

INDUKSI AKAR PADA EKSPLAN TUNAS ANGGREK *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum* SECARA IN VITRO PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN NAA DAN BAP

Mayta Novaliza Isda* dan Siti Fatonah

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

*Corresponding author: maytaisda@yahoo.com

Abstract

Grammatophyllum scriptum var. *citrinum* is one variant of endangered from habitat destruction due to logging and forest fires and hunts by orchid collectors. The aim of this study was to determine the effect of BAP and NAA concentration in the root orchid propagation *G. scriptum* var. *citrinum*. The results showed that the application of BAP and NAA significant effect on the time of formation appeared roots (19 days), the best root number in the treatment of BAP 0.5 mg/l + 1.0 mg/l NAA for (5 pieces) and root length was obtained NAA 1 mg/l and a combination of 1.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA respectively 6.66 cm and 7.40 cm.

Keywords: *Grammatophyllum scriptum* var *citrinum*, in vitro, BAP, NAA

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai banyak jenis tumbuhan termasuk tumbuhan epifit. Salah satunya adalah jenis anggrek yang diperkirakan jumlah anggrek spesies lebih dari 5000 spesies. Indonesia yang kaya dengan tanaman anggrek sangat menguntungkan karena ditunjang oleh kecocokan iklim dan banyaknya jenis anggrek yang potensial. Indonesia merupakan negara dengan tingkat kekayaan plasma nutfah anggrek terbesar kedua setelah Brasil. Banyak di antara spesies anggrek itu yang merupakan anggrek endemik Indonesia.

Potensi Indonesia dalam tanaman anggrek mempunyai harapan baik, karena ditunjang oleh kecocokan iklim dan banyaknya jenis anggrek bermutu sudah terbukti, anggrek Indonesia merupakan bahan induk yang berpotensi (Darmono, 2003). Anggrek dalam penggolongan taksonomi termasuk Orchidaceae. Famili ini terdiri dari 800 genus yang beberapa diantaranya hampir punah. Salah satu anggrek yang hampir punah adalah dari genus *Grammatophyllum*. Jenis *Grammatophyllum* yang ada di Indonesia termasuk Riau adalah anggrek tebu (*G. speciosum*), anggrek sendu (*G. stapheliaeflorum*), anggrek macan (*G.*

scriptum) dan beberapa varian yang ada di alam.

Grammatophyllum scriptum merupakan anggrek yang hampir punah dan langka. *G. scriptum* menghadapi ancaman serius dari perburuan tanaman anggrek dan kerusakan habitat. *G. scriptum* terkenal sebagai anggrek macan. Hal ini dikarenakan mempunyai warna dasar hijau dengan totol-totol coklat yang mirip warna macan. Anggrek ini mempunyai keunggulan yaitu habitusnya yang tegap dan kuat, jumlah bunga yang sangat banyak yaitu 25-50 dan waktu berbunga cukup lama, bunga tahan lama dan tidak mudah layu (Wijayani *et al.*, 2007). Di antara varietas dari *G. scriptum* yang ditemukan adalah *G. scriptum* var. *tigrinum* dan *G. scriptum* var. *citrinum*. Pada *G. scriptum* var. *tigrinum* mempunyai sepal dan petal bercak-bercak besar dan rapat serta tidak teratur berwarna coklat. *G. scriptum* var. *citrinum* panjang bunga dapat mencapai 22 meter dengan ukuran bunga 5-8 cm dengan petal dan sepal berwarna hijau. Sampai saat ini di Indonesia termasuk Riau belum banyak laporan atau penelitian tentang anggrek macan ini terutama *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum*.

Menurut Metusala (2007), meskipun penyebaran *G. scriptum* cukup luas justru menghadapi ancaman serius dari perburuan tak terkendali serta kerusakan habitat. Perkembangan biakan alami di habitat dengan biji sangat sulit karena lambatnya laju pertumbuhan biji dari fase biji hingga mencapai tanaman dewasa yang siap berbunga. Perbanyakan secara konvensional sangat sulit untuk memenuhi kebutuhan bibit yang sangat banyak dengan waktu relatif cepat. Mungkin hal inilah yang mendasari spesies anggrek ini menjadi salah satu plasma nutfah yang dilindungi. Selain itu informasi dan laporan hasil penelitian mengenai spesies dan varian anggrek *Grammatophyllum* masih jarang sehingga perlu penelitian lebih lanjut. Oleh karena itu, salah satu alternatif untuk pemecahan masalah itu adalah dengan menggunakan metode kultur *in vitro* yang dikenal dengan metode kultur jaringan sehingga pemenuhan kebutuhan bibit tanaman anggrek akan dapat dihasilkan dengan jumlah banyak.

Kegunaan utama dari kultur jaringan adalah mendapatkan tanaman baru dalam jumlah banyak, waktu yang relatif singkat, mempunyai sifat fisiologis dan morfologi sama persis dengan tanaman induknya. Dari teknik *in vitro* ini diharapkan dapat diperoleh tanaman baru yang bersifat unggul (Hendaryono & Wijayani, 1994). Kultur jaringan merupakan salah satu alternatif untuk mendapatkan tanaman anggrek *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum* dalam jumlah yang banyak. Pengakaran merupakan tahapan yang sangat penting dalam pembentukan planlet untuk mikropropagasi secara *in vitro*. Media MS (Murashige and Skoog) merupakan media yang banyak digunakan dalam kultur *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi terhadap kemampuan induksi akar dari eksplan *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum*.

MATERIAL DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS merk *Phyto Technology*

Laboratorie, agar-agar (Fision), Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berupa BAP, eksplan tunas *in vitro* *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum*, sukrosa, akuades, alkohol 70% dan 96%, HCl 1N serta NaOH 1 N.

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) (Lab Tech), autoklaf (All Americana tipe 25X-2), *oven* (Pselecta tipe 2001244), timbangan analitik (Kern tipe ABJ 120-4M), *hot plate* (Pselecta tipe 048432), erlenmeyer, botol kultur, gelas ukur, kertas pH, pinset, pipet tetes, spatula, cawan petri, *scapel* (kater), lampu bunsen, botol *sprayer*, aluminium foil, kertas saring, *tissue*, karet gelang dan plastik.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Konsentrasi ZPT terdiri dari 5 taraf, yaitu: 0,5 mg/l NAA, 1 mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP + 0,5 NAA; 0,5 BAP mg/l + 1,0 mg/l NAA, 1,0 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA, masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan dengan demikian terdapat 25 unit percobaan.

Sterilisasi Alat

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

Pembuatan Media Kultur

Larutan stok, sukrosa, agar dan zat pengatur tumbuh dituang ke dalam gelas Beaker dan ditambahkan zat pengatur tumbuh sesuai dengan perlakuan. Larutan media ditambah akuades hingga mencapai volume 1L. pH diatur 5,8 dengan penambahan NaOH atau HCl. Media dipanaskan di atas api hingga mendidih. Media dituang ke dalam 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.

Bagian tanaman yang digunakan sebagian eksplan adalah tunas *in vitro* anggrek *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum* berumur ±7 bulan. Tunas dikeluar-

kan dari botol dan dicuci dengan air mengalir lalu direndam dengan larutan deterjen selama 20 menit sambil digoyang. Setelah itu, tunas dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Selanjutnya dibilas kembali dengan akuades steril. Tunas kemudian direndam dalam 2 g/l fungisida selama 10 menit, dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril, dilanjutkan perendaman dengan 2 g/l bakterisida selama 10 menit dan dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril. Selanjutnya, tunas direndam dengan larutan 20% sodium hipoklorit selama 7 menit, kemudian tunas dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Tunas direndam kembali dengan larutan alkohol 70% selama 3 menit dan dibilas kembali dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Sterilisasi eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet*

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) yang sebelumnya telah disterilkan menggunakan alkohol 70%. Sebelum penanaman eksplan dilakukan, LAFC dibiarkan menyala selama 30 menit. Sebelum peralatan tanam yang akan digunakan dimasukkan ke dalam LAFC, peralatan disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara menanam tunas pada medium kultur. Tunas diletakkan pada cawan petri dengan akuades steril menggunakan pinset. Pinset dan *scalpel* yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Tunas dipotong dengan ukuran panjang ± 2 cm. Kemudian eksplan tunas ditanam pada media perlakuan.

Pengamatan dilakukan setiap hari hingga kultur berumur 50 hari. Parameter yang diamati meliputi eksplan hidup (%), waktu muncul akar (hari), jumlah akar (buah) dan panjang akar (cm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan respon eksplan tunas terhadap pemberian *Benzil Amino Purine* (BAP) dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dalam induksi akar anggrek secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan analisis ragam, pemberian BAP dan NAA memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$)

terhadap waktu terbentuknya muncul akar, jumlah akar dan panjang akar.

Persentase eksplan yang hidup hingga minggu ke delapan setelah tanam pada setiap perlakuan adalah 100% (Tabel 1). Persentase hidup eksplan yang tinggi disebabkan nutrisi pada media pertumbuhan tersedia cukup hingga minggu ke delapan. Medium MS yang digunakan dalam penelitian ini mengandung unsur hara makro, mikro, vitamin dan asam amino yang diperlukan untuk pertumbuhan tunas. Razdan (2003) menyatakan bahwa medium MS umum digunakan untuk induksi tunas dan mengandung nutrisi yang sesuai untuk menunjang pertumbuhan optimal dari tanaman secara *in vitro*. Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan amonium yang tinggi sehingga sangat efektif untuk pertumbuhan beberapa varietas tanaman dikotil dan monokotil (Wetter & Constabel, 1991).

Metode sterilisasi memberikan pengaruh penting bagi keberhasilan hidup eksplan secara *in vitro*. Diduga sterilisasi yang dilakukan pada penelitian ini tidak mengakibatkan kematian eksplan. Yusnita (2004) menyatakan pengulangan sterilisasi eksplan dalam larutan Na-hipoklorit dengan konsentrasi yang lebih rendah dapat mengurangi tingkat kontaminan dari bagian permukaan eksplan. Zulkarnain (2009) melaporkan bahwa larutan hipoklorit (natrium maupun kalsium) terbukti efektif untuk sterilisasi sebagian tanaman. Roostika *et al.* (2005) melakukan sterilisasi eksplan biji manggis menggunakan alkohol 70% selama 5 menit, Na-hipoklorit 30% selama 10 menit dan Na-hipoklorit 20% selama 5 menit berhasil menumbuhkan tunas hingga 100% dengan penambahan NAA ataupun yang ditambahkan BAP. Menurut Hartmann *et al.* (2002) penambahan zat pengatur tumbuh yang sesuai dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis. Selain itu pada penelitian ini media yang digunakan adalah media MS yang bila ditambahkan dengan zat yang sesuai maka akan meningkatkan pertumbuhan dari eksplan.

Tabel 1. Rata-rata penambahan BAP dan NAA terhadap induksi akar *G. var. citrinum*

Perlakuan	Eksplan Hidup (%)	Waktu muncul akar (hst)	Jumlah akar (buah)	Panjang akar (cm)
0,5 mg/l NAA	100	21,67 ^c	3,33 ^{ab}	5,26 ^a
1 mg/l NAA	100	20,67 ^{bc}	3,33 ^{ab}	6,66 ^{ab}
0,5 mg/l BAP + 0,5 NAA	100	19,00 ^{ab}	2,33 ^a	5,60 ^a
0,5 BAP mg/l + 1,0 mg/l NAA	100	34,00 ^d	5,00 ^b	5,10 ^a
1,0 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA	100	23,67 ^d	4,00 ^{ab}	7,40 ^{ab}

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%. Pada tabel terlihat waktu munculnya akar pada perlakuan pemberian 0,5 mg/l BAP + 0,5 NAA menghasilkan waktu yang paling rendah pada pembentukan akar terlihat rata-rata hari pembentukan akar sebesar 19 hari. Hal ini berarti bahwa perlakuan yang dikombinasikan antara NAA dan BAP sebesar 0,5 mg/l BAP + 0,5 NAA mampu memper-cepat waktu munculnya akar. Akar baru yang muncul berwarna putih kehijauan.

Penggunaan arang aktif pada percobaan ini bukan sebagai perlakuan, namun mempengaruhi peningkatan jumlah akar. Menurut Goerge & Sherrington (1984), bahwa pengaruh arang aktif dalam media yaitu untuk mengabsorbsi senyawa-senyawa toxik yang dapat menghambat pertumbuhan kultur, mendorong morfogenesis dan untuk mendorong pembentukan akar. Pada penelitian ini jumlah akar tertinggi terdapat pada 0,5 BAP mg/l + 1,0 mg/l NAA yaitu sebesar 5,00 buah. Hal ini diduga penggunaan BAP dan NAA sudah membuat keseimbangan di dalam tanaman sehingga BAP yang tinggi yang digabungkan dengan konsentrasi NAA yang tinggi pada penelitian menghasilkan rata-rata jumlah akar yang tinggi. Penggunaan NAA untuk memacu pembentukan akar juga telah banyak dilaporkan antara lain, induksi akar terbaik *Citrus jambhiri* L. dihasilkan pada pemberian 0,5 mg/l NAA (Savita *et al.*, 2010).

Pemberian NAA pada konsentrasi 1 mg/l secara tunggal atau kombinasi dengan BAP memiliki jumlah akar yang tinggi, namun akar yang dihasilkan lebih panjang pada pemberian NAA 1 mg/l daripada perlakuan yang diberikan 0,5 BAP mg/l + 1,0

mg/l NAA. Hal ini diduga pemberian NAA secara tunggal dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan memberikan panjang akar yang lebih tinggi. Penelitian yang dilakukan Mukhtar *et al.* (2005), bahwa konsentrasi 2 mg/l NAA memberikan hasil terbaik terhadap panjang akar *Citrus reticulate*. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA yang optimum dalam induksi dan pemanjangan akar setiap tanaman berbeda-beda dan dipengaruhi keseimbangan antara hormon endogen (IAA) dan eksogen.

KESIMPULAN

1. Pemberian BAP dan NAA memberikan pengaruh yang nyata terhadap waktu terbentuknya muncul akar, jumlah akar dan panjang akar.
2. Waktu munculnya akar yang paling baik pada pemberian 0,5 mg/l BAP + 0,5 NAA (19 hari), jumlah akar terbanyak pada perlakuan 0,5 BAP mg/l + 1,0 mg/l NAA sebesar 5 buah dan panjang akar terpanjang terdapat pemberian NAA secara tunggal 1 mg/l dan kombinasi 1,0 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA berturut-turut sebesar 6,66 cm dan 7,40 cm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Fundamental tahun 2014 yang dibiayai oleh DP2M DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Darmono, D. W. (2003). *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve R. L. (2002). *Plant Propagation Principal and Practice*. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Education Inc.
- Hendaryono, D. & Wijayani, A. (1994). *Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kansius.
- Metusala, D. (2007). Pohon Anggrek Terbesar dan Terberat di Dunia. (2013, April 15). Retrieved from <http://www.geocities.com>
- Mukhtar, R., Khan, M., Rafiq, R., Shahid, A., & Khan, F. A. (2005). *In vitro* Regeneration and Multiple Shoot Induction in *Citrus reticulata* (Blanco). *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(3), 414-416.

- Razdan, M. K. (2003). *Introduction Plant Tissue Culture (2sd ed.)*. USA: Science Publisher.
- Roostika, I., N. Sunarlim, & I. Mariska. (2005). Mikropropagasi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Agrobiogen*, 1(1), 20-25.
- Savita, V., Virk, G. S., & Nagpal, A. (2010). Effect of Explants Type and Different Plant Growth Regulator on Callus Induction and Planlet Regeneration in *Citrus jambhiri* Lush. *Enviroment and We an International Journal of Science and Technology*, 5, 97-106.
- Wetter, L. R. & Constabel, F. (1991). Metode Kultur Jaringan Tanaman. Mathilda B. Widianto, Penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari *Plant Tissue Culture Methods*.
- Wijayanti, Y., Solochatun, & Widya, M. (2007). Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi Protocorm Like Body Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Jurnal Bioteknologi*, 4 (2), 33-40.
- Zulkarnain, H. (2009). *Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.