

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman anggrek merupakan komoditas tanaman yang banyak disukai oleh penggemar tanaman hias. Tanaman anggrek memiliki bunga yang beragam dan indah yang menjadikan tanaman anggrek sebagai tanaman yang bernilai estetika tinggi dan memiliki peran penting dalam perdagangan dan industri bunga pada tingkat nasional maupun internasional (Mattjik, 2010).

Tanaman anggrek termasuk dalam famili *Orchidaceae* yang memiliki 25.000 sampai 30.000 spesies, yang terdiri kurang dari 750 genera dan sekitar 5.000 spesies tersebar di Indonesia. Saat ini anggrek yang dominan disukai oleh masyarakat adalah jenis *Dendrobium sp.* (34%), diikuti oleh *Oncidium Golden Shower* (26%), *Cattelya* (20%), *Vanda Douglas* (17%), serta anggrek lainnya (3%) (Dirjen P2HP, 2010). Anggrek *Dendrobium sp.* merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak digemari oleh konsumen maupun pencinta anggrek.

Anggrek *Dendrobium sp.* merupakan jenis anggrek epifit yang bisa digunakan sebagai tanaman hias dalam ruangan ataupun untuk tanaman hias di luar ruangan. Jenis anggrek ini merupakan salah satu genus anggrek terbesar di dunia (diperkirakan sekitar 1600 spesies) yang hidup di dataran rendah. Anggrek dendrobium termasuk jenis anggrek yang rajin berbunga dan memiliki variasi kombinasi warna yang sangat banyak.

Keterbatasan bibit unggul tanaman anggrek *Dendrobium sp.* masih menjadi kendala perbanyak jenis tanaman anggrek ini, sehingga digunakan metode kultur jaringan untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dan waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan perbanyak secara konvensional. Anggrek adalah tanaman hortikultura yang paling

utama berhasil dipropagasikan dalam jumlah banyak menggunakan teknik kultur jaringan (Goh, 1983).

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan menggunakan cara isolasi salah satu bagian tanaman seperti daun dan mata tunas untuk menumbuhkan bagian-bagian tersebut ke dalam media buatan secara aseptik yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang dapat tembus cahaya sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri serta beregenerasi menjadi sebuah tanaman lengkap. Metode kultur jaringan merupakan suatu solusi untuk dapat menanggulangi kepunahan suatu spesies tanaman di alam.

Keberhasilan menumbuhkan bibit anggrek pada kondisi *in vitro* sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penggunaan media kultur yang sesuai, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) dan bahan organik yang tepat serta proses aklimatisasi yang baik. Media kultur berfungsi sebagai penyuplai hara makro dan mikro yang dibutuhkan oleh tanaman. Jenis media dan ZPT berfungsi sebagai faktor yang menentukan multiplikasi planlet yang tinggi. Pemberian ZPT berperan pada proses fisiologis tanaman untuk merangsang pertumbuhan vegetatif ke arah yang diinginkan (Wattimena, 1992).

Pemberian zat pengatur tumbuh dapat mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan kultur organ. Beberapa jenis auksin adalah *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Indole Acetate Acid* (IAA) yang mampu mempengaruhi inisiasi pengakaran dan merangsang pertumbuhan, dan beberapa jenis sitokinin adalah *Kinetin* dan *6-Benzyl Amino Purin* (BAP) yang merupakan senyawa kimia yang sangat berperan dalam pertumbuhan tunas.

Berdasarkan uraian tersebut penulis tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian NAA dan IAA serta BAP dan Kinetin terhadap perbanyakan mikro tanaman anggrek *Dendrobium sp.*.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari dan mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh auksin (NAA dan IAA) dan sitokinin (Kinetin dan BAP) serta interaksinya terhadap perbanyakan mikro tanaman anggrek *Dendrobium sp.*

## **1.3 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Diduga ada pengaruh zat pengatur tumbuh jenis auksin terhadap perbanyakan mikro anggrek *Dendrobium sp.*
2. Diduga ada pengaruh zat pengatur tumbuh jenis sitokinin terhadap perbanyakan mikro anggrek *Dendrobium sp.*
3. Diduga ada pengaruh interaksi antara zat pengatur tumbuh jenis auksin dan sitokinin terhadap perbanyakan mikro anggrek *Dendrobium sp.*

## **1.4 Kegunaan Penelitian**

Kegunaan penelitian ini adalah:

1. Untuk memperoleh kombinasi pemberian zat pengatur tumbuh jenis auksin dan jenis sitokinin yang dapat memperbanyak tanaman anggrek *Dendrobium sp.*

2. Untuk menghasilkan tanaman anggrek *Dendrobium sp.* baru dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang singkat
3. Sebagai bahan penyusun skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian sarjana pada Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan.
4. Sebagai bahan informasi bagi berbagai pihak yang terkait dalam usaha budidaya tanaman anggrek *Dendrobium sp.*

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Anggrek *Dendrobium***

##### **2.1.1 Morfologi Tanaman Anggrek *Dendrobium***

Anggrek *Dendrobium sp.* termasuk ke dalam famili *Orchidaceae*, merupakan salah satu tanaman anggrek yang tersebar luas di hutan tropis. Salah satu keunggulannya adalah warna kuntum bunga yang tidak mudah pudar dan kuntum bunga yang tidak mudah layu serta rontok. Jenis anggrek *Dendrobium sp.* ini memiliki morfologi (bentuk dan stuktur) yang sangat beragam yakni ukuran bunga, bentuk bunga, warna dan panjang tangkainya (Sandra, 2002).

Anggrek *Dendrobium sp.* memiliki akar udara yang menyerap air dari udara. Akar udara pada anggrek ini memiliki zat hijau daun sehingga dapat berfotosintesis. Akar anggrek ini sangat lunak, mudah patah, ujungnya meruncing, lengket, dan licin saat dipegang (Gunawan, 2002).

Batang anggrek *Dendrobium sp.* termasuk simpodial, yaitu batang yang pertumbuhannya terbatas dan tidak memiliki batang utama. Bunga anggrek tipe simpodial keluar dari ujung batang dan berbunga kembali dari pemisahan maupun yang tumbuh (Gunawan, 2002).

Anggrek *Dendrobium sp.* termasuk jenis anggrek yang berdaun lebar. Bentuk daun yang lebar membuat proses fotosintesis dan transpirasi semakin cepat. Kondisi ini membuat anggrek *Dendrobium sp.* menjadi lebih cepat berbunga dibandingkan dengan jenis anggrek yang berdaun sempit seperti *Rhensanthera matutina*, dan *Vanda kookeriana*. Bunga anggrek *Dendrobium sp.* mempunyai aneka macam bentuk, warna, dan ukuran. Warna dasar anggrek *Dendrobium sp.* yang telah ditemui yaitu putih, ungu, merah, kuning, hitam, coklat, dan kombinasi dari warna-warna dasar tersebut. Bunga anggrek *Dendrobium sp.* yang telah mekar bisa bertahan lebih dari 30 hari (masih berada di dalam pot) dan setiap tangkainya memiliki lebih dari 20 kuntum bunga yang tersusun rapi dan terlihat indah (Setiawan, 2009).

### **2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Anggrek *Dendrobium***

Anggrek *Dendrobium sp.* secara alami tumbuh pada habitatnya sebagai anggrek epifit yaitu anggrek yang tumbuh menumpang pada batang pohon, namun tidak merugikan tanaman yang ditumpangnya. Anggrek *Dendrobium sp.* yang dibudidayakan umumnya ditumbuhkan dalam pot tanah atau pot plastik atau sejenisnya dengan menggunakan media tumbuh seperti pakis, arang, sabut kelapa, dan kulit pinus. Anggrek *Dendrobium sp.* merupakan anggrek yang sangat populer sebagai bunga pot karena produksi bunga cukup tinggi, warna bunganya indah dan bervariasi, bentuk bunga menarik, tahan lama sebagai bunga potong, mudah perawatannya, dan mudah diperbanyak (Sandra, 2002).

Pertumbuhan anggrek *Dendrobium sp.* tumbuh optimal pada lokasi kurang dari 400 m di atas permukaan laut. Tanaman ini hanya membutuhkan intensitas cahaya dan lama penyinaran terbatas. Besarnya intensitas cahaya yang dibutuhkan yaitu sekitar 1.500 - 3.000 fc. Kelembaban yang dikehendaki anggrek *Dendrobium sp.* berkisar antara 60%-85%. Dengan kisaran tersebut, maka penguapan pada siang hari bisa dicegah, sedangkan pada malam hari kelembaban tidak boleh melebihi 70% untuk menekan agar tanaman tidak mudah terserang hama dan penyakit. Hal ini dapat dilakukan dengan perawatan media agar tidak terlalu basah. Pertumbuhan anggrek *Dendrobium sp.* juga membutuhkan suhu rata-rata 25°C-30°C dan suhu pada malam hari 20°C-23°C.

Lokasi tempat membudidayakan anggrek *Dendrobium sp.* harus memiliki ketersediaan air yang cukup. *Dendrobium* memang menyukai air, tetapi tidak boleh berlebihan, air diperlukan saat pertumbuhan vegetatif laju pesat, dan pada saat tanaman belum berbunga. Namun keperluan air berkurang saat tangkai bunga tumbuh sampai bunga mekar (Setiawan, 2009).

## 2.2 Kultur Jaringan Tanaman Anggrek *Dendrobium sp.*

Perbanyakan (propagasi) secara *in vitro* (kultur jaringan) merupakan suatu metode untuk menumbuhkan bagian-bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ dalam keadaan aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh (planlet) (Sani, 2007; Katuuk, 2000; Ahmed *et al.*, 2012). Bagian-bagian dari tanaman, potongan kecil jaringan atau organ ini disebut eksplan (Pierik, 1997). Propagasi secara *in vitro* sangat baik diaplikasikan dengan tujuan untuk memperbanyak tanaman, memodifikasi genotip tanaman, dan juga mempelajari patologi tanaman (BALITHI, 2018).

Hartmann *et al.*, (2002) dan Yusnita (2003) menyebutkan bahwa bagian tanaman yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah: kalus, sel, protoplas, pucuk, bunga, daun, akar, umbi, biji, atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon. Eksplan yang digunakan dalam kultur jaringan harus memiliki kondisi fisiologis yang tepat dan bebas penyakit. Selain itu jenis tanaman, bagian tanaman, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh, umur, kondisi tanaman, ukuran eksplan serta musim pengambilan merupakan beberapa faktor keberhasilan dalam tahapan kultur jaringan.

Planlet adalah sekelompok sel yang belum terdiferensiasi/terorganisir (disebut kalus) yang berkembang menjadi tunas, menghasilkan akar dan selanjutnya tumbuh menjadi individu yang baru, atau dengan kata lain, planlet dalam kultur jaringan adalah tanaman mini lengkap hasil regenerasi atau perbanyakan kultur jaringan yang memiliki akar, batang, dan daun. Planlet atau tanaman muda masih berupa tanaman bayi, sehingga mereka belum mampu untuk langsung diperhadapkan dengan keadaan lingkungan yang ekstrim. Planlet harus dilatih untuk beradaptasi secara berangsur-angsur terhadap lingkungan yang baru, yang meliputi: cahaya

matahari, angin kelembaban, zat hara dalam media tanam, serta suhu. Dalam kultur jaringan, planlet dapat dijadikan sebagai bahan perbanyakan. Dalam perbanyakan tanaman anggrek yang sudah ada (planlet) maka perbanyakan ini disebut dengan subkultur planlet. Perbanyakan dalam istilah kultur jaringan mengacu pada istilah multiplikasi.

Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan untuk hidup dan memperbanyak dirinya (Nugrahani, 2011). Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan, contohnya yaitu Murashige dan Skoog (MS). Media kultur tersebut dapat berbentuk cair maupun padat. Medium padat digunakan untuk menghasilkan kalus yang selanjutnya diinduksi membentuk tanaman lengkap (planlet), sedangkan medium cair biasanya digunakan untuk kultur sel. Medium yang digunakan mengandung lima komponen umum, yaitu senyawa anorganik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan suplemen organik (Yuwono, 2008).

### **2.3 Peranan Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam teknik kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan termasuk hara (nutrisi), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (promote), atau menghambat (inhibit), dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Zat pengatur tumbuh tanaman terdiri atas lima jenis, yaitu: auksin,



giberelin, sitokinin, etilen, dan asam absisat. Auksin digunakan untuk memacu pertumbuhan akar, giberelin berfungsi untuk pemanjangan sel, sitokinin untuk memacu pembentukan tunas, etilen untuk pematangan buah, dan asam absisat untuk memacu gugurnya daun (Wattimena, 2000).

Pada kultur kalus zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan adalah dari golongan auksin dan sitokinin (Abidin, 1983). Perimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang sesuai akan sangat besar pengaruhnya untuk pertumbuhan planlet pada teknik kultur jaringan. Untuk pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* diperlukan komposisi atau konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda untuk satu varietas dengan varietas lain dari suatu tanaman.

### **2.3.1 Auksin**

Istilah auksin pertama kali digunakan oleh Frits Went, seorang mahasiswa pascasarjana di negeri Belanda pada tahun 1928 yang menemukan bahwa suatu senyawa yang belum dapat dicirikan mungkin menyebabkan pembengkokan koleoptil oat ke arah cahaya, fenomena pembengkokan ini disebut fototropisme. Senyawa yang ditemukan Went didapati cukup banyak di ujung koleoptil (Salisbury dan Ross, 1992).

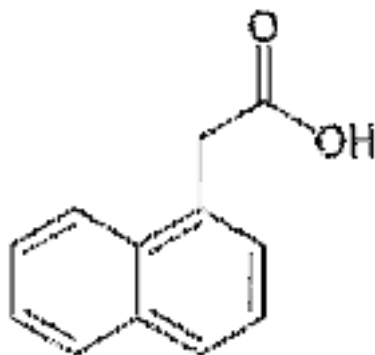
Auksin yang ditemukan Went kini diketahui sebagai asam indolasetat (IAA) dan beberapa ahli fisiologis masih menyamakan IAA dengan auksin. Namun, tumbuhan mengandung tiga senyawa lain yang strukturnya mirip dengan IAA dan menyebabkan banyak respon yang sama dengan IAA. Auksin yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan akar dan sebagai bahan aktif yang sering digunakan dalam persiapan holtikultura komersial terutama untuk akar dan batang. Zat pengatur tumbuh auksin ada beberapa jenis yaitu : *indole acetic acid* (IAA), *Naphtalene Acetic Acid* (NAA), dan *asam indole butyric* (IBA).

**a. *Naphtalene Acetic Acid* (NAA)**

Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Fungsi utama auksin adalah untuk merangsang perpanjangan sel-sel di dalam tunas-tunas muda yang sedang berkembang. Meristem apikal dari suatu tunas adalah tempat utama sintesis auksin (Campbell dan Recee, 2012).

Penambahan NAA pada media menyebabkan sel-sel kalus aktif dalam pembelahan sel, pembesaran sel, menaikkan tekanan osmotik dan meningkatkan sintesis protein. penambahan auksin yang lebih stabil misalnya NAA cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan. Salah satu mekanisme kerja auksin adalah mempengaruhi perpanjangan sel. Auksin mendorong elongasi pada kleoptil dan ruas-ruas tanaman. Elongasi sel terutama terjadi pada arah vertikal dan diikuti dengan pembesaran sel dan peningkatan bobot basah (Wattimena, 1988).

NAA memiliki sifat yang stabil dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim (Zaer da Mapes, 1985). Anwar (2007) menambahkan bahwa NAA memiliki sifat yang lebih tahan dan tidak terdegradasi serta lebih murah. *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) banyak digunakan sebagai hormon akar dan selang konsentrasi yang mendorong pembesaran sel-sel pada akar adalah sangat rendah. Struktur molekul (*NAA*) *Naphtalene Acetic Acid* disajikan pada Gambar 1.

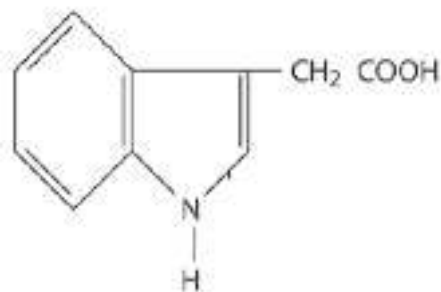


Gambar 1. Struktur molekul NAA (*Naphtalene Acetic Acid*)

**b. *Indole Acetic Acid (IAA)***

Bentuk-bentuk auksin yang juga sering digunakan dalam kultur jaringan adalah *Indole Acetic Acid (IAA)*. Zat pengatur tumbuh IAA termasuk dalam hormon auksin endogen yang memiliki peran dalam pembesaran sel, dapat menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya imbibisi, berperan dalam pembentukan jaringan xylem serta floem, dan juga memiliki pengaruh terhadap perkembangan dan pemanjangan akar (Wattimena, 1988).

Secara kimia, IAA mirip dengan asam amino triptofan (walaupun sering 1000 kali lebih encer). IAA terdapat di akar, pada konsentrasi yang hampir sama di bagian tumbuh lainnya. Pemberian auksin memacu pada pemanjangan potongan akar atau bahkan akar utuh pada banyak spesies, tapi hanya pada konsentrasi yang sangat rendah (bergantung pada umur akar). Pada konsentrasi yang lebih tinggi, pemanjangan hampir selalu terhambat. Diperkirakan, sel akar umumnya mengandung cukup atau hampir cukup auksin untuk memanjang secara normal. Setelah beberapa hari atau beberapa minggu penambahan auksin pada kultur *In Vitro*, banyak akar tumbuh yang menandakan bahwa kebutuhan tanaman akan hormon sudah terpenuhi dari hasil sintesis sendiri (Salisbury dan Ross, 1992). Struktur molekul IAA (*Indole Acetic Acid*) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur molekul IAA (*Indole Acetic Acid*)

### **2.3.2 Sitokinin**

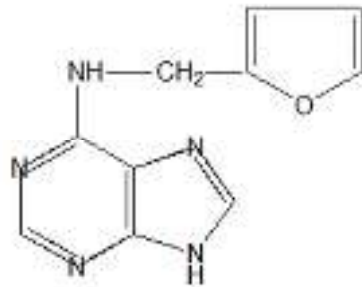
Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh tanaman yang berperan dalam pembelahan sel di bagian akar dan tunas. Peranan sitokinin terutama pada pertumbuhan sel dan diferensiasi sel, selain itu juga berperan pada dominansi apikal, pertumbuhan tunas, dan proses penguningan daun. Ada dua jenis sitokinin, yaitu: sitokinin tipe adenin, seperti kinetin, zeatin, dan benzylaminopurine, dan juga sitokinin tipe phenylurea, seperti diphenylurea, dan tidiozuron. Sebagian besar sitokinin disintesis di akar. Kambium dan bagian tanaman yang aktif membelah juga mensintesis sitokinin. Peran sitokinin tidak terlepas dari peranan hormon tanaman lainnya, terutama auksin.

Sitokinin yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah BAP dan kinetin. Apabila ketersediaan sitokinin di dalam medium kultur sangat terbatas maka pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan akan terhambat, tetapi apabila jaringan tersebut dipindahkan pada medium dengan kandungan sitokinin yang memadai maka pembelahan sel akan berlangsung cepat. Selain meningkatkan pembelahan sel dan inisiasi pucuk, sitokinin juga berfungsi dalam kontrol perkecambahan biji, mempengaruhi absisi daun dan transpor auksin, memungkinkan bekerjanya giberelin dengan menghilangkan penghambat tumbuh, serta menunda penuaan (George dan Sherrington, 2001).

#### **a. Kinetin**

Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan (Hendrayono dan Wijayani, 2008). Kinetin pada awalnya diisolasi oleh Miller dan Skoog. Sebagai senyawa dari DNA, sperma herring autoklaf yang memiliki aktivitas pembelahan sel itu diberi nama kinetin karena

kemampuannya untuk menginduksi pembelahan sel, asalkan auksin hadir pada media. Kinetin sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman untuk menginduksi pembentukan kalus (bersama dengan auksin) dan untuk meregenerasi jaringan tunas dari kalus (dengan konsentrasi auksin yang lebih rendah). Struktur molekul Kinetin disajikan pada Gambar 3.

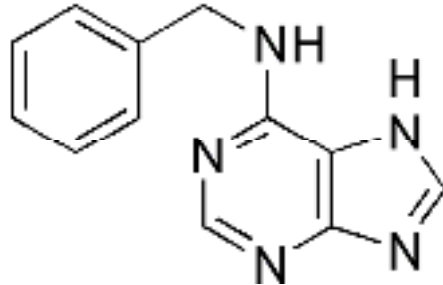


Gambar 3. Struktur molekul Kinetin

**b. 6-Benzyl Amino Purin (BAP)**

*6-Benzyl Amino Purin* (BAP) adalah sitokinin yang paling sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil, dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya. BAP merupakan golongan sitokinin sintetis yang paling sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Hal ini karena BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan, mudah didapat, dan relatif lebih murah dibandingkan kinetin (Yusnita, 2003).

*6-Benzyl Amino Purin* (BAP) memiliki rumus bagan  $C_{12}H_{11}N_5$  dan titik lebur  $230-233^{\circ}C$  (Santoso dan Nursandi, 2004). BAP merupakan sitokinin sintesis yang memiliki berat molekul sebesar 225.26 (Alitalia, 2008). Wattimena (1988) menambahkan bahwa BAP merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 yang strukturnya serupa dengan kinetin. Struktur molekul BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur molekul BAP (*6-Benzyl Amino Purin*)

### 2.3.3 Kombinasi Auksin dan Sitokinin

Pada proses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan berkembangnya jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen. Kombinasi antara sitokinin dan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas (Flick *et al.*, 1993). Penggunaan sitokinin mempunyai peranan penting jika bersamaan dengan auksin yaitu merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan serta merangsang pertumbuhan tunas dan daun (Watherell, 1982 *dalam* Yuswindasari, 2010). Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi kedua ZPT tersebut bekerja secara berinteraksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan bahan tanaman. Sitokinin merangsang pembelahan sel tanaman berinteraksi dengan auksin dalam menentukan arah diferensiasi sel. Apabila perbandingan konsentrasi sitokinin lebih besar dari auksin, maka pertumbuhan tunas dan daun akan terstimulasi. Sebaliknya, apabila sitokinin lebih rendah dari auksin, maka mengakibatkan menstimulasi pada pertumbuhan akar. Apabila perbandingan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun, dan akar akan berimbang pula (Karjadi dan Buchory, 2007).

Keberhasilan dari metode kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, satu diantaranya adalah penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media berupa sitokinin atau auksin yang dalam hal ini digunakan NAA dan IAA serta Kinetin dan BAP.

### **BAB III**

#### **BAHAN DAN METODE**

### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian pada bulan Maret 2019 sampai Juni 2019.

### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: planlet/tunas anggrek *Dendrobium sp* yang berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan Badan Induk Hortikultura Gedung Johor, media kultur yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog,1962), NAA (*Naphtalene Acetic Acid*), IAA (*Indole Acetic Acid*), Kinetin, dan BAP (*6-Benzyl Amino Purin*), fungisida benlate, *tween 20*, agar-agar, NaOH 1 N, HCl 1 N, aquades, vitamin, sukrosa, myo-inositol, alkohol 70% dan 95%, sodium hipoklorit 5% (*clorox* atau *bayclin*), pH meter atau kertas lakmus, kertas label, kertas aluminium.

Alat-alat yang digunakan adalah: *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lampu *fluorescence*, botol kultur,erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, petridis, *scalpel*, gunting, bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, kertas milimeter, dan pinset.

### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan, yaitu:

1. Faktor pemberian auksin yang disusun dalam dua jenis, yaitu:

$$A_1 = \text{IAA } 1 \text{ mg/l}$$

$$A_2 = \text{NAA } 1 \text{ mg/l}$$



Menurut (Ernitha, 2005) konsentrasi optimum auksin terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium sp.* adalah 0,75 mg/l.

2. Faktor pemberian sitokinin yang disusun dua jenis, yaitu:

$$S_1 = \text{Kinetin } 2 \text{ mg/l}$$

$$S_2 = \text{BAP } 2 \text{ mg/l}$$

Menurut (Ernitha, 2005) konsentrasi optimum sitokini terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium sp.* adalah 2,25 mg/l.

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak  $2 \times 2 = 4$  kombinasi yaitu :

$A_1S_1$

$A_2S_1$

$A_1S_2$

$A_2S_2$

Jumlah perlakuan = 4 kombinasi

jumlah ulangan = 3 ulangan

jumlah tunas/ botol = 1 tunas

jumlah botol per perlakuan = 7 botol

jumlah sample yang dijadikan parameter = 3 sampel

jumlah seluruh botol sebanyak  $12 \times 7 = 84$  botol tunas.

### 3.4 Metode Analisis

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana :

$Y_{ijk}$  = hasil pengamatan dari perlakuan auksin taraf ke-i dan perlakuan sitokinin taraf ke-j pada ulangan ke-k

$\mu$  = Nilai tengah

$\alpha_i$  = Pengamatan perlakuan auksin taraf ke-i

$\beta_j$  = Pengaruh perlakuan sitokinin taraf ke-j

$\alpha\beta_{ij}$  = Pengaruh interaksi ZPT auksin taraf ke-i dan sitokinin taraf ke-j

$\varepsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat yang diberikan auksin pada taraf ke-i dan sitokinin pada taraf ke-j pada ulangan ke-k

Untuk mengetahui pengaruh dari faktor perlakuan yang diberikan serta interaksinya maka data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Hasil sidik ragam yang nyata atau sangat nyata pengaruhnya dilanjutkan dengan menggunakan uji jarak Duncan pada taraf  $\alpha = 0,05$  dan  $\alpha = 0,01$  untuk membandingkan perlakuan dan kombinasi perlakuan (Malau, 2005).

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa kegiatan, yaitu:

#### **3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Tanaman**

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah planlet anggrek *Dendrobium sp.* yang telah dikulturkan selama 2-3 bulan dengan ciri planlet yang sudah memiliki organ planlet lengkap (akar, batang, daun), warna pucuk batang hijau mantap artinya tidak tembus pandang, pertumbuhannya kekar, dan ukuran tinggi tanaman 2-3 cm.

#### **3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur**

Alat-alat yang digunakan untuk membuat larutan stok media, seperti: gelas piala, erlenmeyer, dan labu ukur, dicuci menggunakan detergen dan dibilas dengan aquades. Hal yang sama juga dilakukan terhadap botol kultur, cawan petri dan alat-alat tanam. Alat-alat tersebut kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoklaf* pada tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121°C selama minimal 1 jam. Ruang dalam teknologi kultur jaringan harus dalam kondisi steril agar tingkat keberhasilan tinggi. Sterilisasi ruangan dilakukan dengan menyemprot ruangan dengan alkohol 95%, sedangkan sterilisasi lantai dengan lisol kemudian ruangan ditutup rapat selama 12 jam. Selama 12 jam tersebut orang dilarang memasuki ruangan karena berbahaya bagi kesehatan.

### **3.5.3 Pembuatan Media**

Media kultur yang dibuat adalah menurut formula Murashige dan Skoog (MS). Komponen formula (MS) disajikan pada Lampiran 1. Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu untuk memudahkan pada pembuatan media. Larutan stok adalah larutan bahan media yang dibuat dalam jumlah atau volume besar. Pembuatan larutan stok bertujuan untuk menghemat pekerjaan menimbang yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Larutan stok dibuat disimpan di tempat gelap dan bertemperatur rendah. Langkah dalam pembuatan larutan media dan stok disajikan pada Lampiran 2.

### **3.5.4 Pemberian Zat Pengatur Tumbuh**

Penggunaan zat pengatur tumbuh diawali dengan pembuatan stok ZPT sebanyak yang dibutuhkan dengan konsentrasi stok optimum 100ml. Zat pengatur tumbuh yang digunakan diberikan terlebih dahulu kedalam botol kultur dengan menggunakan pipet tetes sesuai konsentrasi perlakuan. Kemudian media dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah berisi

ZPT tersebut dan botol kultur di tutup menggunakan kertas aluminium untuk disterilisasi ke dalam autoklaf.

### **3.5.5 Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)**

Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% kemudian dibiarkan terlebih dahulu sekitar 10 menit, setelah itu lampu UV (*ultra violet*) berwarna biru dapat dihidupkan selama 30-60 menit.

### **3.5.6 Penanaman Planlet Pada Medium Penelitian**

Penanaman Planlet anggrek *Dendrobium sp.* dilakukan di L AFC yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Planlet anggrek *Dendrobium sp.* hasil kultur jaringan diambil menggunakan pinset dan ditanam ke dalam botol media yang sesuai dengan perlakuan. Apabila telah selesai, botol-botol media tersebut ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan.

### **3.5.7 Pemeliharaan Kultur**

Botol kultur yang telah berisi planlet tersebut ditempatkan di dalam rak kultur jaringan dan disusun sedemikian rupa pada rak kultur yang suhunya telah diatur, ditempatkan pada kondisi terang dengan penyinaran lampu TL Neon dengan jarak 50 cm dari botol-botol kultur. Untuk pemeliharaan kelembaban, lingkungan harus mendekati 100% karena kelembaban di sekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum adalah 20-25°C. Ruangan ini harus diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari botol-botol eksplan harus

disemprot dengan menggunakan alkohol 95% dan rak-rak kultur ditaburi dengan fungisida benlate.

### **3.6 Pengamatan Parameter**

Pengamatan terhadap perkembangan planlet dimulai dari 1 minggu setelah tanam (MST) sampai dengan 8 MST. Parameter yang diamati adalah:

#### **3.6.1 Persentase Jumlah Planlet yang Hidup**

Perhitungan jumlah planlet hidup angrek *Dendrobium sp.* dengan menggunakan rumus menurut Nurcahyani dkk., (2014).

$$\text{Persentase planlet yang hidup} = \frac{\text{jumlah planlet yang hidup}}{\text{jumlah planlet seluruhnya}} \times 100\%$$

#### **3.6.2 Jumlah Tunas**

Jumlah tunas angrek yang tumbuh dihitung secara manual dengan cara mengamati langsung dari botol kultur, dan dilakukan mulai dari 1 minggu setelah penelitian dimulai sampai pada akhir penelitian.

#### **3.6.3 Jumlah Daun**

Jumlah daun dihitung secara manual, yakni dengan menghitung jumlah semua daun pada setiap planlet secara manual dan dilakukan mulai dari 1 minggu setelah penelitian dimulai sampai pada akhir penelitian.

#### **3.6.4 Panjang Daun**

Panjang daun diukur mulai dari pangkal daun sampai ujung daun dengan menggunakan penggaris dan dilakukan pada akhir penelitian.

### **3.6.5 Tinggi Planlet**

Tinggi planlet diukur dengan menggunakan penggaris, pengukuran dilakukan dari mulai pangkal batang sampai dengan ujung daun terpanjang dan dilakukan pada akhir penelitian.

### **3.6.6 Jumlah Akar**

Semua akar yang terdapat pada planlet dihitung jumlahnya. Dihitung secara manual dengan menghitung satu persatu jumlah akar pada planlet.

### **3.6.7 Panjang Akar**

Panjang akar diukur mulai dari pangkal akar sampai ujung akar. Diukur secara manual dengan menggunakan penggaris dan dilakukan pada akhir penelitian.