



## Perbanyak Spesies *Phalaenopsis amabilis* L Melalui Induksi Protocorm Like Bodies (PLB) Sekunder

Ummu F Hidayah<sup>1\*</sup>, Yoshua S Yudha<sup>1</sup>, Dwi Widyajayantie<sup>1,2</sup>, Elisa Apriliani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup>Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia

Corresponding Author: [ummufitrothul276@gmail.com](mailto:ummufitrothul276@gmail.com)

Info Artikel	Abstrak
<p>Kata Kunci: <i>Phalaenopsis amabilis</i>, Proliferasi, Knudson C, Schenk Hildebrant</p> <p>Diterima 5 Desember 2023 Disetujui : 20 Desember 2023</p>	<p>Secara umum perbanyak anggrek secara <i>in vitro</i> dilakukan dengan menggunakan <i>protocorm like bodies</i> (plb). Faktor terpenting dalam kultur jaringan salah satunya adalah penggunaan media kultur yang responsif bagi pertumbuhan eksplan. Pengembangan protokol produksi membutuhkan penelitian terkait media yang sesuai untuk memperbanyak tanaman. Penelitian bertujuan untuk mempelajari formulasi media yang sesuai untuk multiplikasi plb anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>, serta mengetahui respon pertumbuhan dan perkembangan plb <i>Phalaenopsis amabilis</i> pada tiga media yang berbeda. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor jenis media (Murashige and Skoog, Kudson C, dan Schenk dan Hildebrant) dengan penambahan zat pengatur tumbuh (1 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1 mg L<sup>-1</sup> CaP + 0.1 mg L<sup>-1</sup> arang aktif + gula 30 g L<sup>-1</sup>). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dalam menumbuhkan tunas pada eksplan plb terdapat pada media Schenk dan Hildebrant (SH) dengan nilai rata rata sebesar 6,30. Sedangkan waktu pembedahan plb sekunder tercepat terlihat pada penggunaan media Knudson C (KC) pada minggu ke-3 setelah kultur.</p>

### 1. PENDAHULUAN

Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) atau puspa pesona adalah salah satu spesies anggrek Nusantara. Habitat anggrek ini secara epifit dengan menempel pada batang atau cabang pohon di hutan-hutan dan tumbuh subur hingga 600 m di atas permukaan laut. Anggrek bulan termasuk dalam tanaman anggrek yang menyukai sedikit cahaya matahari sebagai penunjang hidupnya. Daunnya berwarna hijau dengan bentuk memanjang. Akar-akarnya berwarna putih dan berbentuk bulat memanjang serta berdaging. Bunganya memiliki sedikit keharuman dan waktu mekar yang lama serta dapat tumbuh hingga diameter 10 cm (Fauziah et al. 2014).

Proliferasi atau perbanyak tanaman melalui kultur jaringan merupakan salah satu alternatif dalam memperbanyak spesies tanaman dengan jumlah individu yang terbatas. Mengingat bahwasannya secara *in vivo* kemungkinan biji anggrek untuk berkecambah sangatlah kecil (Abdullah 2017). Sehingga secara umum perbanyak anggrek secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan *Protocorm like bodies* (plb). Plb merupakan hasil morfogenesis dari eksplan yang berasal dari sel-sel somatik dan memiliki bakal akar dan bakal tunas seperti protocorm. Induksi proliferasi plb sekunder merupakan salah satu metode untuk memicu perbanyak bibit anggrek secara cepat dengan waktu yang singkat (Arifin et al. 2015).

Faktor terpenting dalam kultur jaringan adalah penggunaan media kultur. Media kultur jaringan yang banyak digunakan untuk perbanyakan anggrek yakni Murashige-Skoog (MS), Schenk and Hildebrant (SH), dan Knudson C (KC). Penelitian Widiyatmanto *et al.* (2013) menunjukkan penggunaan media KC dengan konsentrasi NAA 0,5 mg/l memberikan respon pertumbuhan terbaik dan perkembangan biji *D.capra*. Penggunaan zat pengatur tumbuh serta senyawa organik pada media tanam juga memiliki pengaruh dalam memacu multiplikasi dan pertumbuhan anggrek. Tujuan penelitian adalah mempelajari formulasi media yang sesuai untuk multiplikasi plb *Phalaenopsis amabilis*, serta mengetahui respon pertumbuhan dan perkembangan plb *Phalaenopsis amabilis* pada tiga media yang berbeda, yaitu Murashige and Skoog (MS), Kursor C (KC), dan Schenk dan Hildebrant (SH).

## 2. METODE PENELITIAN

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman II, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB University. Pada bulan Februari-Maret 2022.

### **Bahan dan Alat**

Penelitian menggunakan eksplan berupa plb anggrek *Phalaenopsis amabilis*. Alat-alat yang digunakan antara lain Laminar Air Flow (LAF), botol kultur, pinset, scapel, gunting, api bunsen, dan cawan petri. Kemudian eksplan ditanam pada beberapa kombinasi media antara lain:

1. Knudson C (KC) + 1 mg L<sup>-1</sup> Benzyl Adenine (BA) + 0.5 mg L<sup>-1</sup> Naphtaleine Acetic Acid (NAA) + 1 mg L<sup>-1</sup> CaP + 0.1 mg L<sup>-1</sup> arang aktif + gula 30 g L<sup>-1</sup> (pH 6.0)
2. Schenk and Hildebrant (SH) + 1 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1 mg L<sup>-1</sup> CaP + 0.1 mg L<sup>-1</sup> arang aktif + gula 30 g L<sup>-1</sup> (pH 6.0)
3. Murashige-Skoog (MS) + 1 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1 mg L<sup>-1</sup> CaP + 0.1 mg L<sup>-1</sup> arang aktif + gula 30 g L<sup>-1</sup> (pH 6.0)
4. MS + 2 mg L<sup>-1</sup> CaP (Kontrol)

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dengan empat kombinasi media dengan 10 ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 3 botol untuk setiap media perlakuan (SH1, SH2, SH3, KC1, KC2, KC3, MS1, MS2, MS3) + 1 botol media kontrol (MS0). Tiap botol ditanam sebanyak 5 eksplan plb. Pengamatan dilakukan setiap minggu dengan parameter pengamatan antara lain persentase kontaminasi (%), persentase hidup (%), persentase kematian (%), waktu terbentuk plb sekunder, dan jumlah plb sekunder yang berkecambah. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan sidik ragam software Statistical Analysis System (SAS). Faktor yang berpengaruh nyata dilakukan uji nilai tengah menggunakan Least Significance Different (LSD) pada taraf 5%.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* merupakan spesies anggrek Endemic Indonesia. Proliferasi atau perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan merupakan salah satu alternatif dalam memperbanyak spesies tanaman dengan jumlah individu yang terbatas. Pengembangan protokol produksi membutuhkan penelitian terkait media yang sesuai untuk memperbanyak tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan dengan kombinasi perlakuan media yang berbeda memiliki kemampuan pertumbuhan yang berbeda pula, dilihat dari jumlah plb sekunder yang terbentuk dan waktu terbentuknya plb selama periode pengamatan. Meskipun konsentrasi Benzyl adenin (BA) 1 mg.l<sup>-1</sup>, NAA 0.5 mg.l<sup>-1</sup>, CaP 1 mg.l<sup>-1</sup>, arang aktif 0.1 mg.l<sup>-1</sup> dan gula 30 g.l<sup>-1</sup> pada pH 6.0. Namun, perbedaan komposisi media KC, SH, dan MS inilah yang menunjukkan respon yang berbeda. Berikut merupakan pengamatan tiap-tiap variabel:

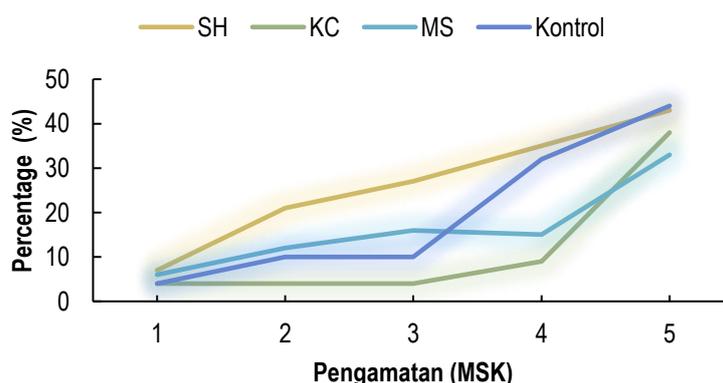
### Persentase Kontaminasi

Variabel pengamatan persentase kontaminasi diamati dengan cara menghitung jumlah kontaminasi tiap perlakuan dibagi jumlah keseluruhan plb yang dikultur dikali 100%. Kemudian pengamatan kami lakukan mulai 1 minggu setelah kultur (MSK) sampai 5 MSK. Berikut hasil pengamatan pada (Tabel 1).

**Tabel 1. Persentase kontaminasi plb**

No	Perlakuan	Minggu setelah kultur (MSK)				
		1	2	3	4	5
1	SH	7	21	27	35	43
2	KC	4	4	4	9	38
3	MS	6	12	16	15	33
4	Kontrol	4	10	10	32	44

Tabel 1 dapat dilihat bahwa semakin meningkatnya umur pengamatan maka meningkat pula jumlah plb yang terkontaminasi pada masing-masing perlakuan. Hal tersebut diduga karena suhu ruangan kultur yang fluktuatif akibat Air Conditioning (AC), atau kondisi kultur yang tidak aseptik. Bila dilihat pada grafik (Gambar 1), menunjukkan bahwa keadaan kontaminasi terjadi mulai 2 msk dan terus meningkat hingga 5 msk. Sedangkan perlakuan yang mengalami jumlah kontaminasi terbanyak terdapat pada media SH yaitu sebesar 20% di pengamatan 2 msk dan terus meningkat sampai 45% pada pengamatan 5 msk.



**Gambar 1. Peningkatan persentase kontaminasi media pada minggu ke 1 sampai ke 5 setelah kultur**

### Persentase Eksplan Hidup dan Eksplan Mati

Pengamatan variabel persentase hidup plb merupakan variabel yang diamati dengan ciri-ciri plb masih berwarna hijau, tidak mengalami fitrus, dan tidak terkontaminasi oleh bakteri maupun jamur. Sedangkan variabel pengamatan persentase plb mati merupakan keballikan dari variabel pengamatan persentase plb hidup. Banyak faktor yang menyebabkan plb menjadi mati antara lain kontaminasi oleh jamur atau bakteri, komposisi media pertumbuhan yang kurang tepat sehingga eksplan tidak bisa beradaptasi dengan baik, etilene pada jaringan eksplan sehingga eksplan mengalami *senescence*, adanya senyawa fenolik, dan rendahnya klorofil sehingga jaringan mengalami fitrus (Ariani *et al.* 2016).

### Waktu Terbentuk Plb Sekunder

Waktu terbentuknya plb sekunder merupakan salah satu variabel yang diamati setiap minggu terhadap pertumbuhan dan perkembangan plb setelah ditanam. Terlihat pada Gambar 2, perbedaan waktu muncul tunas pada setiap media seperti yang dikemukakan oleh Widiyatmanto *et al.* (2013) menunjukkan media KC dengan konsentrasi NAA  $0.5 \text{ mg.l}^{-1}$  memberikan respon terbaik pada

pertumbuhan dan perkembangan biji *D.capra*. Hal tersebut sesuai dengan hasil yang diperoleh bahwa media yang dapat menginisiasi pembedakan plb sekunder tercepat pada minggu ke-3 setelah kultur adalah media KC (Gambar 2).

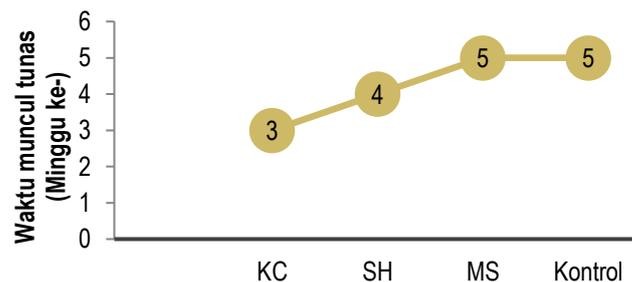
**Tabel 2. Persentase hidup plb**

Perlakuan	1 MSK		2 MSK		3 MSK		4 MSK		5 MSK	
	Hidup	Mati								
KC	93	7	83	17	83	17	74	26	62	38
SH	96	4	96	4	92	8	85	15	68	32
MS	96	4	85	15	79	21	69	31	58	42
Kontrol	94	6	88	12	88	12	69	31	65	35

Keterangan: minggu setelah kultur (msk), satuan dalam (%)

### Waktu Terbentuk Plb Sekunder

Waktu terbentuknya plb sekunder merupakan salah satu variabel yang diamati setiap minggu terhadap pertumbuhan dan perkembangan plb setelah ditanam. Terlihat pada Gambar 2, perbedaan waktu muncul tunas pada setiap media seperti yang dikemukakan oleh Widiyatmanto *et al.* (2013) menunjukkan media KC dengan konsentrasi NAA 0.5 mg.l<sup>-1</sup> memberikan respon terbaik pada pertumbuhan dan perkembangan biji *D.capra*. Hal tersebut sesuai dengan hasil yang diperoleh bahwa media yang dapat menginisiasi pembedakan plb sekunder tercepat pada minggu ke-3 setelah kultur adalah media KC (Gambar 3).



**Gambar 2. Waktu terbentuknya plb sekunder pada anggrek *P. amabilis***



**Gambar 3. (a) Awal penanaman plb, (b) Plb bertunas**

Komposisi yang membedakan media KC dengan media lainnya adalah kandungan kalsium pada media KC relatif lebih tinggi apabila dibandingkan dengan media SH dan MS. Ketersediaan kalsium akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Kalsium berfungsi sebagai substansi perekat, mengatur permeabilitas dalam sel, dan sangat esensial pada cairan sel. Kalsium juga mempengaruhi ketersediaan nutrient lain dalam jaringan tanaman, karena kalsium berpengaruh dalam pembentukan ujung bulu-bulu akar (Hendaryono, 1998).

**Jumlah Plb Bertunas**

Jumlah plb sekunder dihitung pada pengamatan minggu ke-5 setelah kultur dengan rata-rata dari tiap perlakuan dalam setiap ulangan (Tabel 5). Data menunjukkan bahwa media terbaik dalam induksi tunas plb sekunder adalah media SH sebesar 6.30 plb, bila dibandingkan perlakuan lain. Perbedaan respon dari tiap media MS, KC, dan SH dipengaruhi oleh ketersediaan kandungan hara makro nitrogen (N). Media MS dan SH menggunakan amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) sebagai sumber nitrogen, sedangkan pada media KC sumber nitrogen tersedia dalam bentuk amonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ). Menurut Mukaromah *et al.* (2013), amonium nitrat merupakan sumber nitrogen yang optimum untuk perkembangan serta pertumbuhan benih anggrek *Dendrobium lanxiflorum* secara *in vitro*. Selain itu, unsur nitrogen merupakan salah satu unsur esensial yang terkandung di dalam media dikarenakan nitrogen dibutuhkan dalam sintesis protein (Shin *et al.* 2011).

**Tabel 3. Jumlah plb sekunder yang bertunas**

SK	DF	SS	MS	F value	Prob F	.Sign
Media	12	619	51.583	2.53	0.0223	**
Galat	27	551.4	20.422			
Total	39	1170.4				

Keterangan: \*\*menunjukkan signifikansi pada taraf 5%

Media yang umum dipakai pada kultur *in vitro* adalah MS dapat digunakan sebagai media tanaman pada semua tanaman. Media ini mengandung konsentrasi garam-garam yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk  $\text{NO}_3^-$  dan  $\text{NH}_4^+$   $\frac{1}{2}$  MS menghasilkan persentase planlet dari eksplan plb lebih tinggi dibandingkan menggunakan medium KC (Yulianti *et al.* 2015). Media merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Menurut Zulkarnain (2009), dewasa ini telah banyak upaya yang dilakukan untuk mencari formulasi media yang paling optimal untuk menumbuhkan tanaman. Media Knudson C (KC) merupakan media dengan peran mikoriza sebagai pemasok sumber karbon untuk perkecambahan benih anggrek secara umum telah dapat digantikan dengan media kultur jaringan. Media dasar Schenk dan Hildebrant (SH) yang cocok untuk kultur jaringan tanaman-tanaman monokotil. Media Murashige dan Skoog (MS) dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, terutama untuk tanaman *herbaceous*.

**Tabel 4. Pembentukan plb sekunder**

Perlakuan	Mean
KC	1.90 b
SH	6.30 a
MS	2.60 ab
Kontrol	0.40 b

Keterangan: uji lanjut LSD taraf 5%

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan media SH memiliki nilai rata-rata pembentukan plb sekunder tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan kontrol dan media KC (Tabel 4). Namun tidak berbeda nyata dengan media MS. Pengukuran tinggi rendahnya daya proliferasi tidak hanya dilihat berdasarkan jumlah plb sekunder, namun juga dihubungkan dengan persentase hidup plb. Daya proliferasi yang baik ditunjukkan dengan jumlah plb sekunder yang tinggi dan persentase hidup plb yang baik, apabila salah satu pengamatan mendapatkan hasil rendah, dapat dinyatakan tidak efisiensinya penggunaan perlakuan terhadap peningkatan daya proliferasi.

Berdasarkan hasil pengamatan, hubungan antara persentase plb hidup dengan jumlah plb sekunder tidak menunjukkan nilai berbeda nyata pada perlakuan SH. Hasil ini berbeda jika dibandingkan dengan pengukuran daya proliferasi berdasarkan pengamatan jumlah plb sekunder, yang menunjukkan perlakuan MS juga mendapatkan hasil yang nyata. Tetapi bila dihubungkan dengan

persentase hidup mengalami penurunan nilai. Karena persentase hidup plb berhubungan dengan tingkat kontaminasi oleh media maupun eksplan yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri. Selain itu adanya penambahan ZPT sintetik dapat menjadi penunjang pertumbuhan maupun perkembangan eksplan salah satunya adalah BA. Zat pengatur tumbuh BA digolongkan ke dalam sitokinin berdasarkan fungsinya dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Respon tanaman yang umum diperoleh dari aplikasi BA ialah peningkatan pembentukan tunas. Hal ini membuat BA dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam jangka waktu yang relatif lebih lama (Sarathum *et al.* 2010). Konsentrasi BA yang digunakan adalah sebesar 1 mg.l<sup>-1</sup> pada masing-masing media.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Pembentukan *Protocorm like bodies* anggrek *Phalaenopsis amabilis* menunjukkan perlakuan terbaik terdapat pada media Schenk dan Hildebrant (SH) dengan nilai rata rata sebesar 6.30. Data menunjukkan terjadi kontaminasi yang menyebabkan kematian pada eksplan mulai minggu ke-2 setelah kultur sehingga menyebabkan eksplan tidak dapat berpoliferasi dengan semestinya. Media kultur terbaik terdapat pada media (SH). Sedangkan waktu pembentukan plb sekunder tercepat pada minggu ke-3 setelah kultur pada media Knudson C (KC).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.T. (2017). *Induksi proliferasi Plb sekunder Dendrobium macrophyllum pada berbagai komposisi media tanam, Bap, chitosan, dan air kelapa secara in vitro*. Institut Pertanian Bogor.
- Ariani, R., Anggraito, Y.U., Anggraito, R.A.Y.U., Rahayu, E.S. (2016). Respon pembentukan kalus koro bengkok (*Mucuna pruriens L.*) pada berbagai konsentrasi 2,4-D dan Bap. *Jurnal MIPA*, 39(1):20–28.
- Arifin, A.S., Sukma, D., Nazi. (2015). Protocorm like bodies (Plb) anggrek hasil silangan *Phalaenopsis gigantea* × *Phalaenopsis violacea* pada kombinasi media dan ZPT. *J. Hortik. Indones.*, 5(2):118-127.
- Fauziah, N., Aziz, S.A., Sukma, D. (2014). Karakterisasi morfologi anggrek *Phalaenopsis* spp. spesies asli Indonesia. *Bul. Agrohorti*, 2(1): 86-94
- Hendaryono, D.P.S. (1998). *Budidaya anggrek dengan bibit dalam botol*. Kanisius. Yogyakarta.
- Mukaromah, L., Nurhidayati, T., Nurfadilah, S. (2013). Pengaruh sumber dan konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *in vitro*. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, 2(1)
- Sarathum, S., Hegele, M., Tantivivat, S., Nanakorn, M. (2010). Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy in *Dendrobium scabrilingue* L. *European Journal of Horticultural Science*, 75 (3): 123-127.
- Shin Y., Baque, K., Elghamedi, M.K., Lee, S., Paek, E.J. (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*, 5(5): 582-588.
- Widiyatmanto, P.P., Nurhidayati, T., Nurfadilah, S. (2013). Pengaruh jenis media dan konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium capra* J.J Smith secara *in vitro*. *Paspalum Jurnal Ilmiah Pertanian*, 7(1):16.

Yulianti, F., Purwito, A., Husni, A., Dinarti, D. (2015). Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(1) : 66-71.

Zulkarnain. (2009). *Kultur jaringan tanaman: Solusi perbanyakan tanaman budidaya*. Bumi Aksara, Jakarta