



The Influence of Coconut Water and Activated Charcoal in MS Medium on In Vitro Callus Regeneration of *Dendrobium* sp. Cultivar Bertha Chong Orchids

Dessi Novita Sari, Zairin Thomy, Yunita

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Syiah Kuala
Darussalam 23111, Banda Aceh, Indonesia.
email:ecy_ns91@yahoo.com

Abstract. *Dendrobium* is one of the most commercial orchids. *In Vitro* technique is one of solution to fulfill the market demand of *Dendrobium*. Organic matters, such as coconut water, and activated charcoal are often given to *in vitro* medium to regenerate orchids callus. The addition of activated charcoal is not only adsorbing toxic substances but also organic matters. The aim of this research is to find the best combination for callus regeneration medium. The research was conducted at the Biological Cell and Molecular Laboratory, Mathematics and Natural Science Faculty of Syiah Kuala University, Darussalam, Banda Aceh since March to November 2013. The method used is experimental with Completely Randomized Factorial Design with two factor; treatments of coconut water and activated charcoal. The result showed that the combination of 150mL/L coconut water and 2,0g/L activated charcoal is the best result because it is the only treatment that have capability in producing plantlets within 60 days.

Keywords: *Dendrobium* sp. cultivar Bertha Chong, callus regeneration, coconut water, activated charcoal.

I. PENDAHULUAN

Dendrobium merupakan salah satu genus anggrek paling komersial yang memiliki pangsa pasar sekira 50% dari total pangsa pasar anggrek [1]. Banyak botanis melakukan persilangan anggrek *Dendrobium* untuk mendapatkan kultivar baru yang memiliki bentuk dan warna yang indah. Salah satu kultivar anggrek *Dendrobium* hasil persilangan botanis Thailand dikenal dengan nama *Dendrobium* Bertha Chong.

Perkembangan produksi anggrek saat ini masih relatif lambat, sementara permintaan pasar anggrek semakin meningkat setiap tahunnya [2]. Hambatan dalam pembudidayaan terjadi karena perkembangbiakan anggrek secara vegetatif hanya menghasilkan jumlah anakan yang sangat terbatas, sementara perkembangbiakan secara generatif terhambat karena biji anggrek sulit berkecambah. Permasalahan sulitnya perkembangbiakan anggrek secara konvensional menjadikan

teknik kultur *in vitro* sebagai alternatif untuk perbanyak anggrek skala besar. Penggunaan teknik ini dapat memberikan sediaan bibit anggrek dalam jumlah banyak dan dapat dilakukan dalam waktu yang relatif singkat dengan kualitas yang terjamin.

Perbanyak anggrek secara *in vitro* dapat dilakukan dengan terlebih dahulu menginduksi sel-sel kalus. Sel-sel kalus ini akan sangat menguntungkan untuk perbanyak anggrek skala besar karena setiap sel kalus dapat beregenerasi menjadi tumbuhan lengkap kembali.

Salah satu komponen yang sangat mempengaruhi regenerasi kalus adalah media kultur yang digunakan. Banyak penelitian telah dilakukan dengan memberikan bahan organik untuk mendapatkan formulasi media terbaik bagi pertumbuhan anggrek. Bahan organik mengandung zat-zat nutrisi seperti vitamin, asam amino, asam nukleat, dan beberapa hormon pertumbuhan yang dapat dimanfaatkan

tanaman untuk memicu pertumbuhan dan perkembangannya. Hasil penelitian penggunaan bahan organik untuk pertumbuhan kultur *in vitro* anggrek dilaporkan menunjukkan hasil paling optimal pada media yang diberikan penambahan bahan organik berupa air kelapa dan pisang [3].

Arang aktif sering ditambahkan dalam media kultur *in vitro* untuk fase pertumbuhan planlet. Arang aktif memiliki kemampuan menyerap senyawa-senyawa toksik yang ada dalam media dan merangsang inisiasi akar [4]. Penelitian mengenai pengaruh kombinasi mio-inositol dan arang aktif terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. dalam kultur *in vitro* melaporkan pemberian arang aktif tidak hanya menyerap senyawa toksik, tetapi juga menyerap bahan organik lainnya seperti mio-inositol [5].

II. METODOLOGI

Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Sel dan Molekuler Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Syiah Kuala. Penelitian dilakukan dari bulan Maret hingga November 2013.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *Autoclave*, lemari pendingin, timbangan analitik, lampu spiritus, pinset, skalpel, spatula, corong, pipet tetes, gelas *erlenmeyer*, gelas ukur, gelas kimia, *hot plate*, *magnetic stirrer*, oven, rak kultur, cawan petri, batang pengaduk, botol kultur, botol alkohol, *sprayer*, masker, mistar, alat tulis dan alat-alat lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalus Anggrek *Dendrobium* sp. Kultivar Bertha Chong yang sudah membentuk *protocorm like bodies* (PLBs), berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan UPT - BBI Gedung Johor, Dinas Pertanian Sumatera Utara; *aluminium foil*; plastik *wrap*; *tissue*; alkohol 70%; lakmus; deterjen; NaOH; HCl; akuades; air kelapa; pisang yang dihaluskan; arang aktif dan media Murashige dan Skoog (MS) yang dikembangkan pada tahun 1962.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan

dua faktor. Masing-masing faktor tersebut terdiri atas:

Faktor I: konsentrasi air kelapa dengan 4 taraf perlakuan yaitu:

A0 = 0 mL/L

A1 = 50 mL/L

A2 = 100 mL/L

A3 = 150 mL/L

Faktor II: konsentrasi arang aktif dengan 4 taraf perlakuan yaitu:

B0 = 0,0 g/L

B1 = 1,0 g/L

B2 = 2,0 g/L

B3 = 3,0 g/L

Kedua faktor dikombinasikan sehingga menghasilkan 16 perlakuan dan dilakukan 3 kali pengulangan pada setiap perlakuan sehingga didapatkan 48 unit percobaan.

Cara Kerja

Disiapkan media MS (Murashige dan Skoog, 1962) dengan penambahan 50 g/L pisang yang dihaluskan. Air kelapa dan arang aktif kemudian ditambahkan dalam media sesuai perlakuan. Media kemudian dipanaskan pada *hot plate* hingga mendidih. Setelah mendidih, pH media diukur dengan menggunakan kertas lakmus dan disesuaikan menjadi pH 6, jika pH terlalu asam maka ditambahkan NaOH 1 N dan jika pH terlalu basa maka ditambahkan HCl 1 N. Selanjutnya, media dituang ke dalam botol-botol kultur dengan ketinggian media sekitar 1 cm dari permukaan dalam botol, kemudian botol ditutup rapat dengan *aluminium foil*. Media disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 Psi selama 15 menit.

Kalus anggrek yang akan ditanam dikeluarkan dari dalam botol kultur dan diletakkan dalam cawan petri steril. Klon kalus dipisah-pisahkan dengan menggunakan pisau skalpel steril kemudian kalus tersebut ditanam dengan bantuan pinset steril ke dalam media kultur dengan jumlah satu sel kalus per media. Setelah proses penanaman selesai, botol kultur ditutup dengan tutup *aluminium foil*. Tutup *aluminium foil* ini dilewatkan di atas api bunsen selama beberapa detik sebelum dan sesudah penutupan. Tutup botol ini kemudian direkatkan dengan plastik *wrap* untuk mencegah sumber kontaminan dari luar masuk melalui celah tutup botol. Setelah selesai, botol-botol berisi kultur ini diinkubasi di ruang kultur dengan pencahayaan lampu TL dan suhu sekitar 18°C. Pengamatan terhadap kalus yang beregenerasi membentuk planlet dilakukan pada 60 HST (Hari Setelah Tanam). Penentuan

terbentuknya planlet ditetapkan berdasarkan kalus yang telah beregenerasi membentuk daun dan akar sempurna [6].

Analisis data

Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) berdasarkan uji F taraf 5% dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf 5%. Datadialisis dengan menggunakan Program SPSS versi 17.00.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data pada uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa, arang aktif, dan kombinasi antara keduanya memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah kalus yang membentuk planlet angrek *Dendrobium* sp. Kultivar Bertha Chong. Hasil uji lanjut DMRT 5% yang dilakukan memperlihatkan bahwa jumlah kalus yang membentuk planlet menunjukkan perbedaan nyata pada konsentrasi air kelapa 150 mL/L dan arang aktif 2,0 g/L.

Tabel 1. Rata-rata jumlah kalus yang membentuk planlet pada berbagai konsentrasi air kelapa dan arang aktif.

Perlakuan	Konsentrasi	Rata-rata Jumlah Kalus yang Membentuk Planlet
Air Kelapa	0 mL/L (A0)	0 ^a
	50 mL/L (A1)	0 ^a
	100 mL/L (A2)	0 ^a
	150 mL/L (A3)	0,17 ^b
Arang Aktif	0.0 g/L (B0)	0 ^a
	1.0 g/L (B1)	0 ^a
	2.0 g/L (B2)	0,17 ^b
	3.0 g/L (B3)	0 ^a

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan perlakuan air kelapa berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet. Hal ini diduga karena air kelapa merupakan endosperm cair yang mengandung bahan-bahan organik yang dibutuhkan untuk proses metabolisme tanaman. Kandungan sukrosa yang terdapat dalam air kelapa ditambah dengan yang diberikan secara khusus kedalam media juga diduga memberikan peranan khusus dalam memicu pertumbuhan planlet. Sumber karbon dalam media mempengaruhi proses proliferasi dan

morfogenesis dalam kultur kalus. Sukrosa merupakan sumber karbon untuk mendukung metabolisme planlet. Selain itu, persenyawaan organik kompleks seperti kandungan karbohidrat, vitamin, dan zat tumbuh juga sangat berperan dalam melancarkan proses metabolisme sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman [7]. Pengaruh nyata dari perlakuan arang aktif terhadap pertumbuhan planlet dihasilkan karena senyawa karbon ini berperan dalam merangsang morfogenesis dan menyerap zat-zat racun yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Arang aktif dapat menyerap senyawa racun dalam media atau menyerap senyawa inhibitor yang disekresikan oleh planlet. Selain itu, arang aktif juga bekerja dalam menstabilkan pH, mengurangi pencoklatan, merangsang pertumbuhan akar dan morfogenesis [5].

Berdasarkan analisis data, jumlah kalus yang membentuk planlet pada perlakuan kombinasi air kelapa dan arang aktif hanya memperlihatkan perbedaan nyata pada perlakuan A3B2 (Tabel 2). Perlakuan ini merupakan satu-satunya perlakuan yang telah mampu menghasilkan pertumbuhan planlet dalam masa penelitian 60 hari, sementara perlakuan lainnya diperkirakan membutuhkan waktu lebih lama untuk dapat membentuk planlet.

Tabel 2. Rata-rata jumlah kalus yang membentuk planlet pada berbagai konsentrasi kombinasi air kelapa dan arang aktif.

Perlakuan	Rata-rata Jumlah Planlet
A0B0	0 ^a
A0B1	0 ^a
A0B2	0 ^a
A0B3	0 ^a
A1B0	0 ^a
A1B1	0 ^a
A1B2	0 ^a
A1B3	0 ^a
A2B0	0 ^a
A2B1	0 ^a
A2B2	0 ^a
A2B3	0 ^a
A3B0	0 ^a
A3B1	0 ^a
A3B2	0,67 ^b
A3B3	0 ^a

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Rata-rata jumlah planlet terbanyak dihasilkan oleh perlakuan A3B2 (150 mL/L air

kelapa + 2 g/L arang aktif) yaitu 0.67 planlet. Planlet yang dihasilkan diduga karena konsentrasi air kelapa dan arang aktif pada perlakuan ini memberikan komposisi sukrosa yang paling seimbang untuk melancarkan proses metabolisme dan merangsang morfogenesis planlet. Disamping itu, adanya arang aktif juga mendukung pertumbuhan planlet terutama dalam hal morfogenesis akar. Namun penggunaan arang aktif dalam konsentrasi yang terlalu tinggi juga tidak dianjurkan karena aktivitasnya dalam mengadsorpsi bahan-bahan organik sehingga kandungan sukrosa yang terdapat dalam air kelapa juga mungkin akan terserap.

Hasil penelitian terdahulu melaporkan konsentrasi sukrosa memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertambahan tinggi dan persentase hidup planlet krisan dan kentang [8]. Tumbuhan *in vitro* hidup secara heterotrof sehingga tidak cukup mensintesis kebutuhan karbonnya, oleh karena itu sukrosa tambahan sangat dibutuhkan dalam media. Sumber karbon ini menyediakan energi bagi pertumbuhan tanaman dan juga sebagai bahan pembangun untuk memproduksi molekul yang lebih besar yang diperlukan untuk tumbuh [9]. Konsentrasi gula yang dibutuhkan untuk tanaman *in vitro* berkisar 1-3%. Namun, untuk jenis-jenis tanaman tertentu, konsentrasi gula bisa lebih tinggi [10]. Kandungan gula dalam medium dasar biasanya berkisar antara 2-3%, sementara hasil penelitian menunjukkan konsentrasi sukrosa 3-4% merupakan konsentrasi terbaik bagi pertumbuhan *protocorm* anggrek *Cymbidium* [7].



Gambar 1. Planlet anggrek *Dendrobium* sp. Kultivar Bertha Chong

Kesimpulan

Perbedaan taraf konsentrasi air kelapa, arang aktif, dan kombinasi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap jumlah kalus anggrek *Dendrobium* sp. Kultivar Bertha Chong yang membentuk planlet. Kombinasi konsentrasi terbaik adalah 150 mL/L air kelapa + 2 g/L arang aktif yang mampu membentuk dua planlet.

Daftar Pustaka

1. H. Setiawan. 2006. *Usaha Pembesaran Anggrek*. Penebar Swadaya, Jakarta.
2. S. Hartati. 2010. Pengaruh Macam Ekstrak Bahan Organik dan ZPT Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Hasil Persilangan Pada Media Kultur. *Caraka Tani XXV* 1, 101-105.
3. E.M.D. Rahayu, E. Handini, S. Mursidawati, dan Y. Isnaini. 2011. Penggunaan Bahan Organik Untuk Pembesaran Kultur In-Vitro Anggrek (*Phalaenopsis fuscata* Rchb.f). *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus* 7, 133-137.
4. S. Hutami. 2006. Penggunaan Arang Aktif dalam Kultur *In Vitro*. *Berita Biologi* 8, 83-89.
5. D. Widiastoety, A. Santi dan N. Solvia. 2012. Pengaruh Myoinositol dan Arang Aktif terhadap pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* dalam Kultur *In Vitro*. *Jurnal Hort.* 22(3): 205-209.
6. Marveldani. 2009. Pengaruh Formulasi Medium Kultur terhadap Pertumbuhan *Protocorm* Anggrek *Dendrobium* Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 9, 67-72.
7. D. Widiastoety. dan Nurmalinda. 2010. Pengaruh Suplemen Nonsintetik Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Vanda. *Jurnal Hortikultura*. 20(1): 60-66.
8. S.A. Damanik. 2002. Pengaruh Suhu dan Konsentrasi Sukrosa Pada Penyimpanan Gelap Terhadap Pertumbuhan Planlet Krisan (*Chrysanthemum* sp.) dan Kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
9. D. Pandiangandan A. Subarnas. 2011. *Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan*. Lubuk Agung, Bandung.
10. D.W. Darmono. 2005. *Permasalahan Anggrek dan Solusinya*. Penebar Swadaya, Jakarta.