

Pemanfaatan Ekstrak Ragi dalam Kultur *In Vitro* Plantlet Media Anggrek

Widiastoety D. dan S. Kartikaningrum

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang, Pacet, Cianjur, 43253

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak ragi terhadap pertumbuhan *plantlet* anggrek dendrobium. Anggrek dendrobium merupakan salah satu jenis anggrek yang disukai konsumen. Tanaman anggrek umumnya menggunakan bibit anggrek asal kultur *in vitro*. Optimasi komposisi media untuk kultur *in vitro* sangat diperlukan untuk meningkatkan kemampuan multiplikasi maupun kualitas bibit. Salah satu cara optimasi media yaitu dengan pemberian bahan organik kompleks. Bahan penelitian ini adalah *plantlet* anggrek dendrobium yang ditumbuhkan dalam media Vacin & Went dengan penambahan air kelapa 150 ml/l, sukrosa 20 g/l, dan bubur pisang 50 g/l. Perlakuan-perlakuan disusun dalam rancangan acak kelompok dengan sembilan perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri atas penambahan ekstrak ragi ke dalam media kultur dengan konsentrasi: 0 (kontrol); 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 1,75; dan 2,00 g/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ragi dalam media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan *plantlet* anggrek dendrobium. Ekstrak ragi konsentrasi 1,25 g/l merupakan konsentrasi terbaik bagi pertumbuhan *plantlet* dilihat dari tinggi tanaman, luas daun, panjang, dan jumlah akar.

Kata kunci: Anggrek dendrobium; Ekstrak ragi; Media; *Plantlet*.

ABSTRACT. Widiastoety, D. and S. Kartikaningrum. 2003. The use of yeast extract in *in vitro* culture of orchid plantlets. The aim of this experiment was to investigate the effect of yeast extract on the growth of dendrobium plantlets. Dendrobium is one of the favourite orchid genera. The orchid plantations generally use orchid seedlings that are obtained through *in vitro* culture. Media optimization is a critical point for improving the capacity of seedling multiplication and quality. One of the methods to enrich the medium was the use of a complex organic mixture of yeast extract. The materials used in this research were dendrobium orchid plantlets that were cultivated in Vacin & Went medium with the addition of 150 ml/l of coconut water, 20 g/l of sucrose and 50 g/l of banana pulp. The treatments were laid in a randomized block design with nine treatments and three replications. The treatments were the addition of yeast extract into the culture medium of concentrations of 0 (control); 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; and 2.00 g/l. The results showed that the use of yeast in the culture media significantly increased growth of dendrobium plantlets. Concentration of 1.25 g/l was the best for the performance of plantlets in term of plants height, leaf size, root length and number of roots.

Keywords: Dendrobium orchid; Yeast extract; Media; *Plantlet*.

Dendrobium merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak disukai konsumen, karena bunganya tahan lama dan tidak mudah rontok, dengan bentuk dan warna yang sangat bervariasi, serta mudah dalam pengepakan. Peningkatan permintaan bunga anggrek memacu para petani untuk meningkatkan kualitas hasil dan kuantitas produksi. Untuk meningkatkan produksi anggrek diperlukan bibit bermutu prima dalam jumlah yang memadai. Oleh karena bibit anggrek umumnya diperbanyak melalui kultur *in vitro*, maka rekayasa media sangat diperlukan untuk menghasilkan tingkat multiplikasi yang tinggi maupun bibit yang berkualitas. Salah satu cara untuk mendapatkan bibit anggrek berkualitas prima yaitu dengan penambahan bahan organik kompleks ke dalam media tumbuh.

Ragi merupakan salah satu bahan organik alamiah kompleks yang diperoleh dari hasil samping dalam proses fermentasi suatu minuman dengan jasad renik khamir. Ekstrak ragi dapat

dimanfaatkan sebagai substrat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroorganisme serta sumber produksi enzim dalam skala besar. Ragi atau khamir tergolong dalam genus *Ascomycetes* yang berbentuk bulat, lonjong, dan panjang serta merupakan organisme uniseluler. Sel khamir mempunyai struktur yang terdiri atas membran sel, kapsul, sitoplasma, sentrosom, sentrokromatin, nukleus, vakuola, dan granula (Lindgren 1952), dan diyakini mengandung zat hara untuk pertumbuhan tanaman. Ekstrak ragi mengandung asam-asam amino, peptida, dan vitamin yang sangat bermanfaat bagi pertumbuhan *plantlet*. Menurut Green & Phillips (1974) penambahan ekstrak ragi 800 mg/l pada kultur *in vitro* jagung dapat memperbaiki pertumbuhan kalus. Menurut Wang *et al.* (1979) penggunaan ekstrak ragi dapat menyebabkan peningkatan pH media yang berpengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman.

Ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen berperan dalam proses fisiologis, seperti pembentukan protein, asam nukleat, dan koenzim. Di samping itu juga berperan dalam pertumbuhan sel serta menjaga dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim (Fukomoto *et al.* 1957). Nitrogen adalah unsur yang sangat diperlukan dalam pertumbuhan jaringan tanaman. Nitrogen merupakan komponen protein, asam nukleat, dan beberapa substansi penting lainnya yang dibutuhkan untuk pembentukan protoplasma dan berfungsi memperbaiki pertumbuhan vegetatif. Vitamin yang terkandung dalam ekstrak ragi antara lain thiamin, riboflavin, piridoksin, niasin, dan asam pantotenat. Vitamin-vitamin tersebut sering digunakan untuk *ingridien* pada media kultur jaringan. Thiamin sangat esensial dalam kultur *in vitro* walaupun dibutuhkan *plantlet* dalam jumlah sedikit. Pemberian thiamin dalam media kultur dapat merangsang pertumbuhan eksplan dan meningkatkan pertumbuhan akar.

Penelitian ini bertujuan mengetahui manfaat ekstrak ragi dalam mendorong pertumbuhan *plantlet* angrek dendrobium. Dalam penelitian ini diharapkan bahwa pemberian ekstrak ragi dengan konsentrasi tertentu dalam media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan *plantlet* angrek dendrobium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan Balai Penelitian Tanaman Hias di Jakarta mulai bulan Agustus 2001 sampai Februari 2002. Bahan penelitian yang digunakan adalah *plantlet* angrek dendrobium dengan ukuran tinggi 1–2 cm, jumlah daun 2–3, dan tanpa akar. Media tumbuh yang digunakan adalah Vacin & Went dengan penambahan air kelapa 150 ml/l, sukrosa 20 g/l, dan bubur pisang 50 g/l (Widiastoety & Bahar 1995; Widiastoety & Kusumo 1994; Widiastoety *et al.* 1997)

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan sembilan perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri atas penambahan ekstrak ragi ke dalam media kultur dengan berbagai konsentrasi, yaitu 0 g/l (kontrol), 0,25 g/l, 0,50 g/l, 0,75 g/l, 1,00 g/l, 1,25 g/l, 1,50 g/l, 1,75 g/l, dan 2,00 g/l ekstrak ragi (Merck).

Komposisi modifikasi media Vacin & Went disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi media Vacin and Went (Composition of Vacin & Went Media)

Komponen (Component)	g/l
Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,200
KNO ₃	0,525
KH ₂ PO ₄	0,250
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,250
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,500
Fe ₂ (C ₄ H ₄ O ₆) ₃ *	0,028
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,0075
Sukrosa	20
Air kelapa	150
Aquades	850
pH	4,8-5,2

* Dapat diganti dengan Fe khelat 1,14 g yang dilarutkan dalam 100 ml aquades, selanjutnya untuk setiap pembuatan media sebanyak 1 liter dibutuhkan 5 ml larutan Fe khelat tersebut.

Diperlukan dua macam larutan baku : yaitu A dan B. Dalam setiap liter larutan baku A mengandung: KNO₃ 5,250 g, KH₂PO₄ 2,500 g, (NH₄)₂SO₄ 5,000 g, dan MnSO₄ 4H₂O 0,075 g. Sedangkan larutan baku B mengandung: MgSO₄7H₂O 2,500 g per liter.

Pembuatan media

Ke dalam tabung yang berisi 250 ml aquades dimasukkan 5 ml Fe khelat, dan ke dalam tabung tersebut dimasukkan 100 ml larutan baku A dan 100 ml larutan baku B serta larutan Ca₃(PO₄)₂. Untuk melarutkan Ca₃(PO₄)₂ dipergunakan kira-kira 3 ml larutan 1 N HCl, kemudian dicampur dengan air kelapa 150 ml yang telah disaring tiga kali, sukrosa 20g, dan bubur pisang 50 g. Campuran dikocok dan volumenya dibuat menjadi 1 liter dengan aquades dan pH-nya diatur antara 4,8–5,2. Ditambahkan 7 g agar-agar, dan dipanaskan sampai semua agar-agar melarut. Setelah itu ke dalam media dimasukkan ekstrak ragi sesuai dengan perlakuan. Larutan media yang telah diberi perlakuan dituangkan ke dalam botol-botol yang telah disediakan dan disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 lbs selama 15 menit. Dalam satu botol berisi 50 ml media dan ditanami 10 *plantlet*. Pengamatan dilakukan terhadap 10 *plantlet*.

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Tinggi *plantlet*, pengukuran dilakukan mulai dari pangkal batang sampai ujung daun terakhir.
2. Panjang daun, pengukuran dilakukan mulai dari pangkal daun yang berbatasan dengan batang sampai ujung daun.
3. Lebar daun, pengukuran dilakukan pada bagian daun yang terlebar.
4. Luas daun, diperoleh dari rumus sbb:
Luas daun monokotil = $p \times l \times 0,905$ (Misra 1980)
 p = panjang
 l = lebar
5. Jumlah daun, dihitung dari banyaknya helai daun yang terdapat pada tiap-tiap *plantlet*.
6. Panjang akar, diukur dari pangkal akar yang berbatasan dengan batang sampai ujung akar.
7. Jumlah akar, dihitung dari banyaknya jumlah akar yang terdapat pada tiap-tiap *plantlet*.

Analisis data

Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak ragi optimal, dicari menggunakan grafik regresi, yang diambil dari bagian titik-titik data pada grafik kuadrat yang merupakan bagian dari grafik berbentuk kubik. Sebelum data dianalisis, data terlebih dahulu ditransformasi menggunakan rumus $\log(Y+1)$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi *plantlet*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ragi berpengaruh nyata terhadap tinggi *plantlet* (Tabel 2). Ekstrak ragi 1,25 g/l memperlihatkan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan tinggi *plantlet* diantara perlakuan lainnya. Namun konsentrasi ekstrak ragi optimal berdasarkan persamaan regresi $Y = -0,39 + 1,87282X - 0,707056X^2$, $R^2 = 0,941$ diperoleh pada konsentrasi 1,325 g/l untuk tinggi

plantlet. Senyawa nitrogen yang terkandung dalam ekstrak ragi berperan dalam sintesis asam-asam amino dan protein secara optimal yang selanjutnya digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemanjangan batang terjadi karena adanya proses pembelahan, pemanjangan, dan pembesaran sel-sel baru yang terjadi pada meristem ujung batang yang mengakibatkan tanaman bertambah tinggi (Gardner *et al.* 1985).

Pada media kontrol (tanpa pemberian ekstrak ragi), *plantlet* masih tumbuh baik. Hal ini disebabkan pada semua perlakuan, termasuk kontrol, tetap diberi penambahan senyawa organik kompleks melalui pemberian bubur pisang dan air kelapa. Di dalam bubur pisang dan air kelapa terdapat zat hara, zat pengatur tumbuh atau hormon, dan vitamin yang dapat merangsang pertumbuhan *plantlet*.

Luas dan jumlah daun

Pemberian ekstrak ragi berpengaruh nyata terhadap perkembangan luas daun (Tabel 2). Pemberian ekstrak ragi 1,00-1,75 g/l menghasilkan pertumbuhan jumlah daun terbanyak. Pemberian ekstrak ragi 1,25 g/l menghasilkan perkembangan luas daun tertinggi. Hal ini disebabkan oleh pembentukan jaringan intervena akibat aktivitas pembelahan sel-sel meristimatis, sehingga luas daun meningkat. Namun konsentrasi ekstrak ragi optimal berdasarkan persamaan regresi $Y = -2,54748 + 3,95555X - 1,14959X^2$, $R^2 = 0,952$ diperoleh pada konsentrasi 1,720 g/l dan untuk luas daun, berdasarkan persamaan regresi $Y = -4,94507 + 8,84411X - 3,55878X^2$, $R^2 = 0,976$ adalah 1,25 g/l. Menurut Patel & Shrama (1997) nitrogen yang terkandung dalam ekstrak ragi berpengaruh nyata terhadap peningkatan luas daun. Nitrogen merupakan salah satu hara makro penyusun asam amino, klorofil dan senyawa lainnya dalam proses metabolisme. Kandungan klorofil yang tinggi dapat meningkatkan proses fotosintesis, sehingga fotosintat yang dihasilkan semakin tinggi. Akibat fotosintat yang tinggi, maka terjadi peningkatan tinggi *plantlet* dan luas daun. Menurut Noggle & Frits (1983) akumulasi fotosintat yang tinggi mengakibatkan pembesaran dan diferensiasi sel yang dinyatakan dalam peningkatan tinggi tanaman, luas daun, jumlah akar, dan diameter batang.

Tabel 2. Tinggi plantlet, jumlah daun dan, luas daun setelah empat bulan penanaman (Plantlet height, leaves number and leaf size at four months after culture)

Konsentrasi ekstrak ragi (Concentrations of yeast extract) g/l	Tinggi plantlet (Plantlet height) cm	Jumlah daun (Leaves number)	Luas daun (Leaf size) cm ²
0,00 (kontrol)	5,20 cb	5,95 b	1,38 b
0,25	3,75 a	4,30 a	1,06 b
0,50	3,75 a	4,75 b	0,95 ab
0,75	3,55 a	4,80 ab	0,85 a
1,00	4,65 b	5,85 b	1,19 b
1,25	6,36 c	3,93 a	2,55 c
1,50	4,45 b	5,25 b	1,06 b
1,75	4,40 b	5,75 b	1,06 b
2,00	4,40 b	4,93 a	1,15 b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ (Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at 0,05 Duncan Test)

Panjang dan jumlah akar

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak ragi dalam medium kultur berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan panjang dan jumlah akar *plantlet* anggrek dendrobium (Tabel 3).

Ekstrak ragi 1,25 g/l memberi pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan panjang dan jumlah akar. Konsentrasi 1,25 g/l merupakan konsentrasi yang terbaik bagi pertumbuhan *plantlet* yang tercermin dari panjang dan jumlah akar *plantlet* anggrek dendrobium. Namun konsentrasi ekstrak ragi yang optimal berdasarkan grafik regresi $Y = -1,35009 + 3,29889X - 1,28365X^2$, $R^2 = 0,801$ diperoleh pada konsentrasi 1,300 g/l untuk panjang akar dan untuk jumlah akar berdasarkan grafik regresi $Y = -0,87 + 2,67479X - 1,07392X^2$, $R^2 = 0,770$ adalah 1,250 g/l. Menurut Robbin (dalam Arditti & Ernst 1993) ekstrak ragi dapat memperbaiki pertumbuhan akar. Ekstrak ragi mengandung vitamin B₁ yang dapat menstimulasi pertumbuhan akar. Oleh karena itu vitamin B₁ yang terkandung di dalamnya merupakan faktor penting dalam peningkatan panjang dan jumlah akar. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Arditti & Ernst (1993) bahwa penambahan vitamin B₁ ke dalam media kultur dapat meningkatkan panjang dan jumlah akar dendrobium. Pada umumnya penambahan vitamin B₁ ke dalam media kultur kurang dari 1 ppm (Fonnesbech 1972).

Thiamin hanya berfungsi untuk pertumbuhan akar, sedangkan untuk pembentukan akar

Tabel 3. Panjang dan jumlah akar dalam empat bulan pertumbuhan (length and root number during four months growth)

Konsentrasi ekstrak ragi (Concentration of yeast extract) g/l	Panjang akar (Length of root) cm	Jumlah akar (Number of roots)
0,00 (kontrol)	3,54 a	4,57 bc
0,25	3,35 a	3,47 a
0,50	3,39 a	3,53 a
0,75	3,40 a	3,70 a
1,00	3,64 a	4,25 b
1,25	4,86 c	4,90 c
1,50	4,13 b	4,60 bc
1,75	3,60 a	4,35 b
2,00	3,52 a	4,36 b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ (Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at 0,05 Duncan Test)

diperlukan auksin (Lepkovsky 1968). Pada penelitian ini semua perlakuan mendapat tambahan air kelapa 150 ml/l, yang mengandung zat tumbuh auksin (Widiastoety & Syafril 1993; Widiastoety & Santi 1994). Sementara ekstrak ragi mengandung berbagai macam hara, seperti protein dan vitamin. Menurut Cozza *et al.* (1997) pemberian hara ke dalam media kultur dapat merangsang pemanjangan akar dan jumlah akar. Dari hasil penelitian ini pemberian ekstrak ragi lebih dari 1,25 g/l dapat menghambat pertumbuhan akar baik jumlah maupun panjang akar. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi total nitrogen dalam media. Menurut Fukomoto *et al.* (1957) ciri-ciri tanaman yang mengalami

kelebihan nitrogen adalah pertumbuhan tajuk yang rimbun dan pertumbuhan akar yang lambat.

KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak ragi >1,00 g/l dapat meningkatkan pertumbuhan *plantlet* anggrek dendrobium.
2. Pemberian ekstrak ragi antara 1,25 g/l menghasilkan pertumbuhan tinggi *plantlet*, luas daun, panjang dan jumlah akar tertinggi.

PUSTAKA

1. Arditti, J. and R. Ernst. 1993. *Micropropagation of orchids*. John Wiley and Sons. Inc., Canada. 682 p.
2. Cozza, R., D. Turco, C. B. Bati and M. B. Bitonti. 1997. Influence of growth medium on mineral composition and leaf histology in micropropagation plantlets of *Olea europea*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*. 51: 215 – 223.
3. Fomesbech, 1972. Organic nutrients in the media for propagation of *Cymbidium in vitro*. *Physiol. Plant*. 27:360–364.
4. Fukomoto, J., T. Yamamoto, D. Tsuru and K. Tchikawa. 1957. Effect of nitrogen source. *Proceedings of the international symposium on enzyme chemistry*. Tokyo and Kyoto, Pergamon Press. Los angeles: 479-482.
5. Gardner, F. P., R. B. Pearce and R. L. Mitchell. 1985. *Physiology of crop plants*. The Iowa State University Press.
6. Green, C. E. and R. L. Phillips. 1974. Potential selection system for mutants with increased Lysine, Threonine and methionine in cereal crops. *Crop Sci*. 14: 827 – 830.
7. Lepkovsky, S. 1968. Aneurin and the rearing of cutting. *Science* 87:170-171.
8. Lindegren, J. 1952. The yeast dalam Wilson, C. L. and W. E. Loomis. 1962. *Botany* 3 th ed. Holt, Reinchart and Winston Inc., New York 108–110.
9. Misra, K. C. 1980. *Manual of plant ecology*. 2 nd.ed. Oxford. IBH Publishing Co. New Delhi. 429 p.
10. Noggle, G. R. and G. J. Fritz. 1983. *Introductory plant physiology*. Prentice-Hall. Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 627 p.
11. Patel, A. J. and G. C. Shrama. 1997. Nitrogen release characteristic soil controlled release during four months soil incubation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103 (2):364–366.
12. Widiastoety, D. dan Syafril. 1993. Pengaruh air kelapa terhadap pertumbuhan plb anggrek dalam medium padat. *Bull. Penel. Tan. Hias*. 1(1):7-12.
13. _____, dan A. Santi. 1994. Pengaruh air kelapa terhadap pembentukan protokorm like bodies (plbs) dari anggrek Vanda dalam medium cair. *J. Hort.* 4 (2):71-73.
14. _____, dan S. Kusumo. 1994. Pengaruh berbagai macam zat nabati pada pertumbuhan bibit anggrek dendrobium secara *in vitro*. *Bul. Penel. Tan, Hias*, 2(1):67-82.
15. _____ dan F. A. Bahar. 1995. Pengaruh berbagai sumber dan kadar karbohidrat terhadap pertumbuhan plantlet anggrek dendrobium. *J. Hort.* 5 (3):76-80.
16. _____, S. Kusumo dan Syafni. 1997. Pengaruh tingkat ketuaan air kelapa dan jenis kelapa terhadap pertumbuhan plantlet anggrek dendrobium. *J. Hort.* 7(3):768–772.