

Pengaruh Penambahan Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium Taurulinum* J.J Smith Secara *In Vitro*

Aisyah Intan Paramartha¹⁾, Dini Ermavitalini¹⁾, dan Siti Nurfadilah²⁾

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh

Nopember (ITS)¹⁾ Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi²⁾

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

E-mail: dinierma@bio.its.ac.id¹⁾ fadilahzr@yahoo.com²⁾

Abstrak— Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang efektif untuk perkembangan biji *D. taurulinum* secara *in vitro*. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA yang dipakai adalah (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/L) dan BAP (0,1; 0,3; 0,5 mg/L) dengan perlakuan tanpa penambahan Zat Pengatur Tumbuh sebagai kontrol. Penelitian menunjukkan bahwa setelah 5 bulan inokulasi hasil terbaik ditunjukkan pada medium tanpa penambahan ZPT dengan 100% biji berkembang menjadi planlet. Pada penambahan berbagai kombinasi Zat Pengatur Tumbuh didapatkan hasil dominasi pertumbuhan hanya mampu membentuk protocorm. Hal ini membuktikan bahwa suatu organ dan jaringan tumbuhan mengandung hormon endogen yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ atau jaringan tersebut hingga tahapan yang paling sempurna walaupun tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh dari luar.

Kata Kunci—BAP, *In Vitro*, NAA, pertumbuhan biji *D. taurulinum*, Zat Pengatur Tumbuh.

I. PENDAHULUAN

Anggrek *Dendrobium taurulinum* hanya terdapat di pulau Seram, provinsi Maluku, dan distribusinya terbatas di Seram bagian utara dan tengah. Hal ini terutama disebabkan oleh isolasi dari pegunungan dan bentuk wilayah yang merupakan pulau. Habitat dominan dari *D. taurulinum* adalah di dataran rendah dan banyak ditemukan tumbuh di pohon tepi laut. Dalam setahun, anggrek ini berbunga pada bulan September-Oktober [1]. Berdasarkan daftar spesies prioritas konservasi hasil workshop di Kebun Raya Bogor pada tanggal 2-3 juni 2009, *D. taurulinum* merupakan jenis anggrek alam asli Indonesia yang terancam punah [2]. Secara umum anggrek termasuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan dikarenakan bijinya tidak memiliki endosperm sehingga sulit tumbuh di alam. Biji ini hanya akan dapat tumbuh apabila bersimbiosis dengan jamur (mikoriza) yang sesuai [3]. Salah satu upaya konservasi anggrek ini adalah dengan perbanyakan anggrek melalui kultur biji dengan penambahan berbagai jenis zat pengatur tumbuh untuk memacu perkecambahan dan

pertumbuhannya [4]. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah NAA dan BAP yang dapat meningkatkan perkecambahan biji dan menginduksi terbentuknya protocorm [5]. Penambahan 0,4 mg/L NAA dan 0,1 mg/L BAP menunjukkan pertumbuhan tertinggi pada perkecambahan biji *Dendrobium capra* sedangkan 0,1 mg l-1 NAA atau 0,5 mg l-1 BA efektif untuk meningkatkan tingkat perkecambahan biji *Calanthe hybrid* [6][7]. Penggunaan kombinasi NAA dan BAP dengan konsentrasi baik untuk perkecambahan biji *Dendrobium sp.* secara *in vitro* adalah NAA 1 mg.L-1 dan BAP 0,5 mg.L-1 [8].

Protocorm adalah bentukan bulat padat berwarna hijau yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm [4]. Proses ini terbagi dalam 5 fase, fase 0: biji belum berkecambah, fase 1: biji berkembang menjadi protocorm, fase 2: protocorm dengan primordia daun, fase 3: prokorm dengan daun dan akar pertama, fase 4: protocorm dengan beberapa daun dan akar, fase 5: planlet [6]. Penelitian mengenai perkembangan protocorm telah banyak dilakukan, namun informasi mengenai perkembangan dan penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam medium yang menggunakan eksplan dari spesies anggrek langka masih kurang. Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *D. Taurulinum*.

II. METODOLOGI

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Eksplan biji *Dendrobium taurulinum* diperoleh dari Green house Dede Orchid yang berlokasi di Batu, Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juni 2012 di laboratorium Kultur Jaringan Kebun Raya Purwodadi - LIPI.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat – alat gelas, pipet, petri dish, *laminar air flow*, timbangan analitik, kompor gas, autoklaf, pH meter, tisu, *scalpel*, pinset, aluminium foil, plastik, lampu spiritus, botol kultur, serbet,

keranjang, stiker/label, penggaris dan alat tulis. Bahan yang digunakan adalah media ½ Murashige and Skoog (MS), zat pengatur tumbuh NAA dan BAP, air kelapa, alkohol 70%, sodium hypoklorit (Clorox/NaOCl), aquades dan biji *Dendrobium taurulinum*.

C. Sterilisasi Alat

dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 20 menit (Nugroho, 2004), setelah itu semua alat dan bahan di masukkan ke *Laminair Air Flow* (LAF) yang sudah disemprot dengan alkohol 70% [7].

D. Pembuatan Media Kultur

Larutan stok, sukrosa, agar dan zat pengatur tumbuh dituang kedalam gelas Beaker dan ditambahkan zat pengatur tumbuh sesuai dengan perlakuan. Larutan media ditambah aquades hingga mencapai volume 1L. pH diset 5,8 dengan penambahan NaOH atau HCl. Media dipanaskan di atas api hingga mendidih. Media dituang kedalam botol ±20 ml, dilanjutkan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Setelah suhu autoklaf turun, media dikeluarkan dan di uji kontaminasi selama ± 1 minggu [8].

E. Sterilisasi Biji Anggrek *Dendrobium taurulinum*

Biji dikeluarkan dari desikator dan diletakkan di kertas saring kemudian dilipat dan ditutup rapat (menggunakan stapler). Setelah itu dimasukkan ke dalam larutan Clorox 10% (mengandung 0.5% NaOCl) selama 30 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali masing – masing selama 10 menit. Setelah itu, kertas saring yang berisi biji diambil menggunakan pinset steril kemudian dipindah diatas Petri dish. Biji anggrek diambil dengan jarum ose steril dan disebar pada permukaan medium dalam *Petri dish*. *Petri dish* ditutup kemudian dililitkan parafilm pada bagian tepinya. Media yang berisi biji diinkubasi di rak kultur dan diberi penyinaran 16 jam photoperiod suhu 25°C [9].

F. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak

Tabel 1. Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP

NAA (N)	Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP					
BAP(B)	0 ppm (0)	0,1ppm (1)	0,2ppm (2)	0,3 ppm (3)	0,4 ppm (4)	0,5 ppm (5)
0 ppm (0)	B ₀ N ₀					
0,1 ppm(1)		B ₁ N ₁	B ₁ N ₂	B ₁ N ₃	B ₁ N ₄	B ₁ N ₅
0,3 ppm(3)		B ₃ N ₁	B ₃ N ₂	B ₃ N ₃	B ₃ N ₄	B ₃ N ₅
0,5 ppm(5)		B ₅ N ₁	B ₅ N ₂	B ₅ N ₃	B ₅ N ₄	B ₅ N ₅

lengkap (RAL) pola faktorial dengan faktor kombinasi NAA dan BAP. Masing – masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan

G. Uji Kualitatif

Presentase biji yang tumbuh dihitung menggunakan rumus

$$\% \text{ pertumbuhan biji} = \frac{\text{jumlah biji yang tumbuh}}{\text{Jumlah biji yang ditabur}} \times 100\%$$

Jumlah biji yang tumbuh pada tiap fase dihitung menggunakan "hand tally counter" kemudian data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

H. Uji Kualitatif

Beberapa tahapan (fase) pertumbuhan biji anggrek adalah sebagai berikut [6]:

- Fase 0: biji yang belum berkembang
- Fase 1: biji berkembang membentuk protokorm
- Fase 2: protokorm dengan primordia daun
- Fase 3: protokorm dengan daun pertama dan munculnya akar
- Fase 4: protokorm dengan beberapa daun dan akar
- Fase 5: Planlet

III. PEMBAHASAN

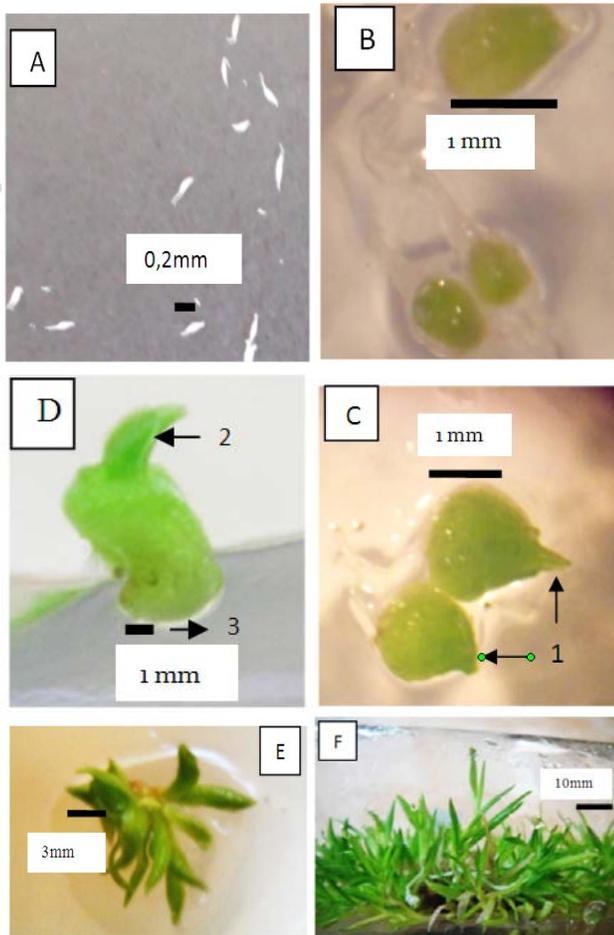
Pertumbuhan adalah peningkatan permanen ukuran organisme atau bagiannya yang merupakan hasil dari peningkatan jumlah dan ukuran sel. Selain pertumbuhan, tanaman juga mengalami perkembangan dalam siklus hidupnya. Perkembangan sendiri merupakan koordinasi pertumbuhan dan diferensiasi dari suatu sel tunggal menjadi jaringan, organ, dan organisme seutuhnya. Pada teknik kultur jaringan, pertumbuhan dan perkembangan sel ditandai dengan perubahan eksplan menjadi suatu massa parenkematis yang terus-menerus tumbuh hingga akhirnya membentuk organ-organ dan individu tanaman baru [12].

Respon pertumbuhan *Dendrobium taurulinum* yang ditanam pada medium MS dengan penambahan variasi kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP diukur melalui persentase pertumbuhan biji selama 5 bulan dengan perlakuan penambahan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA (0.1; 0.2; 0.3;0.4; dan 0.5 ppm) dan BAP (0.1; 0.3; dan 0.5 ppm). Persentase pertumbuhan biji Anggrek *Dendrobium taurulinum* disajikan dalam grafik pada Gambar 1.

Saat berkembang biji anggrek mengalami 5 fase. Fase 0 (nol) merupakan fase awal dimana biji belum terlihat berkecambah. Selanjutnya fase 1 yaitu tahapan dimana biji membentuk protokorm. Protokorm adalah tahap awal perkecambahan biji anggrek yang merupakan massa sel yang diproduksi ketika biji berkecambah . Setelah fase 1, biji akan mengalami fase 2 yang ditandai dengan membesarnya protokorm dan terbentuknya primordia daun. Kemudian biji akan mengalami fase 3 dimana protokorm mulai membentuk daun dan akar yang pertama. Selanjutnya akan tumbuh beberapa helaian daun-daun kecil beserta akar yang menandakan pertumbuhan biji berada pada fase 4. Tahapan perkembangan yang terakhir adalah terbentuknya tanamana kecil atau planlet yang merupakan fase 5 sekaligus fase tahapan terakhir dari pertumbuhan dan perkembangan awal biji anggrek [6].

Pertumbuhan tanaman termasuk pada biji anggrek *Dendrobium taurulinum* yang digunakan pada penelitian ini

dipengaruhi oleh suatu senyawa pengatur tumbuh yang lebih dikenal sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik ataupun anorganik yang hanya dibutuhkan tanaman dalam konsentrasi yang sangat sedikit. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk menginduksi pertumbuhan pada teknik mikropropagasi adalah kombinasi golongan auksin dan sitokinin dimana pada penelitian ini jenis yang digunakan adalah NAA yang dikombinasikan dengan BAP [13].



Gambar. 1. Perkembangan biji *Dendrobium taurulinum* sampai menjadi planlet. (a) fase 0: biji belum berkecambah; (b) fase 1: biji membentuk protokorm; (c) fase 2: protokorm dengan primordia daun; (d) fase 3: protokorm dengan daun dan akar pertama; (e) fase 4: protokorm dengan beberapa daun dan akar; (f) fase 5: planlet; (1) primordia daun; (2) daun pertama; (3) akar pertama.

Berdasarkan grafik terlihat bahwa pertumbuhan biji angrek *D. taurulinum* hingga fase lima (5) hanya terjadi pada perlakuan kontrol. Biji *D. taurulinum* mengalami proses perkecambahan yang merupakan pertumbuhan awal dari suatu biji yang kemudian embrio di dalamnya membentuk individu baru. Perkecambahan adalah proses pertumbuhan embrio dan komponen-komponen biji yang mempunyai kemampuan untuk tumbuh secara normal menjadi tanaman baru. Saat jaringan mengalami hidrasi, giberelin (GA_3) yang ada di dalam jaringan aktif dimana aktivasi GA_3 tersebut menyebabkan jaringan mengeluarkan enzim hidrolitik. Selain itu, secara sinergis, pengaktifan GA_3 pada suatu jaringan juga diiringi oleh aktifnya auksin dan sitokinin. Keberadaan auksin

pada sel menyebabkan semakin meningkatnya permeabilitas sel terhadap air sehingga tekanan dinding sel menurun dimana hal tersebut menyebabkan dinding sel melunak yang ditandai dengan pecahnya kulit biji sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang menyebabkan bertambahnya volume sel [11]

Transport auksin pada sel tanaman bersifat polar, yaitu dari atas ke bawah. Menurut hipotesis pertumbuhan asam, pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memiliki peranan penting dalam respon sel-sel tumbuhan terhadap keberadaan auksin. Saat auksin disintesis oleh sel, pH dinding sel menurun dimana pengasaman dinding sel ini mengaktifkan enzim ekspansin yang memecahkan ikatan hidrogen yang terdapat di antara mikrofibril selulosa sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Dengan begitu air dari lingkungan dapat masuk ke dalam sel secara osmosis dan menyebabkan penambahan volume sel. Ketika sel mulai bervolume dinding sel akan mengaktifkan enzim extensin yang berfungsi untuk merekatkan kembali mikrofibril selulosanya, perlahan-lahan auksin akan mengalir melalui jaringan floem ke sel yang ada di bawahnya dan melakukan mekanisme yang sama dengan sel sebelumnya sehingga terjadilah pembesaran suatu jaringan [14]

Sementara itu, sitokinin memacu pembelahan sel biji dimana ketika rasio antara auksin dan sitokinin seimbang akan tumbuh sel-sel meristem yang terus membelah dan berkembang membentuk organ. Secara sinergis, meningkatnya konsentrasi auksin di dalam sel merupakan stimulus untuk aktivasi sitokinin. Aktifnya sitokinin diikuti dengan aktifnya enzim yang menaikkan laju sintesis protein yang merupakan protein pembangun sel sehingga terbentuklah sel-sel baru yang pada akhirnya terdiferensiasi menjadi organ tertentu [15].

Perlakuan kontrol ini menghasilkan 100% fase 5 pada pertumbuhan kecambahnya. Hal ini membuktikan bahwa suatu organ dan jaringan tumbuhan mengandung hormon endogen yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ atau jaringan tersebut hingga tahapan yang paling sempurna walaupun tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh dari luar.

Penambahan 0.1 ppm NAA dan 0.1 ppm BAP pada medium mengakibatkan biji didominasi oleh perkecambahan pada fase

1 yaitu sebesar 89.3% sedangkan beberapa diantaranya berkembang hingga fase 2 dan 3 secara berturut-turut sebesar 4 dan 5.33% serta hanya 1% yang mencapai fase 4. Pada perlakuan lainnya pun terlihat bahwa pertumbuhan biji didominasi oleh fase I yaitu mulai terbentuknya protokorm pada biji yang pada gambar 5 terlihat bahwa perlakuan 2 hingga 16 memiliki persentase secara berturut-turut yaitu 89.3% , 87.8% , 98.9% , 87.4% , 19.8% , 74.6% , 86.2% , 92.3% , 100% , 100% , 69.7% , 82.9% , 60.2% , 59.4% dan 65%. Terbentuknya fase 1 serentak muncul 30 hari setelah inokulasi.

Fase 1 merupakan tahapan awal bagi suatu perkecambahan biji angrek yang dikulturkan secara *in vitro*. Pada fase ini biji mulai mengalami morfogenesis atau perubahan bentuk yaitu

bentukan bulat padat berwarna hijau. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kombinasi penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin dan sitokinin mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Jika rasio sitokinin dan auksin relatif seimbang maka eksplan akan membentuk massa sel yang bersifat meristematik dan terus melakukan pertumbuhan. Hal ini terjadi pada perlakuan 0.1 NAA/0.1 BAP, 0.2 NAA/0.1 BAP, 0.2 NAA/0.3BAP, 0.3 NAA/0.3 BAP, 0.4 NAA/ 0.3 NAA, 0.4 NAA/0.5 BAP dan 0.5 NAA/0.5 BAP dimana dominasi perkecambahan biji berada pada fase 1, yaitu berupa protokorm yang merupakan massa meristematis.

Penambahan auksin dengan konsentrasi tinggi mempunyai efek menghambat pertumbuhan jaringan yang disebabkan terdapat persaingan dengan auksin endogen untuk mendapatkan tempat kedudukan penerima sinyal membran sel sehingga penambahan auksin dari luar tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel. Pada kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) 0.1 NAA/0.5 BAP, 0.2 NAA/0.5 BAP, 0.3 NAA/0.5 BAP, serta 0.1 NAA/0.3 BAP didapatkan perkecambahan pada fase 1. Hasil yang berbeda dengan teori tersebut diindikasikan karena konsentrasi sitokinin yang ditambahkan serta sitokinin endogennya tidak cukup tinggi untuk menggiatkan perkembangan protokorm menjadi tunas (daun) sehingga aktivitas sel hanyalah pembelahan dan pembesaran tanpa adanya diferensiasi menjadi organ.

Dari seluruh perlakuan dapat diketahui bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA dan BAP tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji Anggrek *Dendrobium taurulinum* karena tidak dihasilkan perkecambahan fase lima (5) yang merupakan planlet hasil kultur. Hal ini didukung dengan penelitian yang menggunakan biji anggrek *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. sebagai objek penelitiannya dengan pemberian perlakuan pengaruh media dan penambahan ZPT Auksin (2,4D) dan Sitokinin (BAP), diketahui bahwa penambahan auksin dan sitokinin tidak berpengaruh terhadap persentase perkecambahan [16].

IV. KESIMPULAN

Pertumbuhan biji *Dendrobium taurulinum* pada medium dengan perlakuan tanpa penambahan zat pengatur tumbuh menunjukkan hasil terbaik yaitu seluruhnya tumbuh mencapai fase 5 yaitu membentuk planlet diduga biji *Dendrobium taurulinum* mengandung hormon endogen yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ atau jaringan tersebut hingga tahapan yang paling sempurna walaupun tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh dari luar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si. dan Ibu Siti Nurfadilah, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing tugas akhir. Kepada Ibu Indah Trisnawati D.T., M. Si, Ph. D., Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si. dan Ibu Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji sidang tugas akhir. Terima kasih kepada Lembaga Ilmu Pengetahuan

Indonesia (LIPI) Purwodadi atas kerja samanya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Cribb, P.J. 1986. *Dendrobium* sect. *Spatulata* Lindl., the correct name for the 'Antelope' dendrobiums. *Orchadian* 7(8): 189
- [2] Risna R.A., et al. 2010. *Spesies Prioritas Untuk Konservasi Tumbuhan Indonesia*. Seri I. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI
- [3] Arditti, J. dan Ernst, R. 1993. *Micropropagation of Orchid*. John Wiley& Sons Inc. New York.
- [4] Bey Y, Syafii W dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (Ga3) Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis* Bl) Secara In Vitro. *Jurnal Biogenesis* Vol. 2(2):41-46. ISSN : 1829-5460.
- [5] Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya*. PT. Bumi Aksara : Jakarta.
- [6] Nurfadilah, Siti. 2011. The Effect of light on the germination and the growth of the seeds of *Dendrobium spectabile* Bl (Orchidaceae) *in vitro*. *Prosiding Makalah Seminar Kebun Raya Cibodas-LIPI*
- [7] Kurnianti, L.F (2012). Pengaruh Konsentrasi ZPT NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Biji *Dendrobium capra* secara in vitro. *Skripsi*, Biologi FMIPA ITS.
- [8] Shin Y-K. et al. 2011. Effects of activated charcoal, plant growth regulators and ultrasonic pre-treatments on *in vitro* germination and protocorm formation of *Calanthe* hybrids. *Australian Journal Of Crop Science*. AJCS AJCS 5(5):582-588 (2011). ISSN:1835-2707
- [9] Luan V.Q. et al. 2006. *In Vitro* Germination Capacity And Plant Recovery Of Some Native And Rare Orchids. Nong Lam University Ho Chi Minh City. Vietnam. *Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture*
- [10] Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambilo dengan Eksplan Potongan Daun. *Skripsi*. Biologi FMIPA UNS: Semarang
- [11] Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- [12] McKendrick, Sheena. 2000. *In vitro germination of orchids : a manual*. Copyright Ceiba Foundation for Tropical Conservation .
- [13] Santoso, U. dan Nursandi, F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- [14] Campbell. Neil A. 2002. *Biologi jilid 3*. Erlangga. Jakarta .
- [15] Salisbury, F. B and Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 4. ITB. Bandung
- [16] Hossain, M. M. 2008. Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Epidendrum ibaguense* Kunth (Orchidaceae). *African Journal of Biotechnology* Vol.7 (20)