

INDUKSI PROTOCORM LIKE BODY (PLB) ANGGREK MACAN (*Grammatophyllum scriptum*) ASAL BIJI PADA BERBAGAI KONSENTRASI MEDIA MS

Induction Of Protocorm Like Body (Plb) Tiger Orchids (*Grammatophyllum Scriptum*) From Seeds At Various Concentrations Of MS

Yolanda Eva Rosalina¹⁾, Ramal Yusuf²⁾, Sri Anjar Lasmini²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu

²⁾Staf Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu

Jl. Soekarno-Hatta Km 9, Tondo-Palu 94118, Sulawesi Tengah Telp. 0451-429738

Email : yolandaevar27@gmail.com, ryusufus@yahoo.com, srianjar_lasmini@yahoo.com

ABSTRACT

Grammatophyllum scriptum is one type of orchid originating from Papua, this species is one of the genus of orchids that was developed as an ornamental plant. Growing media and planting techniques are important factors in tissue culture processes. Media is needed that facilitates root growth and provides sufficient nutrients for plantlets. This study aims to determine the concentration of Murashige and skoog (MS) which is effective for induction of protocorm like body of tiger orchids. This study used a completely randomized design (CRD) with different MS media concentration treatments consisting of 4 levels, namely M1 = 1MS, M2 = 3 / 4MS, M3 = 1 / 2MS, M4 = 1 / 4MS. The results of the study showed that the composition of MS media affected the induction of protocorm like body in tiger orchids.

Keywords: Tiger Orchids, Murashige and Skoog Medium, and Media Concertration.

ABSTRAK

Grammatophyllum scriptum merupakan salah satu jenis anggrek yang berasal dari Papua, Spesies ini merupakan salah satu genus anggrek yang dikembangkan sebagai tanaman hias. Media tumbuh dan teknik penanaman merupakan faktor penting dalam proses kultur jaringan. Diperlukan media yang mempermudah pertumbuhan akar dan menyediakan hara yang cukup bagi plantlet. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi Murashige and skoog (MS) yang efektif untuk induksi protocorm like body anggrek macan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi media MS yang berbeda yang terdiri dari 4 taraf yaitu M1=1MS, M2=3/4MS, M3=1/2MS, M4=1/4MS. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa komposisi media MS mempengaruhi induksi pembentukan protocorm like body pada anggrek macan.

Kata Kunci: Anggrek Macan, Media Murashige and Skoog dan Kosentrasi Media.

PENDAHULUAN

Grammatophyllum scriptum merupakan salah satu jenis anggrek yang berasal dari Papua, Spesies ini merupakan salah satu genus anggrek yang dikembangkan sebagai tanaman hias. Keunggulannya adalah habitus yang tegap dan kuat, jumlah bunga yang sangat banyak yaitu sekitar 25-50, dan waktu berbunga yang cukup lama yaitu mulai bulan Januari sampai Agustus (Rahmatia dkk., 2007).

Iklim tropis Indonesia, yang cocok untuk pertumbuhan anggrek juga sangat potensial untuk menghasilkan jenis-jenis anggrek alam yang bermutu. Menurut Sarwono (2002), meskipun penyebaran anggrek macan cukup luas justru menghadapi ancaman serius dari pemburuan yang tak terkendali serta kerusakan habitat. Faktor-faktor seperti terjadinya perubahan atau rusaknya habitat tumbuh akibat penebangan dan konservasi lahan merupakan ancaman terhadap kelestarian anggrek alam. Kegiatan pengeksploitasian anggrek dari alam yang dilakukan secara berlebihan dan terus menerus dapat mengakibatkan kepunahan bila tidak dimbangi dengan usaha konservasi. Perkembangbiakan alami di habitat dengan biji sangat sulit karena lambatnya laju pertumbuhan biji dari fase biji hingga mencapai tanaman dewasa siap berbunga.

Kelemahan dari metode perbanyakan secara konvensional yaitu terbatasnya bibit atau tanaman yang dihasilkan dan untuk memperoleh anakan baru dibutuhkan waktu yang lama. Perbanyakan anggrek dengan biji tidak dapat dilakukan secara konvensional karena biji anggrek tidak memiliki endosperm, sehingga untuk perkecambahan hanya dapat dilakukan dengan menumbuhkan secara *in vitro* (Saputri, 2015).

Beberapa media kultur *in vitro* telah dikembangkan oleh beberapa penelitian. Media yang dipakai secara umum untuk kultur *in vitro* tanaman adalah media

Murashige dan Skoog (MS), terutama untuk morfogenesis, kultur meristem dan regenerasi tanaman.

Pada anggrek tanda-tanda biji mulai berkecambah ditandai dengan terbentuknya *protocorm like bodies*, Upaya perkecambahan biji dan pertumbuhan protocorm menjadi seedling optimal yaitu unsure hara mikro dan makro yang optimal. Menurut hasil penelitian Sopalun *et.all.* (2010) Menunjukkan bahwa pada media padat ½ MS, pertumbuhan relatif *G. speciosum* tertinggi dicapai pada penambahan kitosan sebesar 25 mg/L.

Berdasarkan penelitian Mahendran dan Bai (2009), penggunaan media KC (Knudson) dan media MS (Murashige and Skoog) meningkatkan presentase kecambah benih anggrek *Satyrium nepalense* serta pembentukan PLB (Protocorm Like Bodies) sekunder.

Informasi mengenai pertumbuhan anggrek, khususnya anggrek macan melalui teknik kultur jaringan masih sangat terbatas sehingga diperlukan untuk melakukan penelitian mengenai pertumbuhan anggrek macan pada berbagai komposisi media MS secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, mulai Bulan Maret sampai dengan Bulan Juli 2018.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu LAFC (Laminar Air Flow Cabinet), kulkas, oven listrik, *autoklaf*, pinset, pipet, botol kultur, cawan petri, batang pengaduk, pH meter, pembakar bunsen, timbangan analitik, *hot plate*, gelas kimia, gelas ukur, rak kultur, plastik, kertas saring, kertas label, karet gelang, *shaker*, *magnetic stirrer*, *handsprayer*, alat dokumentasi serta alat tulis menulis. Bahan yang digunakan adalah eksplan tanaman Anggrek Macan (biji) yang masak fisiologis, media Murashige-Skoog,

sukrosa, agar (*swallow globe brand*), aquades steril, alkohol 70%, detergen, spritus, dan NaOCl1%.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi 4 taraf yaitu M1= 1MS, M2=3/4MS, M3=1/2MS DAN M4=1/4MS diulang sebanyak 4 kali sehingga terdapat 16 unit percobaan. Setiap unit memiliki sampel percobaan, sehingga total berjumlah 64 unit.

Penelitian ini meliputi beberapa tahapan kegiatan yaitu sterilisasi alat dan aquadest, pembuatan media kultur, pengambilan eksplan, sterilisasi eksplan, penanaman dan pemeliharaan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Periode Bebas Kontaminasi. Analisis ragam disajikan menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata pada konsentrasi MS yang berbeda terhadap variabel periode bebas kontaminasi.

Berdasarkan uji BNJ 5% (Tabel 1), menunjukkan bahwa pada analisis periode bebas kontaminasi terbaik terdapat pada perlakuan $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$ MS yang berbeda nyata pada perlakuan MS. Pemberian konsentrasi $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$, dan $\frac{1}{4}$ MS menunjukkan kemampuan eksplan dapat bertahan hidup selama 84 hari. Sedangkan pada pemberian konsentrasi 1 MS hanya dapat bertahan 79.50 hari.

Saat Muncul Plb. Menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan saat muncul *plb*. (protocorm like body)

Berdasarkan hasil penelitian (Gambar 1.) menunjukkan bahwa rata-rata munculnya *plb* cenderung lebih cepat terdapat pada perlakuan konsentrasi media $\frac{3}{4}$ MS dibandingkan dengan media yang lain. Dengan rata-rata saat muncul *plb* (protocorm

like body) tercepat yakni 73 hari setelah tanam.

Skor Warna Eksplan. Menunjukkan bahwa perlakuan media dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perubahan warna eksplan pada hari 14, 42, 56, 70, dan 84 setelah tanam akan tetapi berpengaruh nyata terhadap perubahan warna eksplan pada hari ke 28 setelah tanam. Rata-rata tingkat perubahan warna eksplan pada berbagai konsentrasi media MS yang berbeda pada setiap 14 hari setelah tanam pengamatan disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2, menunjukkan bahwa rata-rata warna eksplan yang terbentuk tidak berpengaruh terhadap berbagai perlakuan, pada 14 HST warna eksplan yang terbentuk dengan berbagai perlakuan memiliki warna yang hampir sama, yaitu kuning (skor 1-1.25). Pada hari ke 42 warna eksplan mengalami perubahan yaitu kuning kehijauan (skor 5.00-5.33) pada skor ini eksplan mulai membentuk *clump plb*. Selanjutnya warna yang terbentuk pada eksplan 56 dan 70 HST yaitu hijau kuning (skor 5.67-6.67). Protocorm terlihat jelas pada 84 HST menunjukkan perubahan warna yang terbentuk pada eksplan, yaitu hijau muda sampai hijau tua (skor 6.00-7.33). Pada perlakuan konsentrasi media $\frac{1}{2}$ MS warna pada eksplan yang terbentuk cukup lambat dibandingkan dengan perlakuan yang lain dalam waktu 84 hari.

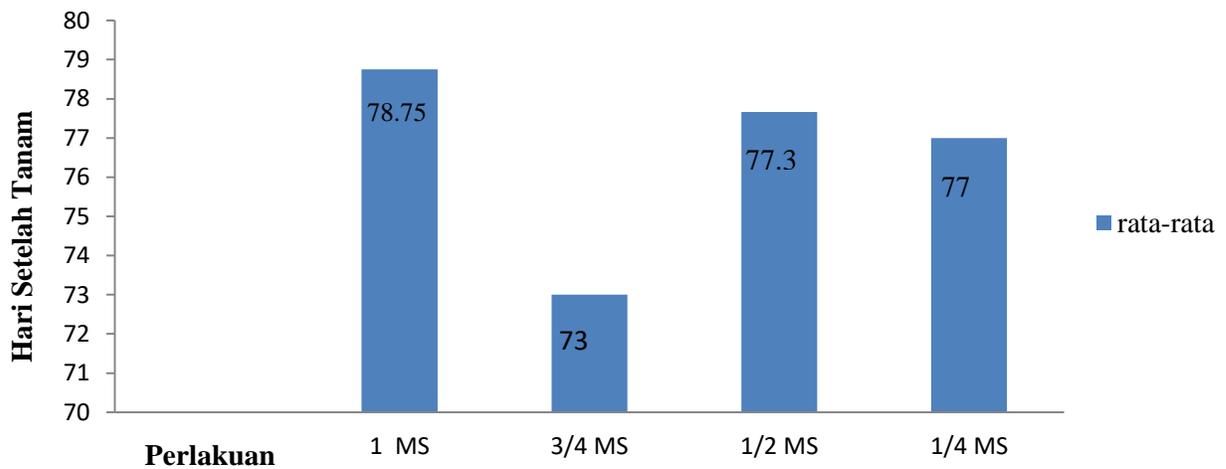
(Tabel 2), menunjukkan bahwa pada analisis skor perubahan warna eksplan tercepat terdapat pada perlakuan $\frac{1}{2}$ MS yang nyata pada 28 hari setelah tanam dengan skor 5 (warna eksplan kuning kehijauan), sedangkan pada konsentrasi 1 dan $\frac{3}{4}$ MS tidak berbeda dan pada konsentrasi media $\frac{1}{4}$ MS warna eksplan mengalami perubahan warna yang lambat dengan rata-rata skor 3 (putih).

Tabel 1. Rata-rata periode bebas kontaminasi (HST) pada berbagai konsentrasi media MS

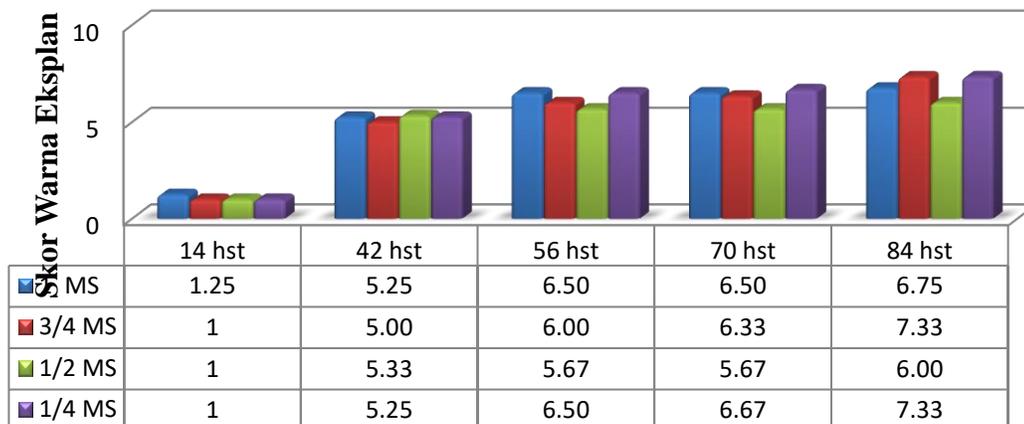
Perlakuan	Rata-Rata	BNJ 5%
1 MS	79.50 ^a	
³ / ₄ MS	84.00 ^b	
¹ / ₂ MS	84.00 ^b	3,96
¹ / ₄ MS	84.00 ^b	

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf sama, tidak berbeda pada taraf uji BNJ 5%

Gambar 1. Histogram Rata-rata saat muncul *plb* (HST) pada berbagai konsentrasi media MS



Gambar 2. Histogram Rata-rata skor warna eksplan pada berbagai konsentrasi media MS pada 14, 42, 56, 70 dan 84 hari setelah tanam (HST).



Tabel 2. Rata-rata skor perubahan warna eksplan pada 28 hari setelah tanam

Perlakuan	Rata-rata	BNJ 5%
1 MS	4ab	
1/2 MS	5b	
3/4 MS	4ab	1.48
1/4 MS	3a	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama,, tidak berbeda pada uji BNJ 5%

Pertumbuhan eksplan di dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya jenis media, pemilihan eksplan, sterilisasi dan komposisi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Penggunaan media tumbuh anggrek saat ini sangat bervariasi. Variasi media tersebut biasanya dalam bentuk modifikasi komponen penting dalam media yaitu dengan penambahan zat-zat lainnya pada media yang mungkin dapat meningkatkan pertumbuhan eksplan, seperti menambahkan zat-zat pengatur tumbuh, vitamin, air kelapa, asam-asam amino, maupun jus buah-buahan. (Syammiah, 2006). Penelitian ini menggunakan konsentrasi media yang sering digunakan yaitu Murshige and skoog (MS) dengan konsentrasi yang rendah $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ dan 1 MS paling tinggi.

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa perbedaan konsentrasi media tersebut mempengaruhi ketersediaan nutrisi bagi eksplan yang dikultur. Adanya penyerapan hara yang berlangsung pada hampir semua permukaan eksplan pada media menyebabkan kompetensi sel atau jaringan untuk tumbuh berkembang membentuk organ baru lebih besar sehingga pembentukan *plb* menjadi lebih banyak.

Perlakuan dengan konsentrasi $\frac{3}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS, dan $\frac{1}{4}$ MS memberikan hasil yang sama pada periode bebas kontaminasi yaitu 84 HST dibandingkan dengan perlakuan

konsentrasi media 1 MS. Pada penelitian anggrek atau tanaman lain sering dijumpai eksplan yang browning (pencoklatan jaringan). Yusnita (2003), menyebutkan bahwa senyawa fenol ini bersifat toksik (racun), menghambat pertumbuhan eksplan atau bahkan dapat mematikan jaringan eksplan. Untuk meminimalisir terbentuknya senyawa fenol dapat dilakukan dengan mengurangi stress mekanik pada saat isolasi eksplan atau pada saat sterilisasi.

Kontaminasi disebabkan oleh cendawan atau bakteri yang tumbuh pada permukaan media. Yusnita (2010), menyatakan bahwa pencucian botol yang kurang sempurna menyebabkan kontaminasi bakteri atau cendawan pada dinding botol yang biasanya terjadi beberapa minggu atau bulan setelah media disterilkan. Namun dari hasil penelitian ini jarang terjadinya kontaminasi dari eksplan atau media selama 84 HST. Sebagian besar eksplan yang ditanam pada berbagai konsentrasi media yang terbebas dari kontaminasi menunjukkan kemampuannya untuk beregenerasi. Kemampuan regenerasi tersebut ditunjukkan dengan bertambahnya ukuran dari *clump plb* (gumpalan dari biji anggrek) yang ditanam.

Rata-rata munculnya *plb* cenderung lebih cepat terdapat pada perlakuan konsentrasi media $\frac{3}{4}$ MS dan tidak jauh berbeda dengan perlakuan konsentrasi $\frac{1}{4}$ MS dan $\frac{1}{2}$ MS. Di bandingkan dengan konsentrasi media 1 MS yang menunjukkan eksplan paling lambat

dalam pembentukan *plb*. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Gunawan (1992), menyatakan pemakaian konsentrasi unsur makro dan mikro yang lebih rendah pada MS, pada kasus tertentu lebih meningkatkan pertumbuhan bila dibandingkan dengan konsentrasi penuh. Hal ini terkait dari optimalnya unsur-unsur hara yang dapat digunakan untuk pertumbuhan jaringan.

Sesuai hasil yang diperoleh pada variabel skor warna biji anggrek macan (*G. scriptum*) maka diketahui bahwa warna yang dihasilkan oleh biji anggrek pada semua perlakuan dengan masa kultur 14 HST, (dihasilkan semua warna biji anggrek berwarna kuning). Biji anggrek belum menunjukkan adanya perubahan warna.

Biji anggrek mulai terbentuk/berubah warna saat eksplan berumur 28 HST. Biji mulai membengkak pada umur 28 HST, pada perlakuan ½ MS dengan skor rata-rata 5 yang menunjukkan warna kuning kehijauan. dan diikuti dengan perlakuan media yang lain. Warna biji berubah dari warna putih menjadi warna kuning kehijauan pada 42 HST dengan rata-rata skor 5.00-5.33. Warna biji kemudian menjadi hijau kekuningan pada 42-56 HST.

Biji berubah warna menjadi hijau pada 70 HST dan protocorm mulai terbentuk pada 70 HST. Pada umur 84 HST, protocorm yang muncul semakin banyak dan terlihat jelas dengan warna hijau tua. Salah satu faktor yang ikut mempengaruhi pembentukan protocorm adalah komposisi media. Perbedaan warna ini berhubungan dengan aktivitas *plb* *G. scriptum* dalam menyerap hara dari media tumbuhnya, karena *plb* tersebut tidak memiliki cadangan makanan untuk pertumbuhan awal dan tergantung pada hara yang terdapat disekitar media tumbuh yakni MS yang akan menjadi sumber protein bagi *plb* untuk melakukan proses pertumbuhan termasuk pembentukan klorofil.

Menurut Darmawan dan Baharsjah (1983), untuk mendukung pembentukan klorofil

diperlukan unsur-unsur yang terkandung dalam sukrosa seperti karbon, oksigen dan hydrogen. Ditambahkan oleh Dwidjoseputro (1990), bahwa karbohidrat terutama dalam bentuk sukrosa dapat membantu dalam pembentukan klorofil pada daun-daun yang tumbuh karena kekurangan sinar matahari. Tanpa pemberian sukrosa, daun-daun tersebut tidak mampu menghasilkan klorofil meskipun faktor-faktor yang lainnya mencukupi.

Setiap spesies memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon komposisi media yang ada dilingkungannya. Begitupula sebaliknya, komposisi media yang berbeda memberikan pengaruh yang bervariasi pada spesies tanaman (Kurniati, 2011). Stewart dan Kane (2006) menyatakan bahwa embrio anggrek sangat bervariasi dan sangat spesifik untuk masing-masing spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- Darmawan, F. dan Baharsjah, W.1983. Pembentukan Klorofil pada Tanaman. Jakarta
- Dwidjoseputro, D. 1990. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. Gramedia. Jakarta.
- Gunawan, L.W. 1992. Budidaya Anggrek. Penerbar Swadaya. Jakarta.
- Kurnianti, F. L. 2011. Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Biji *Dendrobium capra* J.J. Smith secara In Vitro. *Jurnal tidak terpublikasi*
- Mahendran, G. dan V. M Bai. 2009. Mass Propagation at *Satyrium Nepalense* D.Dona Medical Orchid Via Seed Culture. *Scientia Horticulture*. 199 :203-207.
- Rahmatia D. dan P. Pipit 2007. Bunga Anggrek, Si Cantik Anggrek. Jp Books. Jakarta.
- Saputri, W. 2015. Respon Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata* Lindl).

Secara *In Vitro* Dengan Penambahan Ekstrak Touge Dan Benzyl Amino Purine (BAP). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontianak.

Sarwono, B. 2002. Mengenal Dan Membuat Anggrek Hibrida. Agro Media Pustaka. Jakarta.

Sopalun, K. 2010. Effect Of Chitosan As The Growth Stimulator For *Gramatophyllum speciosum in vitro* culture. Internasional Conference On Agricultural Biosystem And Biological Engineering, Venice, Italy. Hal. 24-26

Stewart, S. L. and M.E. Kane. 2010. Effect of Carbohydrate Source on the *in vitro* Asymbiotic Seed Germination of the Terrestrial Orchid *Harbenaria macroceratitis*. Jurnal of plant nutrition. 33:1155-1165.

Syammiah, 2006. Jenis Senyawa Organic Suplemen pada Medium Knudson C untuk Pertumbuhan Protocorm Like Bodies Dendrobium Bertancong Blue X Dendrobium Undulatum. Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Jurnal floratek 2: 86-92.

Yusnita, 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka, Jakarta

Yusnita, 2010. Perbanyak *in vitro* Tanaman Anggrek. Universitas Lampung. Bandar Lampung.