurnal Akta Agrosia* 8(2) : 70-73
- Mederos-Molina S. 2004. *In vitro* Callus Induction and Plants from Stem and Petiole Explants of *Salvia canariensis* L. *Plant Tissue Cult.* 14(2) : 167-172
- Mok MC. 1994. Cytokinin : chemistry, activity and fuction. In *Cytokinin and plant development an overview* (ed. M. Mok DWS, MC). p.155-156. CRC. Boca raton, FL.
- Moore TC. 1979. *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. Springer-Verlag New York.
- Napoli CA, CA Beveridge, and KC Snowden. 1999. Reevaluating concept of apical dominance and the control of axillary bud outgrowth. *Curr. Top. Dev. Biol.* 44:127-169
- Oktavia F, Siswanto, A Budiani and Sudarsono. 2003. Embriogenesis somatik langsung dan regenerasi plantlet kopi arabika (*Coffea arabica*) dari berbagai eksplan. *Menara Perkebunan* 71(2) : 44-45
- Ramage C M. and RR Williams. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In vitro Cellular and Developmental Biology—Plant* 38, 116–124.
- Ramirez-Parra E, B Desvoyes, and C Gutierrez. 2005. Balance between cell division and differentiation during plant development. *Int.J.Dev.Biol.* 49:467-477
- Romeida A dan T Hidayanti. 2005. Multiplikasi plantlet anggrek *Dendrobium* cv. Thampomas x cv. Taq. Hawaii pada beberapa taraf konsentrasi BAP dan Arang Aktif secara *in vitro*. Laporan penelitian (tidak dipublikasi).
- Romeida A. 2008. Konservasi anggrek spesies endemik propinsi Bengkulu secara *ex situ* : Identifikasi anggrek spesies di Kabupaten Kepahiang Bengkulu. Laporan hasil penelitian Hibah Unggulan UNIB tahun anggaran 2007-2008.
- Romeida A. 2004. Romeida, A. dan I. A. Susanti. 2004. Aklimatisasi anggrek silangan *Dendrobium* cv. Thampomas x cv. Taq. Hawaii pada beberapa taraf konsentrasi pupuk daun bioplasma dan jenis media tanam. Laporan penelitian (tidak dipublikasi).
- Seeni S and PG Latha. 2000. *In vitro* multiplication and ecorehabilitation endangered Blue Vanda. *Plant cell. Tissue and organ Culture* 61 : 1-8.
- Seeni S and PG. Latha. 1992. Foliar regeneration of endangered Red Vanda (*Renanthera imschootiana* Rolfe) Orchidase. *Plant cell. Tissue and organ Culture* 29 : 167-172.
- Sim GE, CJ Goh and CS Loh. 2008. Induction of *in vitro* flowering in *Dendrobium* Madame Thong-In seedlings is associated with increase in endogenous N6-isopentenyl adenin (iP) dan N6- Δ^2 -isopentenyl-adenosin (iPA). *Plant Cell Rep.* 27 : 1281-1289.
- Tee CS, M Maziah and CS Tan. 2008. Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium* Sonia-17. *Biologia Plantarm* 52(4) : 723-726.