

PENGARUH MEDIUM PUPUK ORGANIK CAIR (POC) TERHADAP KARAKTER MORFOLOGI DAN JUMLAH TUNAS PROTOKORM ANGGREK *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl.

Yusnaeni Yusuf* dan Ari Indrianto

Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

e-mail: yusufyusnaeni@yahoo.co.id

Abstract: Influence of Liquid Organic Fertilizer toward Morphological Character and Number Protochrom Shoots of *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. Orchid seed cultured in vitro on suitable media will produce orchid seedlings in large numbers but in short time. The objectives of this research were to determine an effective kind and concentration of liquid organic fertilizer (LOF) that influence the growth and development of orchid embryo *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. This research used embryos orchid from various phase of growth that cultured in treatment media. Treatment media was made of liquid organic fertilizers such Fertile, Fish and Nasa with a series 1; 1; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L concentration and supplemented with of 150 ml/L of coconut water. VW and Agar media were used as controls. Each treatment consisted of 3 replications. Parameters were observed in 2 months for morphological characters (number and length of root; number and length of leaves, and number of shoots). Quantitative data were analyzed with Analyze of Variance (ANOVA) a statistical test using Duncan Multiple Range Test (DMRT) at 5% level. The result showed that the highest number of leaves and number of shoots showed in Fertile 1.5 medium is 4.67 and 6.00.

Abstrak: Pengaruh Medium Pupuk Organik Cair (POC) terhadap Karakter Morfologi dan Jumlah Tunas Protokorm Anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. Kultur embrio anggrek secara in vitro pada media tumbuh yang sesuai akan menghasilkan tanaman anggrek dalam jumlah besar namun dalam waktu yang singkat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dan konsentrasi pupuk organik cair (POC) yang efektif terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. Percobaan dilakukan dengan menggunakan protokorm anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. yang berumur 4 minggu (fase 2) yang ditanam pada medium perlakuan. Medium perlakuan yang digunakan adalah medium POC yakni Fertile, Fish Emulsion dan Nasa dengan beragam konsentrasi (1; 1; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L) yang ditambahkan air kelapa 150 ml/L, sedangkan medium VW sebagai kontrol positif dan medium agar sebagai kontrol negatif. Pengamatan pada medium perlakuan dilakukan selama 2 bulan. Pengamatan dilakukan untuk mengukur parameter morfologis (panjang daun, jumlah daun, panjang akar, dan jumlah akar) serta jumlah tunas yang dihasilkan hingga pengamatan minggu ke-8. Setelah 2 bulan, tanaman kemudian disubkultur ke medium VW yang ditambahkan air kelapa dan ekstrak pisang. Data kuantitatif yang diperoleh kemudian dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh pupuk organik cair terhadap parameter yang diukur kemudian jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh medium POC terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek menunjukkan respon yang berbeda-beda pada setiap fase pertumbuhan. Pada protokorm anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. berumur 4 MSP, POC Fertile 1,5 memberikan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan medium VW pada parameter jumlah daun dan jumlah tunas dengan nilai 4,67 dan 6,00.

Kata kunci: *Pupuk Organik Cair, Perkecambahan In Vitro, Embrio, dan Anggrek*

A. PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hias berbunga yang bernilai ekonomi dengan berbagai ragam

bentuk, warna serta aroma. Dari 20.000 spesies anggrek di dunia (Tsai *et al.*,2008), Indonesia

memiliki sekitar 5000 spesies anggrek (Irawati, 2002). Saat ini, Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada tengah merintis pengembangan Gama Anggrek. Gama Anggrek diperoleh dengan menyilangkan jenis-jenis anggrek alam Indonesia. Salah satu anggrek alam yang berhasil disilangkan adalah jenis *Vanda limbata* yang bisa dijumpai di Nusa Tenggara dengan *Vanda tricolor* dari lereng Gunung Merapi. *Vanda tricolor* dan *Vanda limbata* merupakan anggrek lokal Indonesia yang memiliki karakter-karakter unggul yakni memiliki aroma yang khas dengan perhiasan bunga yang tebal sehingga bunga tidak cepat layu. Pengembangan anggrek hasil persilangan kedua anggrek alam ini dapat menjadi peluang bisnis yang menggiurkan bagi masyarakat pada sektor budidaya tanaman hias, serta dapat mengurangi kebutuhan masyarakat terhadap anggrek alam sehingga dapat menjaga kelestarian anggrek alam. Salah satu faktor penentu keberhasilan pelaksanaan kerja kultur jaringan adalah pemberian nutrisi dalam jumlah dan perbandingan yang benar pada medium kultur.

Medium yang dipergunakan pada kultur in vitro tumbuhan ada bermacam-macam. Pemilihan medium tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, selera, tujuan serta perhitungan masing-masing peneliti. Isi dan komposisi medium dari medium kultur dirancang secara khusus untuk tujuan berbeda (Indrianto, 2003). Karena alasan tersebut dibutuhkan penelitian untuk memperoleh medium alternatif untuk kultur in vitro, salah satunya dengan menggunakan pupuk organik cair yang murah dan mudah diperoleh di pasaran.

B. METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Alat-alat penelitian yang digunakan terdiri atas Laminar air Flow (ESCO), autoklaf (Tomy ES-215), timbangan analitik (Mettler Toledo), hot plate magnetic stirer (Benchmark), pH meter (Mi 151), micropipet (Socorex), mikroskop inverted (Nikon Diaphot 300), optilab, kamera digital Canon Power Shoot A 4000 IS 16 megapixel 8 x optical zoom, dan alat gelas. Bahan yang

digunakan meliputi, Bahan tanaman, buah *Vanda hibrida* (*Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis*) berumur \pm 7 bulan setelah polinasi, yang dilakukan Laboratorium Bioteknologi. Bahan kimia yang digunakan untuk media VW yaitu garam-garam anorganik yang meliputi unsur hara makro dan unsur mikro, gula, substansi organik (air kelapa (150 mL) dan ekstrak pisang (150 gr), larutan HCl, larutan KOH, serta bahan lain meliputi etanol 70% dan 96%, *plastic seal*, kertas label, kertas saring, kertas Samson, aquades steril, aluminium foil, dan selotip.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Tahap penelitian ini meliputi:

1. Sterilisasi buah dan penaburan biji anggrek pada medium VW untuk penentuan umur protokorm yang akan digunakan sebagai eksplan. Medium yang digunakan dalam tahap ini adalah medium perkecambahan, berupa medium VW yang ditambahkan dengan ekstrak pisang. Pembuatan medium dimulai dengan menimbang bahan-bahan yang akan digunakan dan melarutkannya satu persatu. Bahan-bahan yang terdiri dari makronutrien dilarutkan dalam Erlenmeyer yang telah berisi aquades sebanyak kurang lebih 250 ml. Setelah semua makronutrien larut, kemudian ditambahkan dengan mikronutrien, besi, sukrosa, air kelapa 150 ml/L dan ekstrak pisang yang dilarutkan satu-persatu. Kemudian volume dicukupkan hingga 1000 ml dengan menambahkan aquades. Kemudian tingkat keasaman medium diatur dengan menambahkan larutan KOH 1 N atau HCl 1 N sampai diperoleh pH larutan 5,8 yang diukur dengan menggunakan pH meter. Medium yang telah diatur tingkat keasamannya kemudian ditambahkan Bioagar dan dipanaskan sambil diaduk teratur hingga larutan terlihat jernih. Setelah itu dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam botol kultur yang telah disterilisasi kemudian ditutup aluminium foil dan dibungkus dengan plastic seal kemudian selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 psi selama 15 menit. Penanaman pada medium VW dilakukan selama 4 minggu.

Tabel 1. Komposisi Medium Pupuk Organik Cair (Tertera pada Label Kemasan) yang Digunakan Sebagai Media Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Anggrek *Vanda Limbata* Blume X *Vanda Tricolor* Lindl. dan Medium Vacin-Went (VW).

Unsur (Element)	Pupuk Organik Cair			Media Vacin-Went (Vw)	
	Fertile	Fish Emulsion	Nasa		
N	13,86%	5%	0,06%	Unsur Hara Makro	
SENYAWA N	-	0,5 % *	-	1. Ca ₃ (PO ₄) ₂	200 mg/L
	-	0,75% **	-	2. KNO ₃	525 mg/L
	-	3,75% ***	-	3. KH ₂ PO ₄	250 mg/L
P ₂ O ₅	8%	2,00%		4. MgSO ₄ · 7H ₂ O	250 mg/L
K ₂ O	14%	2,00%	0,11%	5. (NH ₄) ₂ SO ₄	500 mg/L
S	-	-	0,10%	Unsur hara Mikro	
Si	-	-	0,01%	1. Fe (C ₄ H ₄ O ₆) ₃	28 mg/L
Cl	-	-	0,26%	2. MnSO ₄ · 4H ₂ O	7,5 mg/L
SO ₄	-	-	0,31%	Sukrosa	9 g/L
NaCl	-	-	0,98%	Zat Pemasak :	
Ca	-	-	61,04 ppm	Bioagar	8 g/L
B	-	-	42,49 ppm	Air Kelapa	150 ml/L
Zn	-	-	37,08 ppm	pH	5,6-5,8
Mg	-	-	14,54 ppm		
Cu	-	-	6,45 ppm		
Al	-	-	6,38 ppm		
Na	-	-	0,13 ppm		
Fe	-	-	0,43 ppm		
Mn	-	-	2,30 ppm		
Co	-	-	2,13 ppm		
Se	-	-	0,1 ppm		
Cr	-	-	< 0,05 ppm		
Mo	-	-	< 0,2 ppm		
C ORGANIK	-	-	4,53%		
BAHAN ORGANIK	40%	4%	0,01%		

Keterangan: * : Ammonical Nitrogen
 **: Water Insoluble Nitrogen
 ***: Other Water Soluble Nitrogen

2. Pemindahan dan transfer protokorm berumur 4 minggu setelah penaburan (MSP) pada medium pupuk organik cair (POC). Pemindahan protokorm tanaman anggrek dilakukan menggunakan protokorm yang berumur 4 minggu setelah penaburan (MSP). Pada fase pertumbuhan embrio anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. yang dikemukakan Yusuf (2015) protokorm pada umur 4 MSP mencapai fase 2 dengan ciri-ciri, berbentuk bangunan bulat seperti tuber berwarna kuning kehijauan. Medium

perlakuan yang digunakan adalah medium POC Fertile, Fish Emulsion dan Nasa (tabel 1) dengan beragam konsentrasi (1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L) medium ini sebagai perlakuan, sedangkan medium VW dan medium agar sebagai kontrol. Medium POC dibuat dengan menambahkan POC sesuai konsentrasi perlakuan (1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L) yang dilarutkan ke dalam gelas kimia berisi aquades 100 ml aquades kemudian ditambahkan air kelapa 150 ml/L dan sukrosa. Larutan medium kemudian ditambah aquades hingga

volume medium mencapai 1000 ml. Kemudian tingkat keasaman medium diatur dengan menambahkan larutan KOH 1 N atau HCl 1 N sampai diperoleh pH larutan 5,5-5,8 yang diukur dengan menggunakan pH meter. Medium yang telah diatur tingkat keasamannya kemudian ditambahkan Bioagar dan dipanaskan sambil diaduk teratur hingga larutan terlihat jernih. Medium dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil yang selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 psi selama 15 menit. Untuk medium VW kontrol dibuat dengan menimbang setiap komponen makronutrien kemudian dilarutkan dalam Erlenmeyer yang telah berisi aquades sebanyak 250 ml. Setelah semua makronutrien larut, kemudian ditambahkan dengan mikronutrien ditambahkan sukrosa, air kelapa 150 ml/L. Kemudian volume dicukupkan hingga 1000 ml dengan menambahkan aquades. Kemudian diukur keasaman medium (pH) berkisar antar 5,8 dengan menambahkan KOH atau HCl, lalu ditambahkan Bioagar sebanyak 8 g/L selanjutnya dipanaskan hingga mendidih. Distribusi medium pupuk organik cair dan medium VW kontrol ke cawan petri dilakukan secara aseptis dalam LAF (Laminar Air Flow). Penanaman pada medium perlakuan dilakukan hingga 2 bulan (8 minggu pengamatan), setelah itu protokorm kemudian disubkultur pada medium VW yang ditambahkan air kelapa dan ekstra pisang.

3. Pengamatan pertumbuhan; Analisis morfologis dilakukan dengan mengamati perubahan morfologi tanaman setiap minggu selama 2 bulan (8 kali pengamatan) pada medium perlakuan POC dalam cawan petri. Pengamatan morfologi mengenai jumlah akar, panjang akar, jumlah daun, panjang daun, dan jumlah tunas selama 2 bulan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan opti Lab kemudian dilakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.
4. Analisis data. Parameter pertumbuhan yang diamati antara lain karakter morfologis (jumlah dan panjang akar, jumlah dan panjang daun serta jumlah tunas). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data

kemudian dianalisis dengan ANOVA dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji DMRT pada taraf 5%.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. yang berasal dari buah yang telah berumur ± 7 bulan kemudian ditabur pada medium VW yang ditambahkan air kelapa. Perkembangan morfologi biji anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dilakukan setiap minggu selama 1 bulan untuk melihat perubahan morfologinya. Protokorm yang digunakan adalah protokorm berumur 4 MSP. Protokorm ini memiliki ciri-ciri berbentuk bangunan bulat seperti tuber berwarna kuning, ciri ini sesuai dengan penelitian Yusuf (2015) yang menggolongkan protokorm ini sebagai protokorm Fase 2 dari proses pertumbuhan dan perkembangan embrio *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl.

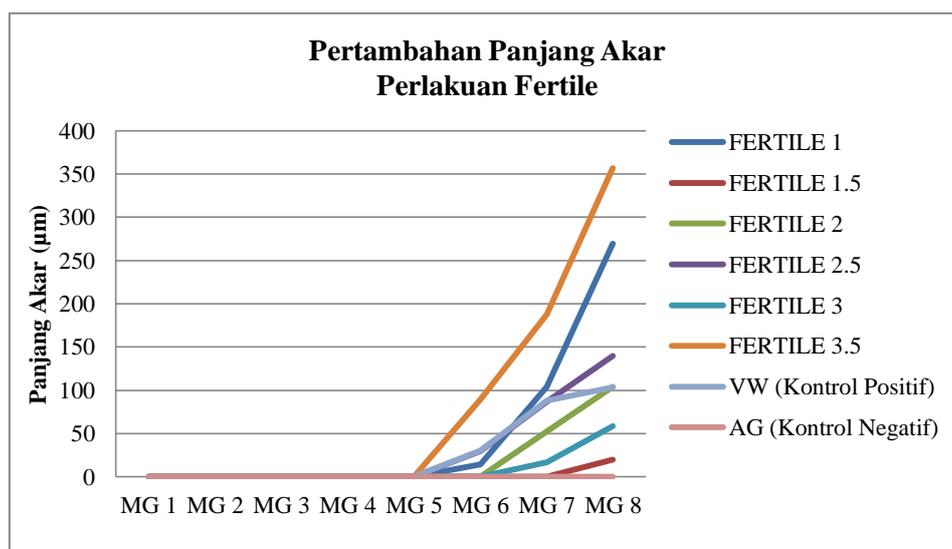
Pengamatan perkembangan morfologi biji anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dilakukan setiap minggu selama 1 bulan pada medium VW, sedangkan pada medium POC pengamatan dilakukan setiap minggu selama 2 bulan untuk melihat perubahan morfologinya. Hal ini dapat dilakukan untuk memperoleh fase pertumbuhan protokorm yang dilaporkan oleh Tuo (2014) dan Yusuf (2015).

Pengaruh penambahan pupuk organik cair (POC) pada protokorm anggrek tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap panjang daun. Meskipun pada parameter panjang daun Fertile 2,5 dan Fertile 3 memiliki rerata panjang daun yang lebih tinggi dari medium VW. Rerata terendah dari seluruh perlakuan ditunjukkan oleh perlakuan ditunjukkan pada perlakuan Nasa 3,5 dengan nilai rerata 234,71, namun berbeda nyata dengan medium VW. Data statistik (tabel 2) pada panjang akar memperlihatkan POC Fertile 3,5 memiliki rerata panjang akar yang lebih tinggi dari medium VW dengan nilai rerata 356,92. Perlakuan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata dengan medium VW. Sedangkan perlakuan POC Fertile 1, POC Fish 2, POC Nasa 2 dan POC Nasa 2,5 memperlihatkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan POC Fertile 3,5. Rerata terendah dari seluruh perlakuan ditunjukkan oleh perlakuan ditunjukkan pada perlakuan Fertile 1,5 dengan nilai rerata 20,00.

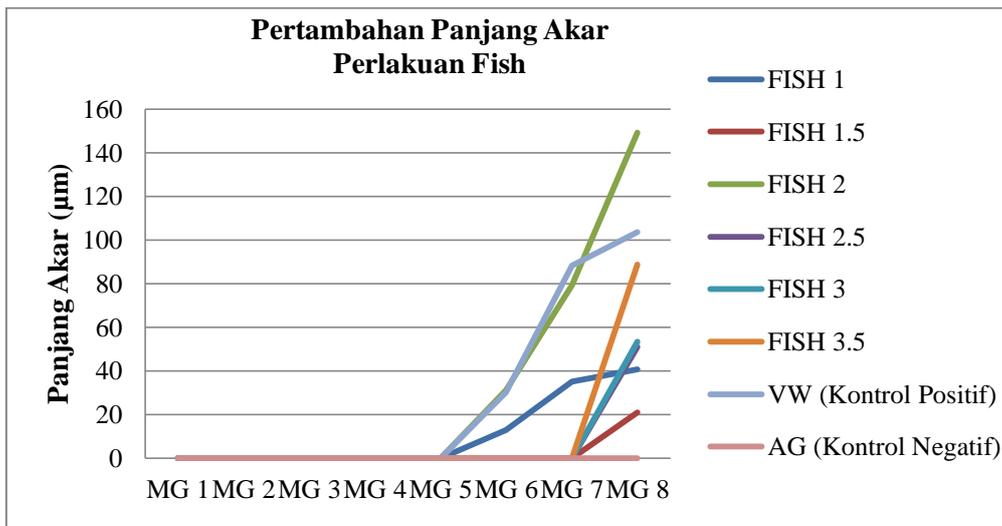
Tabel 2. Rata-Rata Panjang Daun dan Panjang Akar Protokorm Anggrek pada Berbagai Komposisi Media pada 8 MST.

Perlakuan	Data Morfologi	
	Panjang Daun (μm)	Panjang Akar (μm)
FERTILE 1	313,39bcd	269,54bc
FERTILE 1.5	410,57bcdef	20,00a
FERTILE 2	379,48bcde	104,06ab
FERTILE 2.5	529,15ef	139,60ab
FERTILE 3	567,38f	58,67ab
FERTILE 3.5	349,53bcd	356,92c
FISH 1	449,88def	40,64ab
FISH 1.5	318,00bcd	21,08a
FISH 2	281,42bcd	149,10abc
FISH 2.5	243,68b	50,83ab
FISH 3	281,31bcd	53,33ab
FISH 3.5	264,70bc	88,78ab
NASA 1	349,63bcd	119,78ab
NASA 1.5	447,14cdef	98,83ab
NASA 2	328,17bcd	269,21bc
NASA 2.5	332,51bcd	190,35abc
NASA 3	356,54bcde	124,14ab
NASA 3.5	234,71b	84,99ab
VW (Kontrol Positif)	452,03def	103,63ab
AG (Kontrol Negatif)	0,00a	0,00a

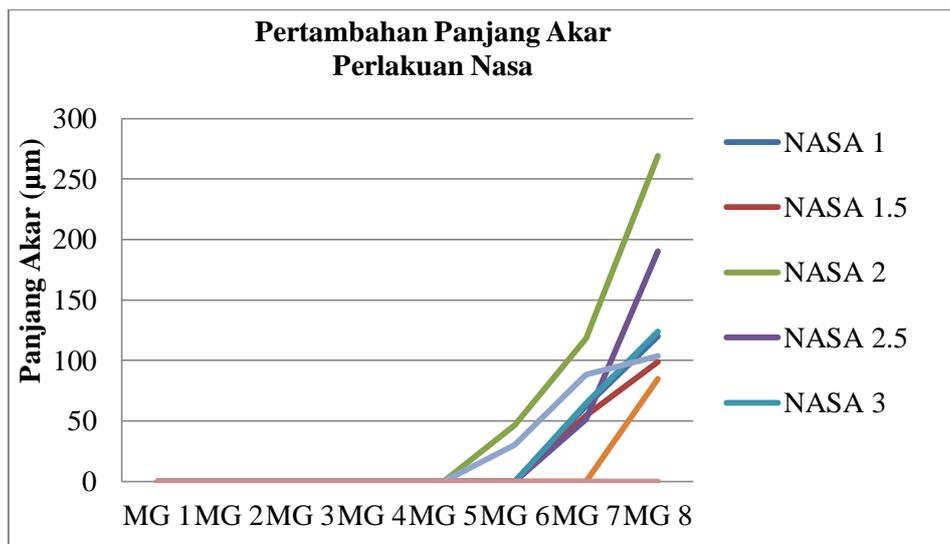
Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada taraf uji 5 % sampel diambil dari 3 ulangan. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.



Gambar 1. Grafik Pertambahan Panjang Akar dari Pengamatan 1 MST hingga Pengamatan 8 MST Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. Protokorm Fase 2 (Umur 4 MSP) pada Perlakuan POC Fish. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.



Gambar 2. Grafik Pertambahan Panjang Akar dari Pengamatan 1 MST hingga Pengamatan 8 MST Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. protokorm fase 2 (umur 4 MSP) pada perlakuan POC Fish. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.

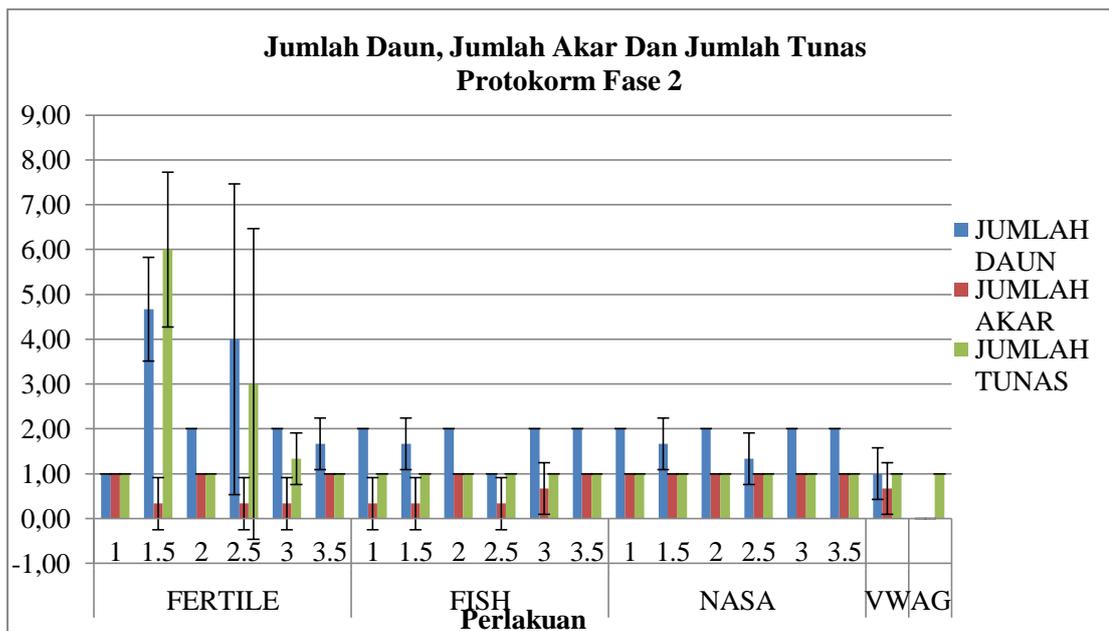


Gambar 3. Grafik Pertambahan Panjang Akar dari Pengamatan 1 MST hingga Pengamatan 8 MST anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. Protokorm fase 2 (umur 4 MSP) pada perlakuan POC Nasa. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.

Perlakuan dengan kemunculan akar tercepat diketahui terjadi pada minggu ke-6 setelah tanam yang ditunjukkan oleh perlakuan Fertile 1, Fertile 2.5, Fertile 3.5, Fish 1, Fish 2 dan Nasa 2 (Gambar 1-3).

Pada parameter jumlah daun (Gambar 4) perlakuan POC Fertile 1.5 memperlihatkan rerata tertinggi dari keseluruhan perlakuan

dengan nilai 4,67 yang memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan medium VW. Perlakuan lain yang menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata adalah perlakuan POC Fertile 2.5 dengan nilai rerata 4,0. Perlakuan POC yang lain memperlihatkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan medium VW.



Gambar 4. Rata-rata Jumlah Daun, Jumlah Akar dan Jumlah Tunas Protokorm Fase 2 (umur 4 MSP) Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada Berbagai Komposisi Media. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.

Perlakuan POC Fertile 1.5 dan POC Fertile 2.5 memberikan hasil rerata yang lebih tinggi pada jumlah tunas dibandingkan dengan medium VW, dengan nilai 6,00 dan 3,00 serta memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan medium VW. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan POC Fertile 1.5 dan POC Fertile 2 dapat menginisiasi jumlah tunas lebih baik jika dibandingkan dengan media VW. Dilihat grafik (grafik 4) protokorm yang diberi perlakuan Fertile 1.5 dan POC Fertile 2.5 memiliki kecenderungan membentuk *multiple shoot*.

Perlakuan yang memberikan hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan medium VW adalah POC Fertile 1.5 ml/L pada parameter jumlah daun yakni 4,67 dan pada parameter jumlah tunas sebanyak 6,00 (grafik 4).. Hal ini dapat disebabkan karena POC Fertile mengandung nitrogen yang lebih tinggi yaitu 13,86 %, unsur K dalam bentuk K_2O 14 % dan unsur P dalam bentuk P_2O_5 sebesar 8 % dibandingkan pupuk Fish dan Nasa (Tabel 1).

Nitrogen berfungsi sebagai penyusun asam amino, klorofil dan senyawa lainnya dalam proses metabolisme. Sehingga komposisi kandungan POC Fertile dapat mensuplai ketersediaan hara terutama unsur N, P dan K sehingga dapat memenuhi kebutuhan tanaman anggrek selama proses pertumbuhan dan

perkembangan protokorm hingga membentuk planlet yang lengkap. POC Fertile mengandung unsur N, P, K yang sangat penting dalam proses metabolisme, termasuk pembentukan hormon endogen pada protokorm. Unsur N yang tinggi diperlukan untuk merangsang pertumbuhan vegetatif tanaman, selain itu berperan dalam sintesis amino dan protein. Reaksi metabolisme dalam tanaman akan menghasilkan ribuan senyawa untuk membentuk organ tanaman, dimana awalnya dari bentuk protokorm menjadi tanaman lengkap dengan organ-organ seperti batang, akar dan daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1988) menyatakan bahwa untuk pembentukan tunas baru, tanaman membutuhkan unsur nitrogen (N), kalium (K), belerang (S), besi (Fe) dan seng (Zn) yang cukup.

Kemungkinan lain karena aktivitas sitokinin yang merupakan komponen dari air kelapa yang ditambahkan sebagai bahan organik kompleks pada medium. Hal ini sesuai dengan pendapat Morel (1974), menyatakan bahwa air kelapa mengandung hormon sitokinin 5,8 mg/L, auksin 0,07 mg/L dan giberelin yang dapat menstimulasi perkecambahan dan pertumbuhan tanaman, berfungsi sebagai penstimulir dalam proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi oleh karena itu air kelapa memiliki kemampuan yang besar dalam proses

diferensiasi. Kemudian Atichart and bunnag (2013), menjelaskan bahwa aktivitas sitokinin dapat memacu terjadinya *multiple shoot*. Air kelapa juga dilaporkan merupakan *inducer* proliferasi dan diferensiasi sel pada beberapa *Orchidaceae*, air kelapa meningkatkan proliferasi protokorm *Cymbidium* (Kusumoto, 1980). Temjensangba and Deb (2005), menyatakan bahwa kombinasi perlakuan sukrosa dan air kelapa 5%, 10%, dan 15% meningkatkan daya tumbuh embrio *Arachnis labrosa*.

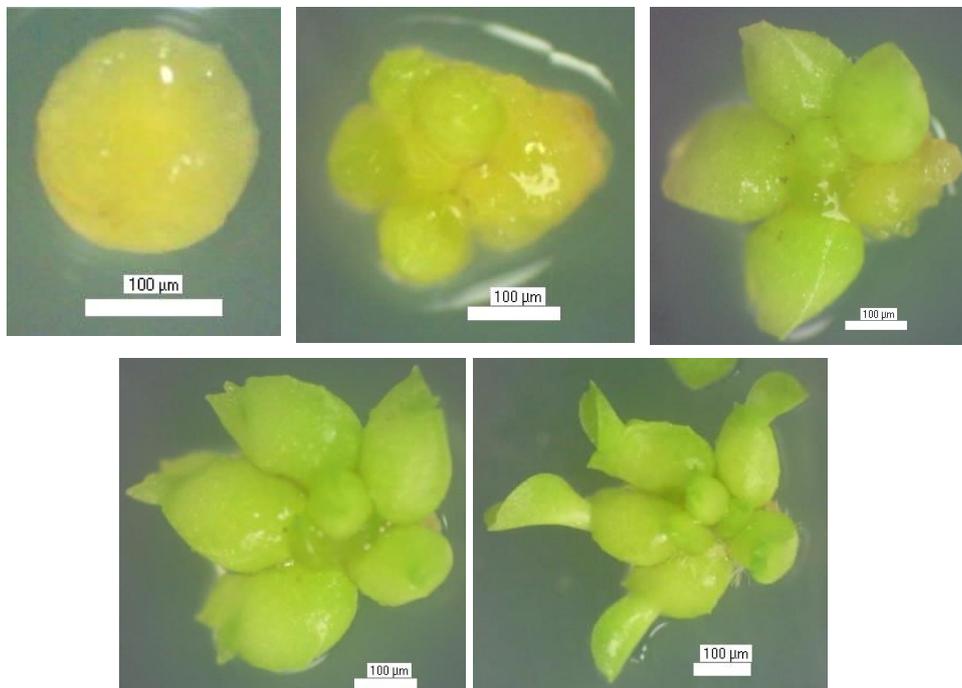
Diferensiasi akan berlangsung jika terjadi interaksi antara auksin dan sitokinin, yaitu bila konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan dengan auksin akan mendorong terbentuknya tunas, sedangkan adanya kandungan asam giberelat dalam air kelapa mendorong pertambahan dan pemanjangan sel di daerah sub *apical meristem* (Widiastoety *et al*, 1997).

Jumlah daun pada pertumbuhan suatu tanaman memegang peranan yang sangat penting, hal ini berkaitan dengan pertumbuhan vegetatif dan kemampuan tanaman untuk melakukan proses fotosintesis dan melakukan berbagai metabolisme lainnya. Sedangkan jumlah tunas sangat menentukan efisiensi

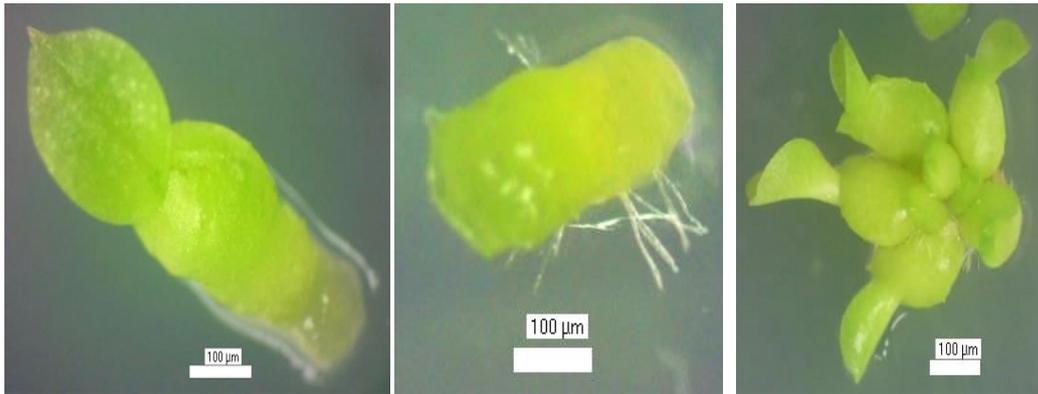
pembibitan, yaitu bila jumlah kecambah awal yang rendah mampu menghasilkan planlet siap kompot dalam jumlah yang besar. Ada berbagai hal yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman, yaitu faktor genotipe dan lingkungan sekitar. Ditegaskan pula oleh Gardner *et al* (1991), bahwa jumlah dan ukuran daun dapat dipengaruhi oleh genotipe dan lingkungan.

Perkembangan protokorm anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl pada perlakuan POC Fertile konsentrasi 1.5 ml/L sejak awal tanaman hingga minggu ke-8 setelah tanam diperlihatkan pada Gambar 5. Pada fase ini perlakuan POC Fertile dapat menginisiasi jumlah daun dan jumlah tunas yang lebih baik hingga pada dibandingkan dengan medium VW (Gambar 6).

Biji anggrek merupakan biji yang susunannya terdiri atas embrio yang diselubungi testa tanpa endosperm. Perkecambahan biji anggrek dapat dioptimalkan melalui teknik *in vitro*. Formulasi pertama medium yang digunakan untuk mengecambahkan biji anggrek adalah VW yang dimodifikasi dengan bahan alami yaitu air kelapa mengandung substansi yang dapat memacu aktifitas dalam pembelahan sel dan mendorong pembentukan organ.



Gambar 5. Proses Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. Protokorm Fase 2 (umur 4 MSP) hingga pengamatan minggu ke-8 setelah perlakuan pupuk Fertile konsentrasi 1.5 ml/L. a. Awal tanam, b. Minggu ke-2, c. Minggu ke-4, d. Minggu ke-6 e. Minggu ke-8. Bar: 100 µm.



Gambar 6. a. Embrio anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada medium VW; b. Embrio anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada Medium agar; c. Morfologi tanaman anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. protokorm fase 2 (umur 4 MSP) setelah perlakuan pupuk Fertile konsentrasi 1.5 ml/L pada minggu ke-8. Bar: 100 µm. Keterangan: ah: *Absorbing Hair*.

Setelah proses imbibisi, terjadi peningkatan aktivitas enzim dan respirasi sel sehingga dihasilkan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan embrio. embrio selanjutnya terus tumbuh dan akhirnya akan merobek testa dan berkembang menjadi protokorm.

Protokorm kemudian terus berkembang dan membentuk tonjolan yang merupakan primordia daun. Pada perkembangan protokorm anggrek terjadi perubahan warna, yakni warna kuning menjadi hijau. Sehingga terdapat fase ketika protokorm berwarna kuning dan fase selanjutnya protokorm berwarna hijau. Diduga perubahan ini karena terjadi pembentukan klorofil. Menurut Arditti (1967), perkecambahan embrio anggrek dapat diikuti pembentukan klorofil pada embrio maupun tidak terbentuk klorofil.

Protokorm yang dikulturkan pada medium agar (gambar 6) masih menunjukkan pertumbuhan meskipun pertumbuhan dan perkembangan yang ditunjukkan tidak sama

pada perlakuan VW dan perlakuan POC. Pada medium ini tidak terdapat penambahan bahan organik. Medium ini hanya murni terdiri atas bahan pematat (agar). Namun hal yang menarik adalah pertumbuhan tetap terlihat pertumbuhan dan perkembangan. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena kandungan hormon endogen yang dikandung oleh eksplan yang masih dapat menunjang pertumbuhan eksplan. Keberadaan *absorbing hair* pada bagian basal protokorm dapat menjadi salah satu indikasi asumsi tersebut. Asumsi ini sesuai dengan pendapat Ishida *et al* (2008), yang menyatakan bahwa perkembangan dan pertumbuhan *root hair* dipengaruhi oleh keberadaan hormon etilen dan auksin sedangkan Chang *et al* (2005) mengatakan bahwa *protocorm hair* merupakan *site* tempat asosiasi dengan jamur dan berfungsi dalam penyerapan (absorpsi). Hal ini dapat memberikan petunjuk bahwa kehadiran *absorbing hair* dapat pula dijadikan sebagai parameter pertumbuhan protokorm.

D. KESIMPULAN

Pengaruh medium POC terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek menunjukkan respon yang berbeda-beda dari setiap jenis dan konsentrasi POC yang digunakan protokorm yang diberi perlakuan Fertile 1.5 memberikan hasil yang berbeda nyata pada parameter jumlah daun dan jumlah tunas dengan nilai 4,67 dan 6,00. Perlakuan POC

Fertile 1.5 terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dapat menginisiasi jumlah daun dan jumlah tunas dengan kecenderungan pembentukan *multiple shoot* yang lebih baik hingga pada dibandingkan dengan medium VW.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. 1967. Factor affecting the germination of orchid seeds. *Botanical Review*. 33:1-97.
- Atichart, P., S. Bunnag. 2007. Polyploid induction in *Dendrobium secundum* (bi.) lindl. by *in vitro* techniques. *Thai Journal of Agricultural Science*. 40 (1-2): 91-95.
- Chang, C., Chen YC., Yen HF. 2005. Protocorm or rhizome? The morphology of seed germination in *Cymbidium dayanum*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 46: 71-74.
- Gardner, F. P., Pearce, R. B., Mitchell, RL. 1991. *Physiology of Crop Plants*. Diterjemahkan oleh H.Susilo. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Indrianto, A. 2003. *Bahan Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada.
- Irawati. 2002. Konservasi Anggrek Spesies di Indonesia. *Prosiding Seminar Anggrek Indonesia*. Yogyakarta.
- Ishida T., Tetsuya K., Kiyotaka O., and Wada T. 2008. A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *The Annual Review of Plant Biology*. 59: 365-386.
- Kusumoto, M. 1980. Effect of coconut milk, agar, and sucrose concentration and media ph on the proliferation of *Cymbidium plb* cultured *in vitro*. *Japan Soc. Hort Sci*. 48(4): 503-509.
- Morel, G.M. 1974. *Clonal Multiplication of Orchid*. The Orchid Scientific Studies. Wiley interscience publication. John Wiley and Sons, New York.
- Temjensangba, Deb, C. R. 2005. Regeneration and mass multiplication of *Arachnis labrosa* (Lindl. ex Paxt.) Reichb: A rare and threatened orchid. *Curr. Sci*. 88(12): 1966-1969.
- Tsai, W.C., Hsiao, Y.Y., Pan, Z.N., Hsu, C.C., Chen, W.H., and Chen, H. H. 2008. Molecular Biology of Orchid Flowers; With Emphasis on *Phalaenopsis*. *Advances in Botanical Research* Vol. 47. Incorporating Advances in Plant Pathology.
- Tuo, M. 2014. Pengembangan Anggrek *Vanda* Hibrida (*Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl.) dengan perlakuan kolkisin secara *In vitro*. *Tesis*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasi).
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Widiastoety D., S. Kusumo., dan Syafni. 1997. Pengaruh tingkat ketuaan air kelapa dan jenis kelapa terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium*. *J Hort*. 7 (3): 768-772.
- Yusuf, Y. 2015. Pemanfaatan Pupuk Organik Cair untuk Memacu Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. secara *In vitro*. *Tesis*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasi).