

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman anggrek merupakan salah satu tanaman hias berbunga yang sangat prospektif dan bernilai ekonomi dengan berbagai ragam bentuk, warna, ukuran, dan aroma yang khas dengan kualitas bunga yang tahan lama (Nurchayani, dkk 2017). Tanaman anggrek mempunyai 25.000 – 30.000 spesies di dunia dengan keindahan dan kecantikan yang khas sehingga menjadikan bunga anggrek disebut sebagai "*Queen of Flower*" (Kasutjianingati dan Irawan, 2013).

Indonesia memiliki sekitar 5000 spesies anggrek dari 30.000 spesies anggrek yang ada di dunia, hal ini menjadikan Indonesia sebagai sumber plasma nutfah anggrek yang sangat melimpah. Salah satu jenis anggrek yang banyak diminati adalah jenis *Dendrobium spp.*, selain memiliki bentuk unik dan warna yang menarik menurut Widiastoety dan Nurmalinda (2010) anggrek *Dendrobium spp.* banyak digunakan dalam rangkaian bunga karena memiliki kesegaran yang relatif lama, warna dan bentuk bunganya bervariasi, tangkai bunga lentur sehingga mudah dirangkai, dan produktivitasnya tinggi. Produksi tanaman anggrek di Indonesia pada tahun 2009 – 2014 mengalami peningkatan. Pada tahun 2009 kebutuhan anggrek 16.205.949, tahun 2010 kebutuhan anggrek 14.050.445, tahun 2011 kebutuhan anggrek 15.490.256, tahun 2012 kebutuhan anggrek 20.727.891, tahun 2013 kebutuhan anggrek 20.277.672 dan pada tahun 2014 kebutuhan anggrek 24.633.789 (Badan Pusat Statistika dan Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015).

Anggrek umumnya diperbanyak dengan cara vegetatif dan generatif. Kebutuhan anggrek yang kian meningkat perlu ditunjang dengan penyediaan bibit dalam jumlah banyak dan dalam

waktu yang singkat, namun tetap mendapatkan bibit dengan kualitas prima, sementara perbanyakan konvensional anggrek dengan pemisahan anakan membutuhkan waktu yang lama dan kondisi bibit rawan terhadap penyebaran penyakit (Yuliarti, 2010). Salah satu teknik yang bisa dilakukan dalam memperbanyak tanaman anggrek adalah perbanyakan secara *in vitro* dengan metode kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan merupakan teknik penumbuhan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro* dengan menyusun komposisi nutrisi, hara makro, hara mikro, vitamin serta zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk pertumbuhan tanaman (Yusnita dan Handayani, 2011). Perbanyakan *Dendrobium spp.* yang dilakukan melalui kultur *in vitro*, salah satu faktor yang mempengaruhi adalah zat pengatur tumbuh. Ada beberapa golongan ZPT penting, antara lain sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan kultur organ. Hormon kinetin adalah senyawa kimia yang termasuk dalam golongan sitokinin yang berperan dalam pertumbuhan tunas. Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi kedua ZPT tersebut bekerja secara berinteraksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Penambahan senyawa organik kompleks pada medium kultur banyak dilakukan karena pada umumnya senyawa organik kompleks merupakan sumber gula, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan asam amino. Sumber nutrisi dapat berasal dari ekstrak buah atau air kelapa. Ekstrak buah yang dapat digunakan antara lain adalah ekstrak buah pisang, ekstrak tomat, ekstrak kecambah kacang hijau, kentang maupun ubi. Keunggulan dari ekstrak buah antara lain ialah harga yang lebih murah, mudah didapat serta mengandung nutrisi untuk pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian Arditti dan Ernts (1993) menunjukkan bahwa buah pisang mengandung hormon

tumbuh seperti auksin dan giberelin serta nutrisi penting sebagai zat pengatur tumbuh eksogen. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak pisang dapat menggantikan peran ZPT sintentik yang berfungsi bagi pertumbuhan eksplan anggrek.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak pisang dan kinetin terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*).

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari dan mengetahui pengaruh ekstrak buah pisang dan kinetin serta interaksinya terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*).

## **1.3 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Diduga ada pengaruh ekstrak buah pisang terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*).
2. Diduga ada pengaruh kinetin terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*).
3. Diduga ada interaksi antara ekstrak buah pisang dan kinetin terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*)

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Kegunaan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk memperoleh konsentrasi ekstrak buah pisang dan kinetin terhadap pembentukan tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*).

2. Untuk menghasilkan tanaman anggrek (*Dendrobium spp.*) baru dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang singkat.
3. Sebagai bahan informasi bagi pihak-pihak yang membutuhkan khususnya dalam budidaya tanaman anggrek (*Dendrobium spp.*) secara kultur jaringan.
4. Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Anggrek (*Dendrobium spp.*)**

##### **2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Anggrek (*Dendrobium spp.*)**

Adapun klasifikasi tanaman anggrek menurut (Yunita, 2010) adalah: Kingdom: Planthae, Divisio: Spermatophyta, Subdivisio: Angiospermae, Classis: Monocotiledoneae, Ordo: Orchidales, Familia: Orchidaceae, Genus: *Dendrobium*, Spesies: *Dendrobium spp.*

Secara morfologis anggrek *Dendrobium spp.* merupakan tumbuhan yang hidup secara epifit dengan tipe tumbuhnya secara simpodial. Susunan tubuh tanaman terdiri dari akar, batang,

daun, bunga dan buah (Gunawan, 2007). *Dendrobium spp.* mempunyai akar lekat atau akar substrat yang berfungsi sebagai penahan tanaman.

Akar anggrek epifit umumnya lunak dan mudah patah. Ujungnya meruncing, licin, dan sedikit lengket. Akar anggrek juga mempunyai lapisan velamen yang bersifat spangi (berongga) dan dibawahnya terdapat lapisan mengandung klorofil. Lapisan velamen berfungsi menyerap air dan melindungi bagian dalam akar (Gunawan, 2007).

*Dendrobium spp.* memiliki pola pertumbuhan batang tipe simpodial yaitu pertumbuhan ujung batang lurus ke atas dan terbatas. Pertumbuhannya terhenti setelah titik maksimal. Selanjutnya tunas atau anakan baru keluar dari pangkal batang dan tumbuh membesar. Bentuk batang bulat memanjang dan beruas-ruas dengan panjang yang hampir sama.

Daun bersifat sukulen, warna hijau segar dan keluar dari ruas batang, melekat pada batang tanpa tangkai daun. Posisi daun berhadapan atau berpasangan, daun memanjang, tulang daun sejajar dengan tepi daun hingga ujung daun. Ukuran dan ketebalan daun bervariasi dan mempunyai fungsi sebagai penyimpanan air (Darmono, 2003).

Bunga *Dendrobium spp.* umumnya tersusun majemuk. Tumbuh dari tangkai bunga yang memanjang, muncul dari ketiak daun. Bunga memiliki 45 sepal berbentuk hampir menyerupai segitiga, bagian dasarnya bersatu dengan kaki tugu untuk membentuk taji. Petal biasanya lebih tipis dari sepal dan bibir bunganya membelah dan beraroma khas. Bunganya dapat bertahan kurang lebih dua minggu (Gunawan, 2007).

Buah *Dendrobium spp.* berwarna hijau, berukuran besar dan menggebung di bagian tengah. Berbentuk seperti kapsul yang terbelah menjadi enam. Tiga diantaranya berasal dari rusuk sejati, sedang sisanya tempat melekatnya dua tepi daun buah yang berlainan dan merupakan tempat terbentuknya biji-biji anggrek yang ukurannya sangat kecil.

Biji anggrek (menyerupai beberapa tanaman saprofit atau semi parasit), mengandung embrio yang sangat kecil berdiameter 0,1 mm, tanpa jaringan cadangan makanan sebagaimana endosperm atau tonjolan kotiledon. Selama pekecambahan, embrio bertambah besar membentuk *protocorm*, jaringan yang menyerupai struktur *corm* kecil berwarna hijau yang mempunyai kemampuan fotosintesis (George dan Sherrington, 2001). Biji anggrek terdiri dari embrio dan testa (pelindung embrio) tanpa cadangan makanan atau endosperm. Jika bersimbiosis dengan mikoriza, biji anggrek dapat memperoleh yang diperlukan untuk tumbuh. Pada umumnya tingkat keberhasilan perkecambahan secara alami persentasenya sangat kecil (Untari dan Puspitaningtyas, 2003).

### **2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Anggrek (*Dendrobium spp.*)**

Tanaman anggrek tersebar luas dari daerah tropis sampai daerah subtropis. Anggrek akan tumbuh sehat dan berbunga teratur jika persyaratan dan kebutuhan hidupnya terpenuhi dengan baik. Persyaratan kebutuhan hidup anggrek antara lain: ketinggian tempat, cahaya matahari, air siraman, media tanam dan tempat tumbuh, serta perawatan yang sesuai.

#### **1. Ketinggian tempat**

Umumnya anggrek tumbuh baik di daerah tropis. Meskipun demikian, ketinggian tempat ikut menentukan pertumbuhannya. Berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya, anggrek dibagi menjadi tiga golongan yaitu anggrek yang tumbuh baik di dataran tinggi, dataran sedang, dan dataran rendah. Menurut Pranata (2005), anggrek yang tumbuh baik di dataran sedang contohnya antara lain: *Dendrobium*, *Cattleya*, *Phalaenopsis*, dan *Oncidium*. Dataran sedang mempunyai ketinggian antara 500-1000 meter di atas permukaan laut dengan suhu pada siang hari 29°C-32°C dan pada malam hari 19°C-21°C.

#### **2. Kebutuhan cahaya**

Pada umumnya kebutuhan cahaya anggrek *Dendrobium spp.* sekitar 35% - 65%. *Dendrobium* yang tergolong anggrek epifit, kebutuhan intensitas cahaya hanya sekitar 50% - 60%.

### 3. Sirkulasi udara

Anggrek membutuhkan sirkulasi udara yang lembut dan terus-menerus jika sirkulasi udara tidak ada atau tidak lancar, anggrek akan mudah diserang penyakit terutama yang disebabkan oleh cendawan dan bakteri. Begitu pula jika sirkulasi udara terlalu kencang, akan menyebabkan anggrek mengalami dehidrasi.

### 4. Kelembaban udara

Semua jenis anggrek memerlukan kelembaban yang cukup tinggi. Di alam aslinya anggrek mengambil sebagian kebutuhan airnya melalui udara, baik lewat akar maupun mulut daun. Pada umumnya tanaman anggrek membutuhkan kelembaban udara pada siang hari berkisar antara 50% - 80% dan pada musim berbunga sekitar 50% - 60%.

### 5. Kebutuhan air

Tanaman anggrek akan tumbuh dengan baik jika kebutuhan airnya tercukupi. Sehingga dalam frekuensi dan banyaknya penyiraman sangat tergantung pada cuaca (suhu, angin, dan cahaya), jenis, ukuran tanaman, serta keadaan lingkungan tanaman. Penyiraman yang berlebihan akan menyebabkan penyakit kebusukan yang disebabkan oleh bakteri atau cendawan. Sedangkan kekeringan yang berkepanjangan akan menimbulkan dehidrasi (kekurangan air) yang ditandai dengan pseudobulb (umbi semu) yang berubah menjadi keriput (Sutiyoso dan Sarwono, 2005).

## **2.2 Kultur Jaringan Tanaman Anggrek (*Dendrobium spp.*)**

Kultur jaringan adalah teknik memperbanyak tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utamanya adalah memperbanyak tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman, menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain: mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan memperbanyak konvensional.

Media merupakan faktor penentu dalam memperbanyak 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 memperbanyak tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan, contohnya Vacin dan Went (VW) atau Murashige dan Skoog (MS). Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Medium yang digunakan mengandung lima komponen umum, yaitu senyawa organik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan suplemen organik (Yuwono, 2008). Selain itu, diperlukan juga bahan

tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenisnya maupun jumlahnya, tergantung dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan.

Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk kegiatan kultur jaringan adalah tunas. Sterilisasi adalah bahwa segala kegiatan dalam kultur jaringan harus dilakukan di tempat yang steril, yaitu di *laminar air flow cabinet* dan menggunakan alat-alat yang juga steril. Sterilisasi juga dilakukan terhadap peralatan, yaitu menggunakan etanol yang disemprotkan secara merata pada peralatan yang digunakan. Teknisi yang melakukan kultur jaringan juga harus steril.

### **2.3 Ekstrak Pisang**

Bahan organik yang sekaligus berperan sebagai hormon pertumbuhan yang biasa ditambahkan pada medium dasar untuk kultur anggrek adalah air kelapa dan ekstrak buah pisang, selain karbohidrat ekstrak buah pisang mengandung ZPT yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. Ekstrak buah pisang selain berfungsi sebagai koenzim untuk beberapa reaksi dalam metabolisme dan juga berperan dalam metabolisme energi yang berasal dari karbohidrat. Pemberian ekstrak buah pisang ambon pada subkultur plantlet anggrek (*Dendrobium spp.*) dapat memacu pertumbuhan.

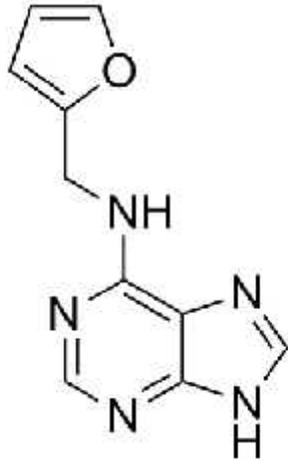
Buah pisang juga mengandung hormon alami auksin dan giberelin yang dapat merangsang atau merangsang pertumbuhan tanaman (Kasutjaningati dan Irawan, 2013). Menurut Rismunandar (2001), buah pisang yang masih hijau kulitnya tetapi sudah cukup tua, dagingnya mengandung 21-25% zat tepung. Bila mengalami pemeraman atau masak sendiri di pohon, zat tepung itu sebagian besar berubah menjadi beberapa jenis gula. Penambahan ekstrak

pisang, dan zat nabati lainnya yang memiliki kandungan karbohidrat tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel pada tanaman tertentu.

Secara umum kandungan yang terdapat dalam 1 buah pisang matang, yaitu protein 1,2 gram, lemak 0,2 gram, karbohidrat 25,3 mg, serat 0,7 gram, kalsium 8 mg, fosfor 28 mg, dan besi 0,5 mg, zat yang berupa fosfor tersebut baik bagi pertumbuhan tanaman anggrek (Ummi, 2008). Agriani (2010) dan Dwiarum (2007), menyatakan bahwa modifikasi medium kultur dengan penambahan bahan organik mampu meningkatkan viabilitas anggrek.

#### **2.4 Kinetin (6-furfurylaminopurine)**

Kinetin merupakan sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari pada sitokinin alami. Kinetin dapat meningkatkan pembelahan dan diferensiasi sel, mengurangi dominasi apikal, serta mematahkan dormansi pada tunas aksilar (Zulkarnain, 2009). Sitokinin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah kinetin, *benzyladenine* dan *zeatin*. Jenis sitokinin yang sering digunakan karena efektivitasnya yang tinggi, diantaranya adalah *benzyladenine* (BA) dan kinetin (Yusnita, 1990). Selain karena efektivitasnya yang tinggi, BA dan kinetin paling sering digunakan karena harganya yang relatif lebih murah bila dibandingkan dengan jenis sitokinin lainnya (Yusnita dan Handayani, 2011). Struktur molekul 6-furfurylaminopurine dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur 6-furfurylaminopurine.

### **BAB III**

#### **BAHAN DAN METODE**

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

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2020 sampai Agustus 2020.

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

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah: planlet/tunas mikro anggrek *Dendrobium spp.* yang berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan Badan Induk Hortikultura Gedung Johor, media kultur yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) (Lampiran 1), ekstrak buah pisang ambon, kinetin, fungisida benlate, tween 20, Kalium Hidroksida (KOH), Asam Klorida (HCl), agar-agar, gula, aquades, vitamin, myoinositol, alkohol 70% dan 95%, sodium hipoklorit 5% (*clorox* atau *bayclin*), pH meter atau kertas lakmus, kertas label, kertas aluminum.

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

### **3.3 Metode Penelitian**

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

1. Faktor pemberian ekstrak buah pisang dengan empat taraf konsentrasi yaitu:

E0 = 0 g/100 ml/l

E1 = 25 g/100 ml/l

E2 = 50 g/100 ml/l

E3 = 75 g/100 ml/l

2. Faktor pemberian kinetin dengan tiga taraf konsentrasi yaitu:

$$K0 = 0 \text{ mg/l}$$

$$K1 = 1,0 \text{ mg/l}$$

$$K2 = 2,0 \text{ mg/l}$$

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak  $4 \times 3 = 12$  kombinasi, yaitu:

E0K0	E1K0	E2K0	E3K0
E0K1	E1K1	E2K1	E3K1
E0K2	E1K2	E2K2	E3K2

Jumlah kombinasi = 12 kombinasi

Jumlah ulangan = 3 ulangan

Jumlah tunas/botol = 1 tunas

Jumlah botol per perlakuan = 4 botol

Jumlah sampel yang dijadikan parameter = 3 sampel

Jumlah seluruh botol sebanyak  $12 \times 4 \times 3 = 144$  botol

### 3.4 Metode Analisis

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL Faktorial adalah:

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

Dimana :

$Y_{ijk}$  = Hasil pengamatan dari perlakuan ekstrak pisang taraf ke-i dan perlakuan kinetin taraf ke-j pada ulangan ke-k

$\mu$  = Nilai tengah

$\alpha_i$  = Pengaruh perlakuan ekstrak pisang taraf ke-i

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

$\gamma_{ij}$  = Pengaruh interaksi ekstrak pisang taraf ke-i dan kinetin taraf ke-j

$ijk$  = Pengaruh galat yang diberikan ekstrak pisang pada taraf ke-i dan kinetin 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 dari 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/tunas anggrek (*Dendrobium spp.*) yang telah dikulturkan selama 2-3 bulan dengan ciri-ciri planlet yang sudah memiliki akar, batang, dan 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 dalam kultur jaringan dicuci dengan menggunakan detergen dan dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringkan dalam rak botol kultur. Setelah semua alat-alat kering maka alat-alat seperti kertas saring, petridis, pengaduk, pinset, pipet tetes dibungkus dengan kertas koran. Semua peralatan baik alat pembuatan media (botol kultur) dan alat inokulasi eksplan (cawan petri, scapel blade, pinset) disterilisasikan dengan *autoclave* dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 17,5 psi selama 15 menit. 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

ditutup rapat selama 12 jam. Selama 12 jam tersebut orang dilarang memasuki ruangan karena berbahaya bagi kesehatan.

### **3.5.3 Pembuatan Ekstrak Pisang**

Pisang ambon yang digunakan adalah pisang yang masak pohon ditandai dengan daging buah bertekstur lembut. Kemudian ditimbang buah pisang ambon yang telah dikupas sebanyak 25 g dan dicampur dengan aquades sebanyak 100 ml lalu diblender kemudian disaring dengan menggunakan kain saring. Sehingga yang digunakan adalah ekstrak buah pisang hasil saringan tersebut.

### **3.5.4 Pembuatan Media Kultur Jaringan**

Media kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS). Komponen formula Murashige dan Skoog (MS) disajikan pada Lampiran 1. Tujuan dari pembuatan larutan stok untuk menghindari penimbangan yang berulang-ulang. Larutan stok sebaiknya disimpan ditempat gelap dan bertermperatur rendah. Pembuatan larutan stok kimia terdiri dari hara makro dengan pembesaran 10x, hara mikro dengan pembesaran 100x, larutan iron, sukrosa, agar-agar myo-inositol, dan larutan vitamin. Tahap selanjutnya, sukrosa dimasukkan kedalam beaker glass yang berisi aquades 500 ml, diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian myo-inositol ditambahkan dan diaduk sampai larut. Lalu ion, vitamin, larutan hara makro dan mikro serta kinetin dimasukkan tepat 1000 ml. pH yang dikehendaki adalah 5,8 diukur menggunakan pH meter. Menaikkan pH menggunakan larutan NaOH sebanyak 0,1 N, dan untuk menurunkan pH kembali menggunakan larutan HCl 0,1 N.

Pada setiap perlakuan agar-agar dimasukkan kedalam erlenmeyer dipanaskan dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik sampai agar larut. Media siap dipindahkan kedalam botol kultur yang sudah steril sebanyak 25 ml/botol (Taji, 2002). Kemudian tutup botol kultur dengan

aluminium foil dan diberi label. Lalu botol kultur disterilkan dengan *autoclave* dengan tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121°C dalam 30 menit. Kemudian disimpan di tempat yang sejuk selama beberapa saat sebelum media tersebut digunakan untuk penanaman. Penyimpanan ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi di dalam media kultur sebelum digunakan untuk menanam eksplan.

### **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 Media Penelitian**

Penanaman planlet angrek (*Dendrobium spp.*) dilakukan di L AFC yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Planlet angrek (*Dendrobium spp.*) hasil kultur jaringan diambil menggunakan pinset dan ditanam kedalam 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 (Lampiran 2 dan 3). Botol kultur tersebut diletakkan pada rak kultur 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 disekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum adalah 20°C-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 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 anggrek (*Dendrobium spp.*) dengan menggunakan rumus Nurcahayani dkk, (2014).

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

#### **3.6.2 Waktu Tunas Terbentuk**

Menghitung secara manual jumlah hari kapan tunas mulai terbentuk. Dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam sampai 8 MST.

#### **3.6.3 Jumlah Tunas**

Jumlah tunas yang tumbuh dari planlet anggrek (*Dendrobium spp.*) dihitung secara manual dengan cara mengamati langsung dari botol kultur. Dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam sampai 8 MST.

#### **3.6.4 Jumlah Daun**

Jumlah daun dihitung secara manual, yakni dengan menghitung jumlah semua daun pada setiap planlet sebelum penanaman tunas mikro anggrek (*Dendrobium spp.*) dan sesudah penanaman dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam sampai 8 MST.

#### **3.6.5 Tinggi Planlet**

Tinggi planlet diukur dengan menggunakan kertas milimeter, pengukuran dilakukan dari mulai pangkal batang sampai dengan ujung daun terpanjang dan dilakukan pada akhir penelitian atau pada 8 MST.

### **3.6.6 Jumlah Akar**

Semua akar yang terdapat pada planlet dihitung jumlahnya. Dihitung secara manual dengan menghitung satu persatu jumlah akar pada planlet dilakukan pada akhir penelitian atau pada 8 MST.