

## PERTUMBUHAN BIAK JARINGAN DENDROBIUM SCHULLERI PADA TIGA MACAM MEDIA

DJUNAEDI GANDAWIDJAJA & MARIA IMELDA

*Kebun Raya Bogor, LBN - LIPI*

### PENDAHULUAN

Teknik biakjaringan telah banyak dimanfaatkan baik untuk tujuan perbanyakkan tanaman maupun untuk tujuan lain. Penerapan teknik ini dalam bidang peranggrecan terutama diarahkan pada tujuan komersial. Pada umumnya anggrec mudah diperbanyak dengan teknik biak jaringan, tetapi jenis-jenis tertentu ataupun bagian-bagian tertentu dari tanaman anggrec kadang-kadang sulit ditumbuhkan dalam suatu medium buatan (Mitra 1971, Sagawa dan Shoji 1967, Stewart dan Button 1975). Pemilihan bahan biak dan medium sangat menentukan berhasil tidaknya suatu biak jaringan (Gamborg *et al* 1976). Dalam usaha merangsang pertumbuhan biak, berbagai macam hormon ataupun bahan organik, misalnya air kelapa, telah sering digunakan.

Percobaan ini dilakukan dalam rangka mencari medium yang cocok bagi pertumbuhan biak jaringan *Dendrobium schulleri* J.J.S. sebagai alternatif cara perbanyakkan dan pelestariannya. Pemilihan *D. schulleri* sebagai bahan percobaan didasarkan atas pertimbangan potensinya yang tinggi sebagai tanaman hias penghasil bunga potong. Pertimbangar lainnya ialah bahwa jenis yang asli dari Indonesia ini sudah banyak terkurus dan terdesak dari habitat aslinya sehingga dikhawatirkan akan mengalami erosi populasi ataupun erosi genetik.

### BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan biak berupa ujung batang semai berukuran sekitar 2 mm diisolasi dari semai *D. schulleri* yang berumur 9 bulan. Sterilisasi bahan tidak diperlukan karena semai yang digunakan sudah steril dan pengisolasian bahan biakpun dilakukan dalam keadaan lingkungan yang steril. Sebagai media dasar digunakan medium Murashige & Skoog (MS), Nitsch (N) dan medium Knudson C yang diubah (MKC) (Daftar 1). Selain gula dengan kadar 20 g/l, ke dalam masing-masing medium juga ditambahkan dikombinasikan dengan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) pada kadar 0 mg/l, 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, 1,5 mg/l dan 2,0 mg/l.

Sebagai tabung biak digunakan tabung reaksi yang berukuran 16 x 150 mm yang di dalamnya diberi jembatan kertas dan diisi 6 ml medium cair. Tabung disumbat dengan kapas, ditutup dengan kertas kaca yang diikat dengan karet gelang. Keasaman medium ditentukan sekitar 5. Medium disterilkan dengan pemanasan di dalam autoclave pada suhu sekitar 110°C dengan tekanan 1 kg/cm<sup>2</sup> selama 15 menit.

Tiap tabung berisi satu biak dan tiap perlakuan terdiri atas 10 biak. Biak disusun dalam rak dari styrofoam, disimpan dalam ruangan ber-AC dengan kisaran suhu antara 20 - 30°C. Penyinaran terutama diperoleh dari sinar matahari pagi secara tidak langsung lewat jendela kaca yang bertirai kayu.

Pengamatan dilakukan dua minggu sekali dengan mencatat keadaan perkembangan biak. Penilaian terakhir dilakukan pada umur biak 12 minggu dengan pertimbangan bahwa setelah 12 minggu biasanya larutan medium dalam tabung sudah sangat berkurang dan pertumbuhan biakpun sudah cukup nyata.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam waktu dua minggu sudah dapat dibedakan biak yang tumbuh dari yang mati. Pertumbuhan biak dicirikan dengan warna biak hijau segar tanpa atau disertai penambahan ukuran besar ataupun pembentukan tunas atau daun. Biak yang mati dapat dikenali dari warnanya yang memutih, kuning kecoklatan ataupun coklat. Pada umur dua minggu jumlah biak yang masih hidup adalah 43 (43%) dalam medium MS, 54 (54%) dalam medium N dan 86 (86%) dalam medium MKC (Daftar 2). Pada waktu itu jumlah biak yang telah membentuk daun adalah 4 (4%) pada medium MS, 5 (5%) dalam medium N dan 14 (14%) dalam medium MKC. Jumlah biak yang mampu hidup dari waktu ke waktu terus menurun dan mulai agak tetap pada umur delapan minggu. Pada umur tersebut beberapa biak sudah mulai nampak menghasilkan akar. Pada

umur duabelas minggu jumlah biak yang berhasil tumbuh adalah 1 (1%) dalam medium MS, 8 (8%) dalam medium N dan 23 (23%) dalam medium MKC (Daftar 3).

Pada umumnya biak-biak tersebut tumbuh jadi tunas tunggal dengan 2 — 4 helai daun dan 2 - 3 buah akar. Hanya ada 3 buah biak yang memben-

tuk 2 - 4 buah tunas yaitu biak dalam medium MKC yang ditambah air kelapa (150 ml/l) dan 2,4-D dengan kadar 0,5 mg/l. Biak yang tumbuh dalam medium MKC pertumbuhannya relatif lebih baik dari pada biak yang tumbuh dalam medium N yang selanjutnya lebih baik dari pada biak yang tumbuh dalam medium MS. Sejak minggu kedua

Daftar 1. Komposisi hara medium Murashige & Skoog (MS), Nitsch (N)\* dan Knudson C yang diubah (MKC)

K o m p o n e n	M e d i u m			
	MS	N	MKC	
<i>Unsur makro</i>	<i>mg/l</i>	<i>mg/l</i>	<i>mg/l</i>	
Amonium nitrat	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	720	0
Kalium nitrat	KNO <sub>3</sub>	1900	950	0
Kalsium nitrat	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0	0	1000
Magnesium sulfat	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	185	250
Kalsium klorida	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	240	166	0
Kalium dihidrogen ortofosfat	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	68	0
Buffer	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0	0	31
Fero sulfat	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0	0	25
FeNaEDTA		36,7	3,1	0
Na <sub>2</sub> EDTA		0	34,4	0
<i>Unsur mikro</i>				
Asam borat	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,200	10	0,056
Mangan sulfat	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,300	25	7,500
Seng sulfat	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,600	10	0,331
Tembaga sulfat	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,040
Kalium yodida	KI	0,830	0	0
Natrium molibdat	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,250	0,250	0
Asam molibdat	MOO <sub>3</sub>	0	0	0,016
Kobal klorida	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	0	0
Glisin		2	2	0
Inositol		100	100	0
Tiamin		0,100	0,500	0
Piridoksin HCl		0,500	0,500	0
Asam nikotin		0,500	5	0
Asam folat		0	0,500	0
Bio tin		0	0,050	0

\* Medium Murashige & Skoog dan medium Nitsch berupa kemasan yang dibuat oleh Flow Laboratories Ltd. Scotland.

Daftar 2. Jumlah biak yang hidup dalam tiap perlakuan pada waktu biak berumur 2 minggu.

		2,4-D (mg/ l)					
		0	0,5	1,0	1,5	2,0	total
MS	0 ml air kelapa	7	5				
	150 ml air kelapa	7	5	7	0	2	21
N	0 ml air kelapa	8	8	3	2	1	22
	150 ml air kelapa	9	9	0	2	1	21
MKC	0 ml air kelapa	8	10	8	7	0	33
	150 ml air kelapa	10	9	9	6	7	41
							86
		10	9	8	8	10	45

Daftar 3. Jumlah biak yang hidup dalam tiap perlakuan pada waktu biak berumur 1/ minggu.

		2,4-D (mg/l)					
		0	0,5	1,0	1,5	2,0	total
MS	0 ml air kelapa	KD	0	0	0	0	KD*
	150 ml air kelapa	0	0	0	0	0	1 (1)
N	0 ml air kelapa	1	2(1)	0	0	1(1)	4(2)
	150 ml air kelapa	3(30)	1	0	0	4(3)	8 (5)
MFC	0 ml air kelapa	7(6)	0	0	0	0	7(6)
	150 ml Air kelapa	9(9)	7(7)	0	0	0	16 (16)

\* Biak yang tumbuh berbentuk tunas. Angka dalam kurung menunjukkan jumlah biak yang berakar.

sudah terlihat bahwa pertumbuhan biak dalam medium MKC adalah yang tercepat. Pada akhir percobaan tinggi anakan (plantlet) dalam medium MKC berkisar antara 2 - 3 cm sedangkan dalam medium N antara 1,5 - 2,5 cm dan dalam medium MS sekitar 1,5 cm. Hampir semua biak membeni akar, kecuali 3 buah biak dalam medium N yang tumbuh kefdil dan satu biak dalam medium MKC. Ukuran akar terpanjang sekitar 3 mm. Nampaknya keunggulan medium MKC dari pada kedua media lainnya karena komposisi unsur haranya lebih sederhana dan kadat total haranya lebih rendah dari pada dalarii kedua media lainnya. Hasil yang serupa perriah dikemukakan oleh Schenk dan Hildebrandt (1972) dan Gandawidjaja (1978).

Pemakaian 2,4-D pada batas kadar yang dicobakan pada umumnya cenderung menyebabkan kematian biak. Walaupun demikian kecenderungan 2,4-D dalam merangsang pembentukan tunas ganda nampak pada 3 biak yang tumbuh pada medium MKC yang ditambah air kelapa dan 2,4-D dengan kadar 0,5 mg/l. Kadar 2,4-D sebanyak 0,5 mg/l nampaknya masih terlalu tinggi bagi biak yang dicoba walaupun Gamborg *et al.* (1976) menyatakan bahwa pada umumnya pemakaian 2,4-D antara 10<sup>-6</sup> - 10<sup>-5</sup> molar (0,22 - 2,2 mg/l) sangat efektif dalam merangsang pertumbuhan kalus. Pemakaian 2,4-D dengan kadar lebih rendah dari pada 0,5 mg/l mungkin dapat lebih merangsang pembentukan kalus yang dapat menghasilkan tunas ganda.

Pengaruh pemberian air kelapa terhadap jumlah biak yang tumbuh terlihat jelas pada medium MKC. Jumlah biak yang tumbuh dalam medium MKC tanpa air kelapa dan tanpa 2,4-D adalah 7 (70%), tanpa air kelapa ditambah 2,4-D pada kadar 0,5 mg/l adalah 0 (0%) sedangkan pada medium dengan air kelapa tanpa 2,4-D adalah 9 (90%) dan dalam medium dengan air kelapa ditambah 2,4-D pada kadar 0,5 mg/l adalah 7 (70%). Demikian pula pertumbuhan biak dalam medium dengan air kelapa lebih subur dari pada dalam medium tanpa air kelapa. Pada medium N dan lebih-lebih lagi pada medium MS pemberian air kelapa ternyata tidak perlu malahan cenderung menekan jumlah biak yang bisa terus tumbuh. Dari kenyataan ini dapat ditarik kesimpulan bahwa air kelapa hanya diperlukan pada medium MKC yang tidak mengandung bahan organik seperti yang terdapat dalam medium N dan MS. Jadi fungsi dari unsur-unsur yang terdapat dalam air kelapa seperti asam shikimat,

asam kuinat, glicin, dsb. adalah sebagai pelengkap unsur yang tidak terdapat dalam medium dasar yang diperlukan untuk merangsang atau mendukung pertumbuhan biak (Tulecke *et. al* 1976) bahwa penambahan bahan-bahan organik tidak diperlukan apabila medium yang digunakan dilengkapi dengan semua unsur yang diperlukan secara teori memang benar, akan tetapi dalam praktek hal tersebut tidak mudah untuk dilaksanakan. Oleh karena itu penambahan bahan organik ke dalam medium dasar sering dilakukan untuk memanipulasi pertumbuhan biak, baik dalam bentuk unsur tunggal yang hampir murni maupun dalam bentuk campuran seperti yang terdapat dalam air kelapa. Pemilihan pemakaian bahan organik tunggal atau campuran di samping ditentukan oleh tujuan pembiakan juga dapat ditentukan oleh masalah keterdapatn bahan-bahan tersebut.

Dari ketiga macam media yang diuji ternyata medium Knudson C yang diubah adalah yang paling cocok bagi pertumbuhan biak ujung semai *Dendrobium schulleri*. Keunggulan medium Knudson C yang diubah dari pada kedua media lainnya mungkin karena komposisi unsur haranya lebih sederhana dan kadar total haranya juga lebih rendah dalam batas-batas yang cukup untuk mendukung pertumbuhan biak.

Air kelapa dapat merangsang pertumbuhan biak dan juga dapat mengurangi hambatan pertumbuhan biak akibat 2,4-D. Pemakaian 2,4-D pada batas-batas kadar yang dicoba, yang dimaksudkan untuk merangsang pembentukan kalus, nampaknya masih terlalu tinggi bagi biak yang dicoba.

Kelemahan dari pemakaian jembatan kertas soring untuk menggantikan sebagian fungsi agar, ialah bahwa daya kapilernya kurang cukup kuat untuk menyediakan unsur hara yang cukup bagi pertumbuhan biak yang maksimum apabila larutan medium dalam tabung semakin berkurang akibat penguapan. Masalah ini nampaknya hanya dapat diatasi dengan cara mengurangi tingkat penguapan ataupun dengan memindahkan biak ke dalam medium yang baru (fresh medium).

#### DAFTAR PUSTAKA

- GAMBORG, O.L., MURASHIGE, T., THORPE, T.A. & VASIL, I.K. 1976. Plant tissue culture media. *In Vitro* 12: 473 - 478.

- GANDAWIDJAJA, D. 1978. *Tissue culture propagation of Dendrobium*. M.Sc. Thesis, Faculty of Science and Engineering, University of Birmingham, Birmingham.
- LINDEMANN, E.G.P., GUNCKEL, J.E. & DAVIDSON, A.O.W. 1970. Meristem culture of *Cattleya*. *Am. Orchid. Soc. Bull.* 39: 1002 - 1004.
- MITRA, G.C. 1971. Studies on seeds, shoot tips and stem discs of an orchid grown in aseptic culture. *Indian J. Exp. Biol.* 9: 79 - 85.
- MOREL, G. & WETMORE, R.H. 1951. Tissue culture of monocotyledons. *Am. J. Bot.* 38: 138-140.
- SAGAWA, Y. & SHOJL, T. 1967. Clonal propagation of *Dendrobium* through shoot meristem culture. *Am. Orchid. Soc. Bull.* 36: 856 - 859.
- SCHENK, R.U. & HILDEBRANDT, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199 - 204.
- STEWART, J. & BUTTON, J. 1975. Tissue culture studies in *Paphiopedilum*. *Am. Orchid Soc. Bull.* 44-599.
- TULECKE, W., WEINSTEIN, L.H., RUTNER, A. & LAURENCOT, H.J., Jr. 1962. The biochemical composition of coconut water (coconut milk) as related to its use in plant tissue culture. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 21: 115 -128.