

INISIASI *PROTOCORM LIKE BODIES* (PLB) *Dendrobium sylvanum*

Siti Malahayati^{1)*}, Noval²⁾, Setia Budi³⁾

^{1,2,3}Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Jl. Pramuka No 2, Pemurus Luar Kec. Banjarmasin Tim., Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan 70238 Indonesia

Info Artikel

Submitted: 31-05-2022

Revised: 03-06-2022

Accepted: 06-06-2022

*Corresponding author
Siti Malahayati

Email:
sitimalahayati95@gmail.com

ABSTRAK

Anggrek genus *Dendrobium* menghasilkan metabolit sekunder yang berkhasiat obat yaitu alkaloid, alkaloid yang utama pada *Dendrobium* yaitu dendrobine. Bagian tanaman anggrek yang mengandung metabolit sekunder dalam jumlah besar yaitu dalam bentuk protocorm like bodies (PLB). Pada penelitian ini dilakukan inisiasi PLB dari eksplan biji anggrek *Dendrobium sylvanum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi giberelin dalam medium Murashige and Skoog untuk inisiasi PLB yang optimal. Kultur biji dilakukan pada medium Murashige and Skoog dengan penambahan zat pengatur tumbuh giberelin (GA_3). Optimasi kultur biji dilakukan dengan penambahan 3 variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh, yaitu GA_3 1 ppm, GA_3 2 ppm, dan GA_3 4 ppm. Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi yang paling baik untuk inisiasi PLB adalah GA_3 1 ppm berdasarkan waktu muncul PLB, warna PLB, diameter PLB, indeks pertumbuhan PLB, dan anatomi PLB

Kata Kunci: Anggrek, *Dendrobium sylvanum*, kultur biji, PLB, Giberelin.

ABSTRACT

Abstract - Genus of *Dendrobium* orchid produces secondary metabolites namely medicinal alkaloid, the main alkaloid in *dendrobium* is dendrobine. Orchid plant parts that contain secondary metabolites in large quantities are in the form of protocorm like bodies (PLB). This research is about how to do an initiation of PLB from the seed of *Dendrobium sylvanum*. The aim of this research is to determine the concentration of giberelin (GA_3) in Murashige and Skoog (MS) medium for PLB optimal initiation. Seed culture was cultivated in MS medium supplemented with GA_3 in 3 concentrations: GA_3 1 ppm; GA_3 2 ppm; and GA_3 4 ppm. The result showed the concentration that can give the optimal growth is GA_3 1 ppm based on the appearance of PLB, colour of PLB, diameter of PLB, growth index, and anatomy of PLB.

Keywords : Anggrek, *Dendrobium sylvanum*, seed culture, PLB, giberelin.

PENDAHULUAN

Anggrek dikenal sebagai tanaman hias karena keindahan dan keunikannya, namun anggrek juga mempunyai manfaat lain. Di beberapa negara anggrek sudah dimanfaatkan sebagai tanaman berkhasiat obat dan bahan kosmetika (Andiani, 2008). Pada anggrek *Dendrobium auranticum* bagian daunnya dapat digunakan sebagai obat hipotensi, sedangkan pada *Dendrobium chrysantum* dan *Dendrobium densiflorum* bagian daunnya digunakan sebagai obat diabetes (Andiani, 2008). Potensi *Dendrobium* sebagai obat disebabkan karena anggrek ini menghasilkan berbagai macam metabolit penting, diantaranya adalah alkaloid. Alkaloid utama pada *Dendrobium* adalah Dendrobine ($C_{16}H_{25}O_2N$) (Bulpitt *et al.*, 2007).

Kendala utama dalam budidaya anggrek adalah biji anggrek tidak memiliki endosperm (cadangan makanan) yang dibutuhkan pada masa perkecambahan sehingga sulit tumbuh di alam (Sandra, 2006). Salah satu cara mengatasi masalah tersebut adalah dengan menggunakan terobosan kultur jaringan *in vitro*, salah satunya yaitu kultur biji. Hasil awal dari kultur biji anggrek berupa *Protocorm like bodies* (PLB). PLB merupakan suatu struktur berupa bulatan-bulatan yang dibentuk oleh jaringan eksplan dan atau kalus *in vitro* (Wijayani *et al.*, 2007). Mengecambahkan biji anggrek menjadi *protocorm like bodies* (PLB) secara kultur jaringan mendatangkan banyak keuntungan, keuntungan yang paling utama yaitu menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah besar (Hendaryono, 2012).

Keberhasilan pertumbuhan sel, jaringan dan organ pada kultur *in vitro* sangat dipengaruhi hubungan timbal balik antara tanaman dengan faktor lingkungan, diantaranya media. Selain media, hormon atau zat pengatur tumbuh (ZPT) juga memegang peranan penting dalam perkecambahan dan pertumbuhan anggrek (Bey *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian dari Bey *et al.* (2005) dilakukan dengan menggunakan tanaman *Phalaenopsis amabilis* yang ditanam pada media dengan ZPT giberelin berbagai konsentrasi hasil menunjukkan bahwa Giberelin 2 ppm memberikan respon terbaik, yaitu mempercepat pembentukan *protocorm like bodies* (PLB).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *protocorm like bodies* (PLB) dapat dihasilkan dari biji *Dendrobium sylvanum* dalam medium *Murashige and Skoog* (MS) dengan ZPT giberelin dan mengetahui konsentrasi giberelin dalam medium MS untuk inisiasi PLB yang optimal.. Parameter untuk mengamati hasil inisiasi PLB adalah waktu munculnya PLB, warna PLB, diameter PLB, indeks pertumbuhan PLB, dan anatomi PLB.

METODE

Jenis Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ZPT dalam medium, sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan PLB dengan parameter pertumbuhannya yaitu waktu munculnya PLB, warna PLB, diameter PLB, indeks pertumbuhan (IP) PLB, dan anatomi PLB.

Sampel

Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan biji anggrek (*Dendrobium sylvanum*) yang memiliki karakteristik berwarna kuning, bentuk seperti serbuk. Biji anggrek didapat dari buah tua yang belum pecah diperoleh di DD'Nursery, Jl. Ir. Soekarno Kelurahan Dadaprejo Areng-Areng, Batu. Buah anggrek yang digunakan adalah buah anggrek yang memiliki karakteristik yakni bentuknya bulat dan berisi, serta berwarna coklat.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk melakukan teknik kultur jaringan tanaman adalah *sterile set* (pinset, sendok logam, *scalpel*/gunting, *beaker glass*, dan cawan petri yang sudah dilakukan sterilisasi dengan oven suhu 180° C selama 30 menit), LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), oven (WTC Binder), autoklaf 25 L (*American Portable Autoclaf WAF co. Inc*), timbangan analitik (Precisa 205A Super Ball series), gelas ukur, pembakar spiritus, *aluminium foil*, *beaker glass*, corong gelas, pipet tetes, pipet ukur, labu ukur, pengaduk kaca, botol kultur, *thermo hygrometer*, kompor, indikator universal, lemari es, *freezer* suhu -20° C dan -80° C.

Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan biji anggrek (*Dendrobium sylvanum*) yang memiliki karakteristik berwarna kuning, bentuk seperti serbuk. Biji anggrek didapat dari buah tua yang belum pecah diperoleh di DD'Nursery, Jl. Ir. Soekarno Kelurahan Dadaprejo Areng-Areng, Batu. Buah anggrek yang digunakan adalah buah anggrek yang memiliki karakteristik yakni bentuknya bulat dan berisi, serta berwarna coklat.

Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Peralatan

Sterilisasi peralatan dilakukan dengan mencuci alat-alat (gunting, pinset, sendok, beker, cawan petri, botol tinggi, dll) yang akan digunakan dengan menggunakan sabun, kemudian dibilas dengan *aquadem*. Tahap selanjutnya dikeringkan dengan serbet, dibungkus dengan *aluminium foil*, dimasukkan semua alat tersebut kedalam oven (suhu 180° C selama 30 menit). Alat-alat tetap disimpan di dalam oven sampai saatnya digunakan baru dikeluarkan dari oven.

2. Sterilisasi Ruang *Laminar Air Flow* (LAF)

LAF dibuka, lalu meja kotak transfer disemprot dengan menggunakan alkohol 70% dan dibersihkan dengan tisu. Langkah selanjutnya alat-alat yang telah disterilkan dikeluarkan dari oven dan ditaruh pada botol kultur yang telah diisi dengan alkohol 96%, lalu botol untuk merendam eksplan katuk, botol berisi media, botol berisi air yang telah disterilkan, *beaker glass*, dan cawan petri disemprot dengan alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam LAF dan LAF ditutup. UV pada LAF dinyalakan selama 1 jam dan UV pada ruang juga dinyalakan 1 jam. UV ruang dan LAF dimatikan setelah 1 jam.

3. Pembuatan medium MS

Medium yang dibuat adalah medium untuk inisiasi *protocorm like bodies* (PLB). Komponen-komponen dalam medium MS semuanya dalam bentuk larutan stok, kecuali mio-inositol, sukrosa dan agar. Semua komponen medium MS yang dalam bentuk larutan diambil sejumlah volume tertentu, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1L. Tahap selanjutnya pada *beaker glass* ditambahkan mio- inositol dan sukrosa dalam jumlah tertentu, kemudian ditambahkan pula zat pengatur tumbuh giberelin, serta *aquadem* dalam jumlah yang telah ditentukan. Dilakukan pengecekan pH, kemudian diatur supaya didapatkan pH $\pm 5,8$ dengan penambahan HCl 0,1 N jika terlalu basa atau NaOH 0,1 N jika terlalu asam. *Aquadem* ditambahkan sampai volume yang ditentukan, lalu ditambahkan agar yang sudah ditimbang sejumlah tertentu, dipanaskan hingga mendidih dan terbentuk larutan jernih sambil terus

diaduk dengan pengaduk kaca. Api dimatikan setelah mendidih, larutan jernih tersebut dituangkan ke dalam botol kultur setinggi ± 1 cm, lalu botol kultur ditutup dengan *aluminium foil* dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 C selama 20 menit. Botol kultur yang telah selesai disterilkan dikeluarkan dari autoklaf dan dipindahkan ke dalam ruang kultur dengan yang diatur supayadidapatkan suhu antara 23–27° C, kelembapan 45 – 55%, dan intensitas cahaya 82 watt/m .

4. Sterilisasi Permukaan Eksplan

Prosedur sterilisasi permukaan eksplan diadaptasi dari Hendaryono (2007), dalam metode ini biji yang digunakan berasal dari buah tua yang belum pecah. Pertama buah dicuci dahulu dengan sabun hingga bersih, kemudian dibilas dengan air mengalir berulang kali. Buah yang sudah dicuci segera dibawa ke ruang penaburan atau ruang enkas. Di dekat enkas tersebut, lampu spiritus, alkohol dalam boks *stainless steel*, botol media, pinset, dan alat-alat lain telah dipersiapkan pula. Selanjutnya buah dijepit dengan pinset dan dicelupkan ke dalam alkohol 70% atau spiritus. Buah dibakar dengan api spiritus hingga tiga kali. Setelah pembakaran yang ketiga selesai dan api yang membakar buah sudah benar-benar padam, maka buah langsung dimasukkan ke dalam enkas dan diletakkan di atas cawan petridis yang telah dipersiapkan sebelumnya. Kemudian, buah dibelah memanjang dengan *scalpel* steril yang tajam, sehingga akan terlihat biji anggrek berwarna putih dalam jumlah yang sangat banyak. Biji sangat kecil menyerupai serbuk. Selanjutnya biji diambil dengan pinset panjang yang dirancang khusus untuk penaburan anggrek, sehingga biji-biji anggrek berada di antara dua lidah pinset. Biji tersebut dimasukkan ke dalam botol media baru yang berisi media padat MS.

5. Inisiasi *Protocorm Like Bodies*

Eksplan biji yang sudah disterilisasi ditanam pada medium MS dengan konsentrasi ZPT Giberelin 1 ppm, 2 ppm, dan 4 ppm. Medium yang berisi eksplan disimpan pada ruang kultur yang sudah diatur suhunya 23° C - 27° C, kelembaban 45% - 55% dan intensitas cahaya 8 watt/m². Eksplan diamati tiap interval waktu tertentu untuk melihat waktu munculnya PLB, warna PLB, diameter PLB, IP PLB, dan anatomi PLB.

6. Pengamatan Profil Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies*

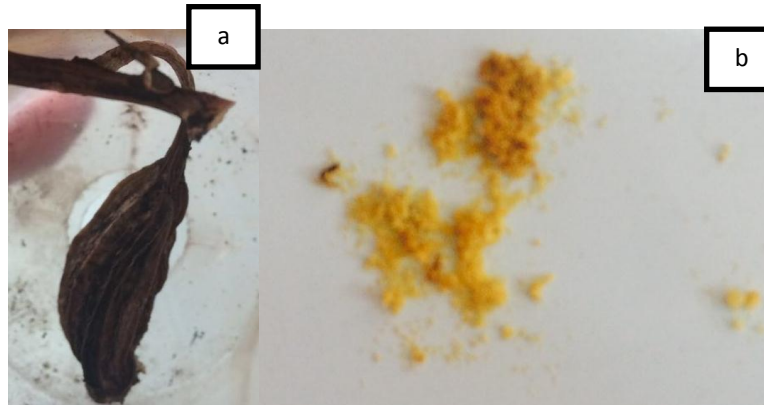
Pengamatan terhadap waktu muncul PLB, warna PLB, diameter PLB, IP PLB, dan anatomi PLB dilakukan sebanyak 10 kali yang dilakukan saat PLB berumur 3 hari, 5 hari, 7 hari, 11 hari, 14 hari, 17 hari, 19 hari, 20 hari, 38 hari, dan 40 hari. Pengamatan waktu muncul PLB, warna PLB, diameter PLB, IP PLB, dan anatomi PLB dianalisis secara deskriptif. Pengamatan waktu munculnya PLB dan warna PLB diamati dengan cara melihat pertumbuhan biji secara langsung tanpa alat. Pengamatan diameter PLB diamati dengan cara mengukur tingginya menggunakan kertas diameter. Pengamatan IP PLB diamati dengan cara ditimbang menggunakan timbangan. Pengamatan anatomi PLB dengan menggunakan mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil sampling eksplan *Dendrobium sylvanum* yang digunakan untuk inisiasi PLB *Dendrobium sylvanum* adalah biji yang memiliki karakteristik berwarna kuning, bentuk seperti

serbuk yang berasal dari buah tua yang belum pecah berwarna coklat, bentuk buahnya bulat dan berisi. Hasil sampling eksplan biji *Dendrobium sylvanum* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 Hasil sampling eksplan *Dendrobium sylvanum* : (a) buah *Dendrobium sylvanum*, (b) biji *Dendrobium sylvanum*

Hasil pengamatan waktu muncul PLB yang diamati pada saat inisiasi dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1 Hasil Pengamatan Rentang Waktu Pemunculan PLB *Dendrobium sylvanum*

Perlakuan	Hari setelah pengkulturan (hsp)
G1 (GA ₃ 1 ppm)	13-16
G2 (GA ₃ 2 ppm)	14-17
G3 (GA ₃ 4 ppm)	14-21

Berdasarkan tabel diatas dapat terlihat bahwa dengan perlakuan ZPT GA₃ konsentrasi 1 ppm waktu muncul PLB lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

Hasil pengamatan morfologis PLB yang diamati berdasarkan warna PLB *Dendrobium sylvanum* dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 2.



Gambar 2 Hasil pengamatan morfologis PLB *Dendrobium sylvanum* hari ke-40 : (a) medium GA₃ 1 ppm (b) medium GA₃ 2 ppm (c) medium GA₃ 4 ppm

Berdasarkan gambar 2, dapat terlihat bahwa pada hari ke-40 PLB pada semua ZPT pada medium GA₃ 1 ppm berwarna paling hijau.

Tabel 2 Hasil Pengamatan Morfologis PLB *Dendrobium sylvanum*

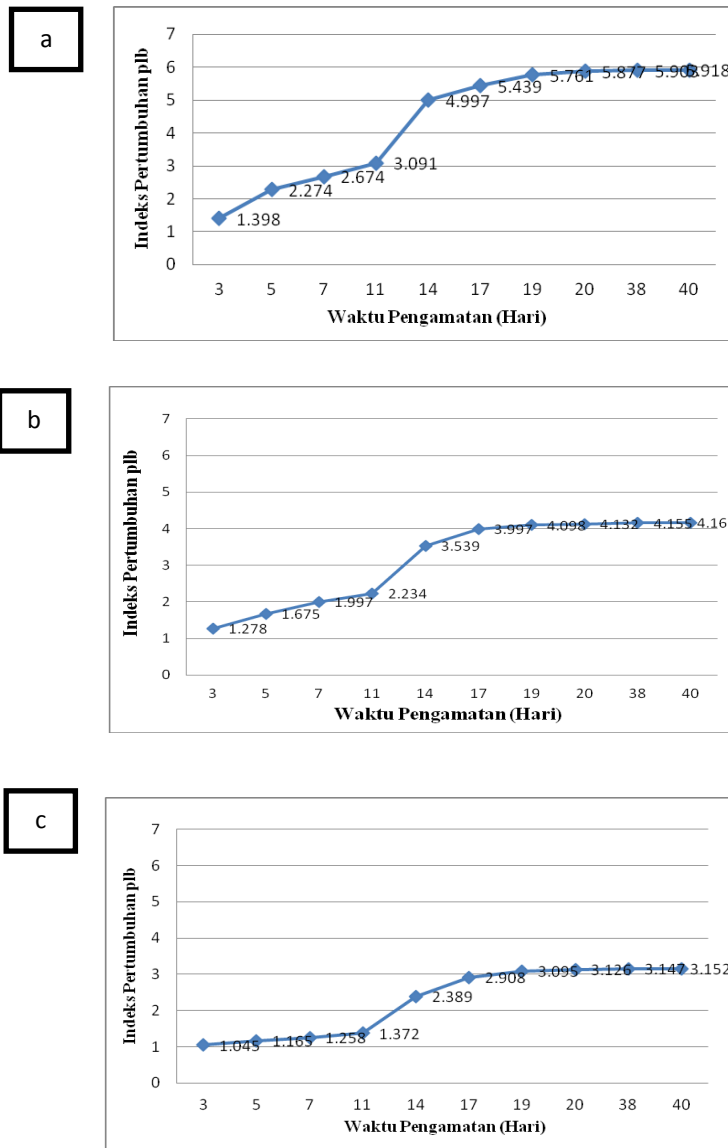
Pengamatan hari ke-	Warna		
	GA ₃ 1 ppm	GA ₃ 2 ppm	GA ₃ 4 ppm
3	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
5	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
7	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
11	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
14	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
17	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
19	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
20	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
38	Hijau	Hijau muda	Hijau muda
40	Hijau	Hijau muda	Hijau muda

Pengamatan morfologis PLB dari hari ke 3 hingga hari ke-40 menunjukkan bahwa PLB pada medium GA₃ 1 ppm berwarna paling hijau. Hasil pengukuran dari berat PLB *Dendrobium sylvanum* dan perhitungan IP dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3 Hasil Pengukuran Indeks Pertumbuhan PLB *Dendrobium sylvanum*

Panen hari ke-	Media	Rata-Rata IP ± SD	KV
3	GA ₃ 1 ppm	1,398 ± 0,0061	0,44%
	GA ₃ 2 ppm	1,278 ± 0,0348	2,72%
	GA ₃ 4 ppm	1,045 ± 0,0412	3,94%
5	GA ₃ 1 ppm	2,274 ± 0,0340	1,50%
	GA ₃ 2 ppm	1,675 ± 0,3143	1,88%
	GA ₃ 4 ppm	1,165 ± 0,0308	2,65%
7	GA ₃ 1 ppm	2,674 ± 0,0569	2,13%
	GA ₃ 2 ppm	1,997 ± 0,0170	0,85%
	GA ₃ 4 ppm	1,258 ± 0,0360	2,83%
11	GA ₃ 1 ppm	3,091 ± 0,0882	2,85%
	GA ₃ 2 ppm	2,234 ± 0,0406	1,82%
	GA ₃ 4 ppm	1,373 ± 0,0290	2,12%
14	GA ₃ 1 ppm	4,997 ± 0,1259	2,52%
	GA ₃ 2 ppm	3,539 ± 0,0762	2,15%
	GA ₃ 4 ppm	2,389 ± 0,0294	1,23%
17	GA ₃ 1 ppm	5,439 ± 0,0620	1,14%
	GA ₃ 2 ppm	3,997 ± 0,0340	0,85%
	GA ₃ 4 ppm	2,908 ± 0,0585	2,01%
19	GA ₃ 1 ppm	5,761 ± 0,0647	1,12%
	GA ₃ 2 ppm	4,098 ± 0,0549	1,34%
	GA ₃ 4 ppm	3,095 ± 0,0806	2,61%
20	GA ₃ 1 ppm	5,877 ± 0,0340	0,58%
	GA ₃ 2 ppm	4,132 ± 0,0387	0,94%
	GA ₃ 4 ppm	3,126 ± 0,0696	2,22%
38	GA ₃ 1 ppm	5,903 ± 0,0075	0,13%
	GA ₃ 2 ppm	4,155 ± 0,0062	0,15%
	GA ₃ 4 ppm	3,147 ± 0,0036	0,11%
40	GA ₃ 1 ppm	5,918 ± 0,0026	0,04%
	GA ₃ 2 ppm	4,161 ± 0,0027	0,06%
	GA ₃ 4 ppm	3,152 ± 0,0021	0,07%

Berdasarkan pada tabel 3 PLB pada medium GA₃ 1 ppm menunjukkan perhitungan IP yang terbesar dibandingkan PLB pada medium GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm di semua hari panen. Kurva pertumbuhan PLB yang ditanam pada medium GA₃ 1 ppm, GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm dapat dilihat pada gambar 3.



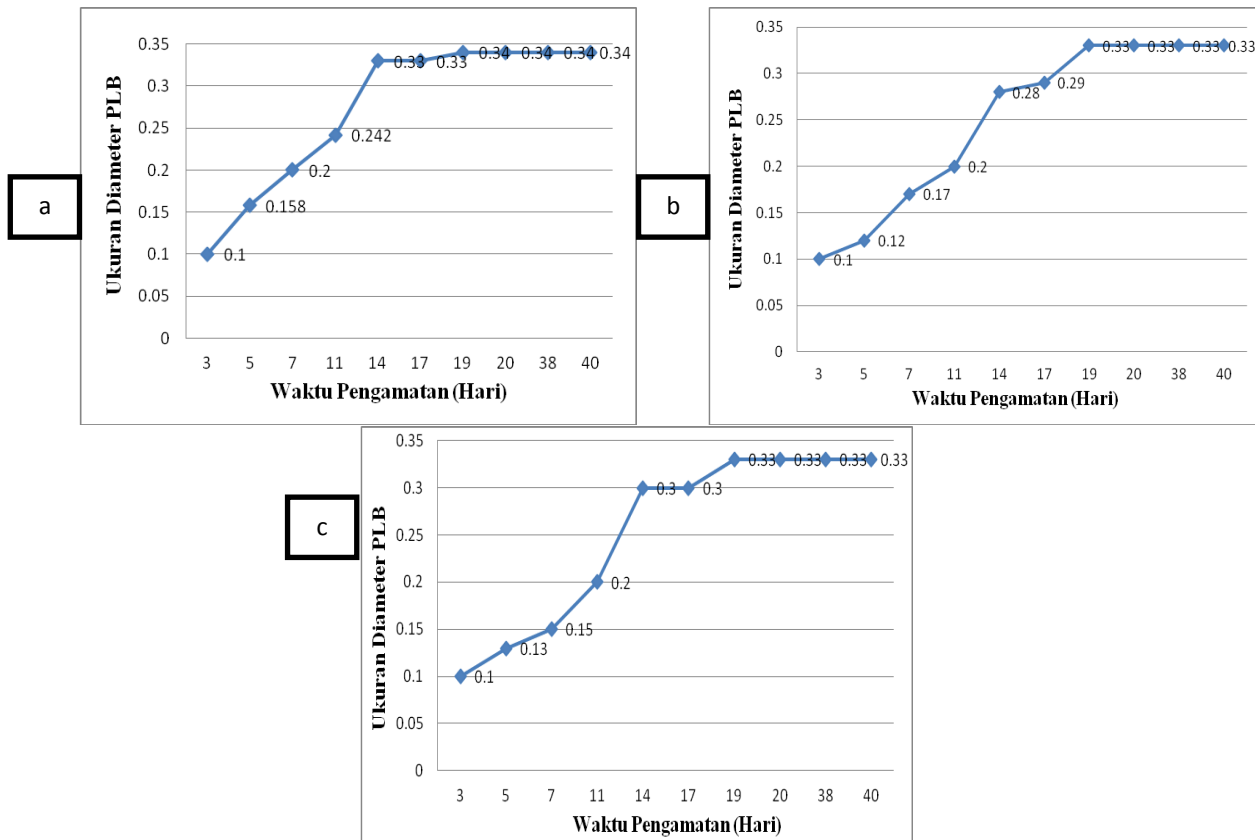
Gambar 3. Kurva indeks pertumbuhan PLB dalam : (a) medium GA₃ 1 ppm; (b) medium GA₃ 2 ppm; (c) medium GA₃ 4 ppm

Gambar 3 menunjukkan bahwa kecepatan pertumbuhan PLB paling cepat terjadi pada hari ke-3 sampai dengan hari ke-19, sedangkan pada hari ke-19 sampai dengan hari ke-40, kecepatan pertumbuhan cenderung mendekati konstan.

Berdasarkan pada gambar 3, PLB mengalami fase eksponensial dari hari ke-3 sampai hari ke-14. Fase linier dimulai dari hari ke-14 sampai hari ke-19 yang ditandai dengan pertumbuhan yang paling cepat terjadi karena sel-sel PLB aktif membelah. Fase deselerasi dimana sel mulai lambat membelah yang ditunjukkan dengan IP yang mulai cenderung konstan yang dimulai dari hari ke-19 sampai hari ke-38. Fase stasioner ditunjukkan dengan IP yang sudah mulai konstan yang dimulai pada hari ke-38 sampai hari ke-40. Subkultur paling ideal

dilakukan pada fase deselerasi karena ketika melewati fase deselerasi dan masuk ke pertengahan fase stasioner, sel tidak lagi aktif membelah.

Hasil pengamatan ukuran diameter PLB menunjukkan bahwa kecepatan pertambahan ukuran diameter PLB paling cepat terjadi pada hari ke-3 sampai dengan hari ke-14, sedangkan hari ke-14 sampai dengan hari ke-40 kecepatan pertumbuhan mendekati konstan. Hasil pengamatan ukuran diameter PLB dapat dilihat pada gambar 4.

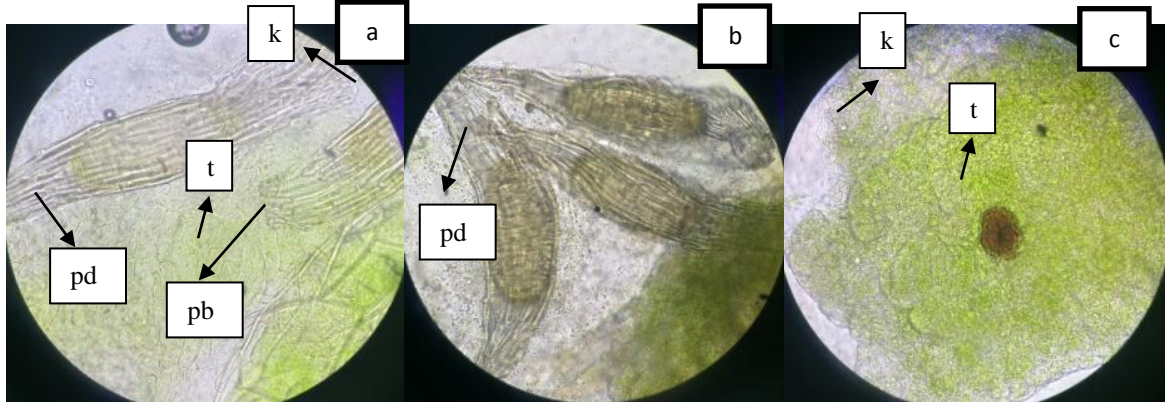


Gambar 4 Kurva pengukuran diameter PLB dalam : (a) medium GA₃ 1 ppm; (b) medium GA₃ 2 ppm; (c) medium GA₃ 4 ppm

Berdasarkan gambar 4, pada hari ke-3 sampai hari ke-40 PLB mengalami pertambahan diameter pada semua medium. Pertambahan diameter paling besar terdapat pada medium GA₃ 1 ppm, sedangkan GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm juga mengalami pertambahan diameter namun tidak sebesar GA₃ 1 ppm.

Berdasarkan dari grafik diameter PLB, PLB yang ditanam di medium GA_3 1 ppm menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-14 lebih cepat dari pada 2 medium lainnya. GA_3 1 ppm diduga merupakan komposisi yang paling baik untuk kultur biji *Dendrobium sylvanum* menjadi PLB.

Hasil pengamatan mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel-sel pada PLB *Dendrobium sylvanum*. Hasil pengamatan mikroskopik PLB dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5 Hasil pengamatan mikroskopik PLB *Dendrobium sylvanum* hari ke-7 : (a) medium GA_3 1 ppm (b) medium GA_3 2 ppm (c) medium GA_3 4 ppm

Anatomi PLB *Dendrobium sylvanum* menunjukkan diferensiasi sel-sel PLB membentuk bagian-bagian tunas yaitu primordial daun (pd), primordial batang (pb), tunika (t), dan korpus (k).

Pembahasan

Eksplan yang digunakan untuk inisiasi PLB *Dendrobium sylvanum* adalah biji berwarna kuning dan bentuknya seperti serbuk yang berasal dari buah tua yang belum pecah berwarna coklat, bentuknya bulat dan berisi. Zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini adalah Giberelin (GA_3) karena perannya di dalam tanaman adalah meningkatkan perkecambahan biji dan menginduksi pemanjangan ruas (Zulkarnain, 2014). Giberelin juga mempunyai kemampuan mempercepat perkecambahan pada hampir semua biji tanaman dan memacu pertumbuhan. (Murniati *et al.*, 2002).

Waktu yang dibutuhkan untuk tumbuhnya PLB pada penelitian ini yang paling cepat terdapat pada eksplan yang ditanam pada medium Giberelin (GA_3) 1 ppm dilihat dari data waktu muncul PLB yang menunjukkan GA_3 1 ppm muncul lebih cepat dibandingkan medium lainnya yaitu pada hari ke-13. Selain itu, dapat juga dilihat dari grafik indeks pertumbuhan PLB yang ditanam di medium GA_3 1 ppm menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-3 lebih cepat daripada 2 medium lainnya. Jika dilihat dari grafik diameter PLB, PLB yang ditanam di medium GA_3 1 ppm menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-14 lebih cepat dari pada 2 medium lainnya. GA_3 1 ppm diduga merupakan komposisi yang paling baik untuk kultur biji

Dendrobium sylvanum menjadi PLB.

Inisiasi PLB yang paling optimal dapat diketahui dengan cara melihat dari data waktu muncul PLB yang paling cepat muncul adalah biji yang ditanam pada medium GA_3 1 ppm, setelah dilakukan subkultur pasasi I, pertumbuhan PLB yang paling optimal dapat dilihat dari

diameter PLB dan indeks pertumbuhan pada hari ke 3, 5, 7, 11, 14, 17, 19, 20, 38 dan 40, hasil paling optimal yang didapatkan pada penelitian ini adalah PLB yang ditanam pada medium GA₃ 1 ppm karena menunjukkan fase eksponensial paling cepat serta menunjukkan penambahan diameter dan berat paling besar dibanding 2 medium lainnya. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bey *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa pemberian giberelin pada konsentrasi yang lebih tinggi, giberelin mulai menghambat pertumbuhan PLB. Terjadinya penurunan berat PLB disebabkan oleh konsentrasi giberelin sudah melebihi kebutuhan.

Warna PLB diamati pada hari ke 3, 5, 7, 11, 14, 17, 19, 20, 38 dan 40, yang paling hijau umumnya terdapat pada PLB yang ditanam pada medium dengan konsentrasi GA₃ 1 ppm (paling rendah). Pada saat inisiasi terdapat 2 botol PLB yang mengalami pencoklatan (*browning*) yaitu pada medium konsentrasi GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm. Pencoklatan (*browning*) adalah suatu keadaan dimana muncul warna coklat atau hitam yang menyebabkan tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan (Yuliarti, 2010). Sehingga menyebabkan biji tidak berkembang sama sekali. Kultur biji pada medium GA₃ 2 ppm dan 4 ppm lebih mudah berubah warna dari kuning menjadi kecoklatan. Hal ini karena adanya konsentrasi giberelin yang tinggi menyebabkan proses fisiologis sel yang terganggu (Bey *et al.*, 2005).

Kurva indeks pertumbuhan (IP) bertujuan untuk mengetahui kapan PLB harus dipindah ke media yang baru. Kurva IP ini membentuk kurva sigmoid dimana terjadi fase *lag*, eksponensial, linier, deselerasi, dan stasioner. Setiap fase tersebut dapat diketahui dengan mengamati berat akhir pada hari ke 3, 5, 7, 11, 14, 17, 19, 20, 38 dan 40.

Berdasarkan pada gambar 4.3, PLB mengalami fase eksponensial dari hari ke- 3 sampai hari ke-14. Fase linier dimulai dari hari ke-14 sampai hari ke-19 yang ditandai dengan pertumbuhan yang paling cepat terjadi karena sel-sel PLB aktif membelah. Fase deselerasi dimana sel mulai lambat membelah yang ditunjukkan dengan IP yang mulai cenderung konstan yang dimulai dari hari ke-19 sampai hari ke-38. Fase stasioner ditunjukkan dengan IP yang sudah mulai konstan yang dimulai pada hari ke-38 sampai hari ke-40. Subkultur paling ideal dilakukan pada fase deselerasi karena ketika melewati fase deselerasi dan masuk ke pertengahan fase stasioner, sel tidak lagi aktif membelah.

PLB pada medium GA₃ 1 ppm selalu memiliki IP yang tertinggi dibanding GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm pada semua hari panen. Perbedaan ini bisa dikarenakan konsentrasi GA₃ yang lebih rendah yang akan meningkatkan metabolisme sel sehingga hasil yang didapatkan lebih banyak. Metabolisme sel dipengaruhi oleh aktifitas giberelin yang memacu hidrolisis pati menjadi gula sebagai energi yang dipakai dalam pembelahan sel (Bey *et al.*, 2005). Konsentrasi terendah GA₃ 1 ppm dapat menyebabkan pertumbuhan paling optimal dari kultur biji karena GA₃ meningkatkan perkecambahan biji dan menginduksi pemanjangan ruas (Zulkarnain, 2014). Penggunaan GA₃ dengan konsentrasi yang terlalu tinggi bisa menyebabkan terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan PLB karena konsentrasi yang lebih tinggi akan mengganggu proses fisiologi sel (Bey *et al.*, 2005).

Anatomi PLB *Dendrobium sylvanum* menunjukkan diferensiasi sel-sel PLB membentuk bagian-bagian tunas yaitu primordial daun, primordial batang, tunika, dan korpus. Hal ini disebabkan karena zat pengatur tumbuh GA₃ dapat meningkatkan kandungan analisis dan

sitokimia sehingga sel-sel aktif membelah atau berdiferensiasi (Bey *et al.*, 2005). Diferensiasi sel-sel PLB membentuk bagian-bagian tunas paling awal terjadi pada PLB yang ditanam dalam medium GA₃ 1 ppm dan GA₃ 2 ppm.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kultur biji *Dendrobium sylvanum* dapat dilakukan inisiasi PLB pada medium *Murashige and Skoog* yang disuplementasi oleh Giberelin (GA₃) dilihat dari waktu muncul PLB, warna PLB, penambahan diameter PLB, indeks pertumbuhan PLB, dan anatomi PLB.

Komposisi GA₃ dalam medium MS yang digunakan ada 3 macam, yaitu GA₃ 1 ppm, GA₃ 2 ppm dan GA₃ 4 ppm. Dari penelitian ini, pertumbuhan paling optimal terlihat pada medium MS dengan konsentrasi GA₃ yaitu GA₃ 1 ppm dilihat dari waktu muncul PLB yang paling cepat yaitu 13 hari setelah pengkulturan, penambahan diameter PLB yang paling besar yaitu 0,34 cm, indeks pertumbuhan yang paling besar yaitu 5,918, dan warna PLB yang paling hijau, serta diferensiasi sel-sel PLB yang paling cepat dilihat dari anatomi PLB hari ke-7.

Perlu dilakukan optimasi pertumbuhan kultur PLB dengan variasi komponen media lain. Bisa dilakukan pemindahan ke media yang baru dalam waktu yang tepat. Perlu juga dilakukan penelitian lanjutan supaya PLB yang telah terbentuk dapat dilanjutkan dengan menumbuhkan pucuk, rooting dan aklimatisasi pada lingkungan tumbuh yang sebenarnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Andiani Y, 2008, *Usaha Pembibitan Anggrek Dalam Botol*, Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Bey Y, Wan Syafii dan Nur Ngafifah, 2005, *Pengaruh Pemberian Giberilin Pada Media Vacin dan Went Terhadap Perkecambahan Biji Anggrek Bulan (Phalaeonopsis amabilis) Secara In Vitro*, Jurnal Biogenesis. **1** (2): 57-61.
- Bulpitt JC, Pauline FB, Yan Li, et al, 2007, *The Use of Orchid in Chinese Medicine*, Journal of The Royal Society of Medicine. **100**: 558-563.
- Darmono DW, 2005, *Agar Anggrek Rajin Berbunga*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Global Biodiversity Information Facility, 2016, *Dendrobium sylvanum Rchb.f.*, Juli 2016, (online), (<http://www.gbif.org> diakses 17-08-2016).
- Govaerts, R., 2003, *World Checklist of Monocotyledons*, The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew, (online), (<http://apps.kew.org> diakses 17-08-2016).
- Gunawan LW, 2005, *Budidaya Anggrek*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hendaryono DPS, 2007, *Pembibitan Anggrek dalam Botol*, Kanisius, Yogyakarta.
- Hendaryono DPS dan Ari Wijayani, 2012, *Teknik Kultur Jaringan*, Kanisius, Yogyakarta.
- Maridassa M, MIZ Hussain and G Rajuc, 2008, *Phytochemical Survey of Orchids in the Tirunelveli Hills of South India*, Ethnobotanical Leaflets. **12**: 705-712.
- Murniati dan E. Zuhry, 2002, *Peranan Giberilin Terhadap Perkecambahan Benih Kopi Robusta (Coffea canephora pierrei)Tanpa Kulit*, Jurnal Saga. **1** (1).

- Nugroho A, 2006, *Mikropropagasi Dendrobium "Emma Pink" (Orchidaceae) pada Media Kultur In Vitro*, Jurnal Bioteknologi. **3** (1): 27-33.
- Redaksi Agromedia, 2009, *Cara Tepat Merawat Anggrek*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sandra E, 2013, *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*, IPB Press, Jakarta.
- Sandra E, 2006, *Membuat Anggrek Rajin Berbunga*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sandjaya A, E. Mursyanti, L. M. Ekawati Purwijantiningsih, 2013, *Pertumbuhan Protocorm Phalaenopsis Sogo Vivien Pada Medium New Phalaenopsis Dengan Variasi Kadar Ekstrak Tomat Dan Variasi Konsentrasi Asam Giberilat*, Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
- Wijayani Y, Solichatun, dan Widya Mudyantini, 2007, *Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi Protocorm Like Body Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NA*, Jurnal Bioteknologi, **4** (2): 33-40.
- Yuliarti N, 2010, *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*, Lily Publisher, Yogyakarta.
- Zulkarnain, 2014, *Kultur Jaringan Tanaman*, Bumi Aksara, Jambi.