

PERBANYAKAN ANGGREK HITAM (*Coeloegyne pandurata*) DENGAN MEDIA ORGANIK DAN VACIN WENT SECARA *IN VITRO*

Ni Kadek Dwipayani Lestari ⁽¹⁾ dan Ni Wayan Deswiniyanti ⁽²⁾

⁽¹⁾Prodi Biologi, FIKST

⁽²⁾Prodi Perekam dan Informasi Kesehatan, FIKST
Universitas Dhyana Pura

Email: arx-science@yahoo.com

ABSTRACT

Flora diversity in Indonesia is unrivaled and famous than other countries especially orchids. Currently the population of black orchid (Coeloegyne pandurata) had decreased because demand of black orchids is increase but this is a problem that black orchid will existence in their habitat. These problems can be overcome with orchid propagation through in vitro culture. The study was conducted using a completely randomized design (CRD) with one factor which media with 20 replications. The aim of this study is to obtain information as preliminary data on the response time growth of black orchid seeds and compare Vacin and Went (VW) medium with organic medium. Variables studied in this research is a time to grow, number of explants, number of leaves and number of roots. The results of this research that response of VW medium and organic medium can be used as a propagation medium for black orchid in tissue culture 5 week after initiation/germination (week-5). Media VW has complete nutrients than organic medium. The result showed that the average number of explants (week-5) on medium VW is 235.55 explants and medium organic is 191 explants. The result at week – 16 showed that average number of medium VW is 308.85 explants and media is 256.65 explants. Observations average number of leaves showed that on medium VW is 2.75 leaves and medium organic 2.05 leaves.

Key Word : Black Orchid, Tissue Culture, VW Medium , Organic medium dan In Vitro.

PENDAHULUAN

Indonesia terkenal di seluruh dunia sebagai negara yang banyak memiliki spesies anggrek alam. Anggrek alam adalah keanekaragaman hayati yang perlu dijaga kelestariannya, karena semakin mendekati kepunahan (Parnata, 2005). Anggrek alam memiliki keindahan yang dapat menjadi kebanggaan suatu bangsa dan dijadikan bunga nasional. Diperkirakan setengah dari spesies ini terdapat di Papua (Irian Jaya) sedangkan 2.000 spesies lainnya terdapat di Kalimantan dan sisanya tersebar di pulau-pulau Indonesia yang lain (Djuita dkk., 2004).

Spesies anggrek Indonesia bersifat khas dan hanya dijumpai di pulau-pulau tertentu, misalnya anggrek hitam yang hanya dapat dijumpai di

Kalimantan. Salah satu jenisnya adalah *Coelogyne pandurata* Lindl. dengan nama umum anggrek hitam (Parnata, 2005).

Saat ini populasi anggrek hitam sangat menurun bahkan terancam punah karena anggrek hitam banyak diminati oleh masyarakat sehingga keberadaan di alam menjadi terancam akibat pengambilan yang berlebihan. Faktor lain penyebab menurunnya keberadaan anggrek hitam adalah faktor eksternal berupa habitat tumbuh yang rusak akibat penebangan dan konversi lahan. Faktor internal seperti periode berbunganya sangat pendek (cepat layu) dan bunga relatif sulit untuk disilangkan (Fadelah 2006).

Masalah tersebut dapat diatasi dengan teknik perbanyakan anggrek melalui kultur *in vitro*. Upaya penyelamatan dan perbanyakan anggrek hitam dengan teknik kultur jaringan dipilih karena teknik ini memiliki keunggulan beberapa hal khusus, yaitu perbanyakan eksplan secara cepat, keseragaman genetik, kondisi aseptik yang bebas patogen, seleksi tanaman, stok tanaman mikro yang dapat diperbanyak sewaktu-waktu, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun, dan memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional (Zulkarnain, 2011).

Usaha meningkatkan produksi anggrek hitam dengan teknik kultur *in vitro* secara kualitatif dan kuantitatif dapat dilakukan dengan memodifikasi media melalui penambahan persenyawaan organik kompleks sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi sebagai data awal tentang waktu tumbuh benih anggrek hitam yang ditanam dalam media Vacin dan Went (VW) dan media organik. Untuk membandingkan kemampuan media Vacin dan Went (VW) dan media organik dalam menumbuhkan tunas anggrek hitam. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dengan mengetahui perbedaan pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada media organik dan pertumbuhan pada media Vacin dan Went (VW), sehingga diharapkan penelitian selanjutnya dapat memanfaatkan bahan-bahan organik yang berasal dari alam dan dapat menekan pengeluaran untuk membeli media instan.

METODE

Tempat Penelitian

Pengambilan sampel kapsul anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) didapatkan dari Kebun Anggrek di Gobleg, Singaraja Bali. Selanjutnya penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan CV. Ayu Orchid Bali.

Pembuatan media kultur

Eksplan penelitian ini diberi 2 perlakuan yaitu media Vacin dan Went (VW) dan media organik. Media kultur anggrek dengan menggunakan Vacin dan Went (VW) yaitu ditimbang 4 gram Vacin dan Went (VW), 20 gram gula dimasukkan dalam tabung erlenmeyer ditambahkan 200 ml *aquades* steril, diaduk homogen. Selanjutnya ditambahkan agar seberat 7,5 gram dan *aquades* steril hingga volume larutan media mencapai 1 liter dipanaskan dalam microwave, diaduk hingga homogen.

Media selanjutnya yang digunakan adalah media organik. Pembuatan media organik yaitu ditimbang, Pupuk Growmore 4 gr, 60 gram pisang ambon, 20 gram gula, 150 mg vit C dan 1 gram arang aktif dimasukkan dalam tabung erlenmeyer ditambahkan 200 ml *aquades* steril, diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan media ditambah air kelapa 150 ml, air rebusan tauge 150 ml dan *aquades* steril hingga 1 liter diaduk hingga homogen, diukur pH larutan $\pm 5,8$ dengan indikator pH. Bila pH larutan $< 5,8$ dapat ditambahkan NaOH 1 N dan bila pH $> 5,8$ dapat ditambahkan HCl 1 N, hingga pH menjadi $\pm 5,8$. Selanjutnya, larutan media ditambahkan 7,5 gram, diaduk hingga homogen. Larutan media dipanaskan dalam microwave, diaduk hingga mendidih, diukur pH $\pm 5,8$ dengan indikator pH.

Media Vacin dan Went (VW) dan media organik yang telah dipanaskan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur. Setiap botol berisikan kira-kira 40-60 ml, lalu ditutup dengan *aluminium foil*. Botol kultur yang telah berisi media tersebut siap untuk diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Sterilisasi eksplan

Buah anggrek yang digunakan adalah yang memiliki umur kira-kira 6 bulan setelah dilakukan penyerbukan. Karena biji-biji tersebut masih terbungkus dengan kapsul anggrek maka tahap sterilisasi adalah buah dicuci dengan sabun dan dibilas di air mengalir selama 5 menit. Setelah itu seluruh

permukaan biji disemprot dengan alkohol 70%, dibilas dengan menggunakan air steril dan selanjutnya dimasukkkan dalam LAF.

Didalam LAF kembali kapsul anggrek direndam dalam alkohol 70% selama 1-5 menit dan kapsul dipanaskan di atas api bunsen sebanyak 2-3 kali hingga diyakini kapsul anggrek telah steril. Kapsul yang telah steril selanjutnya dibuka menggunakan *scalpel* dan biji-biji yang terdapat didalamnya segera dipindahkan ke dalam botol-botol kultur dengan menggunakan pinset.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah 1 minggu dari hari penanaman. Variabel yang diamati adalah kecepatan pertumbuhan yaitu pada hari ke berapa eksplan mulai tumbuh dihitung mulai dari hari pertama penanaman hingga benih tumbuh menjadi eksplan pada media kultur. Pengamatan dilanjutkan dengan melakukan penghitungan pada jumlah eksplan serta dihitung jumlah daun yang tumbuh dan jumlah akar pada masing – masing media. Pengamatan dilakukan setiap 1 minggu sekali sampai minggu ke 16.

Perlakuan dan Rancang Percobaan

Penelitian menggunakan dua macam media, yaitu media padat instan Va-cin dan Went (VW) dan media organik. Tiap-tiap perlakuan diulang sebanyak 20 kali dalam rancangan acak lengkap (RAL) sehingga didapatkan 40 unit percobaan.

Model Pengolahan Data

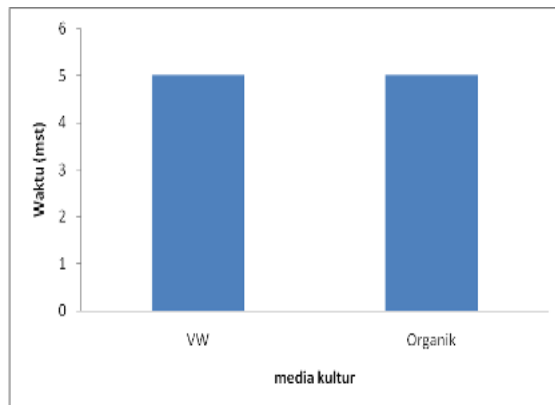
Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan independent sample T Test atau uji T untuk melihat perbedaan rata-rata antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Tumbuh Eksplan

Berdasarkan pengamatan penelitian selama 16 minggu setelah masa tanam (MST) maka telah didapatkan hasil perkembangan anggrek hitam (*Coeligyna pandurata*) pada media organik dan media VW yaitu waktu tumbuh eksplan minggu ke- 5 MST pada kedua media (Gambar 5.1).

Waktu yang diperlukan untuk menumbuhkan biji anggrek hitam pada kedua media yaitu media VW dan media Organik tidak bervariasi, biji anggrek hitam yang ditanam menunjukkan respon waktu tumbuh eksplan yang bersamaan. Hal ini dikarenakan media VW dan media organik dapat memenuhi unsur – unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan biji anggrek hitam (komposisi media terlampir).



Gambar 5.1 Waktu Tumbuh Eksplan Anggrek Hitam (*Coeligyne pandurata*).

Menurut Marlina (2009) media kultur jaringan merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman didukung oleh jenis dan kombinasi unsur hara yang berbeda-beda, bila unsur hara yang diperlukan oleh tanaman tidak terpenuhi maka pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut akan terhambat. Maka dari itu, diperlukan pemilihan media kultur yang dapat memenuhi kebutuhan dari unsur hara yang diperlukan. Dalam penelitian ini media VW dan media organik dapat memenuhi kebutuhan dari unsur hara yang diperlukan biji anggrek hitam untuk pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Semiarti, dkk (2010) media VW dapat untuk menumbuhkan benih anggrek hitam, dengan perbandingan media Knudson, media VW, media Murashigo and Skoog dan media New Phalaenopsis.

Hasil penelitian Untari dan Puspa-ningtyas (2006) juga menunjukkan hasil media kultur dengan penambahan bahan organik dan zat pengatur tumbuh dapat untuk menumbuhkan benih anggrek hitam. Menurut Lestari (2010) keberhasilan media kultur jaringan bergantung pada komposisi dan

kombinasi jenis media, bentuk fisik dari media, bagian eksplan yang digunakan serta zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Pengaruh Media Kultur

Hasil statistik pada pengaruh media kultur VW dan organik berpengaruh signifikan pada variabel jumlah eksplan dan jumlah daun (Tabel 5.1).

Signifikansi dari dua variabel yaitu jumlah eksplan dan jumlah daun menunjukkan adanya perbedaan respon yang terjadi pada kedua media. Perbedaan respon berdasarkan nilai rata-rata dari jumlah daun dan jumlah daun yang berbeda secara signifikan.

Tabel 5.1 Signifikansi Pengaruh Media Kultur Terhadap Variabel yang Diamati

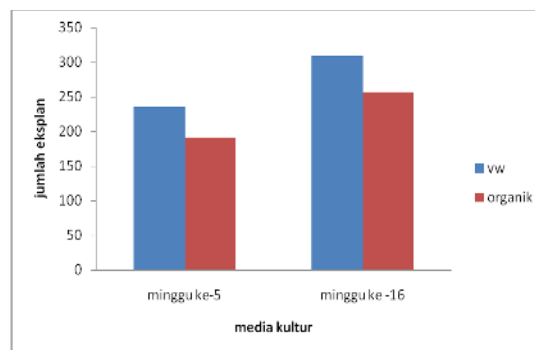
Variabel	Signifikansi
Jumlah eksplan	*
Jumlah daun	*

Keterangan :

* = signifikan

Jumlah Eksplan

Hasil pengamatan yang dilakukan pada minggu ke – 5 MST yaitu ketika eks-plan mulai tumbuh atau berkecambah, dan minggu ke -16 ditunjukkan pada Gambar 5.2., dimana media VW mempunyai nilai jumlah eksplan yang lebih tinggi dibandingkan pada media organik Pada minggu ke-5 MST media VW sebesar 235 eksplan dan media organik 191 eksplan. Pada minggu ke -16 yaitu media VW sebesar 308,85 dan media organik 256,65 eksplan.



Gambar 5.2 Jumlah Eksplan Anggrek Hitam (*Coeligyne pandurata*)

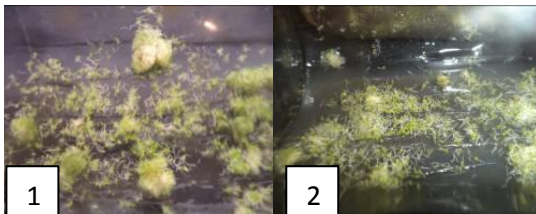
Media VW memiliki nilai jumlah eksplan yang lebih tinggi baik pada minggu ke-5 MST maupun pada minggu ke -16 MST. Hal tersebut menunjukkan bahwa media VW memiliki jumlah eksplan yang lebih banyak daripada media organik. Menurut Untari dan Puspita-ningtyas (2006), media tumbuh merupakan salah satu faktor utama penentu keberhasilan dalam kultur biji anggrek secara in vitro.

Media VW terdiri dari unsur hara makro dan mikro dalam bentuk garam-garam anorganik dengan jumlah yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman khususnya anggrek. Berbagai komposisi media tumbuh telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan (Yusnita, 2003). Gambar 5.3 menunjukkan eksplan yang tumbuh pada media VW dan media Organik pada minggu ke – 5 dan ke-16 MST.

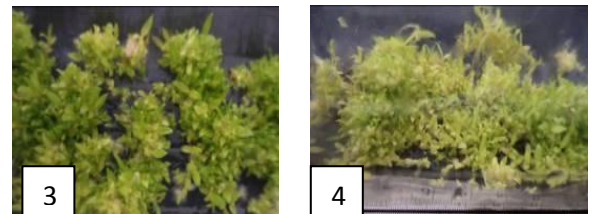
Jumlah Daun

Hasil pengamatan jumlah daun yang dilakukan minggu ke -16 ditunjukkan pada Gambar 5.4.

a. Media VW



b. Media VW

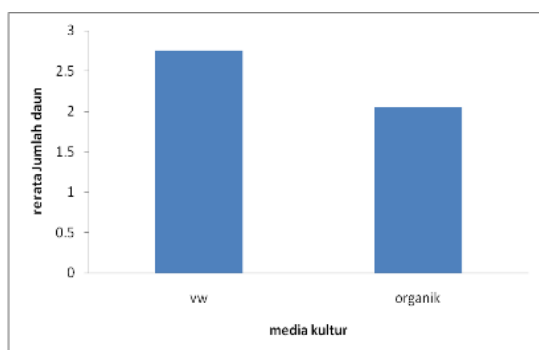


Gambar 5.3 Eksplan Anggrek Hitam

Keterangan :

Gambar 1,3 = Eksplan minggu ke – 5; Gambar 2,4 = Eksplan minggu ke -16

Berdasarkan Gambar 5.4 rata-rata jumlah daun anggrek hitam yang tumbuh di kedua media ke -16 yaitu media VW sebesar 2,75 dan media organik 2,05. Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah daun pada kedua media tidak berbeda jauh. Hal ini membuktikan bahwa komposisi media VW tanpa penambahan bahan lain dapat digantikan dengan media kultur dari bahan organik ditambah pupuk untuk perkecambahan biji anggrek.



Gambar 5.4 Jumlah Daun Eksplan AnggrekHitam(*Coeligyna pandurata*).

Jumlah Akar

Pada penelitian ini belum dapat dihitung jumlah akar karena akar yang terbentuk belum sempurna. Menurut Untari dan Puspitaningtyas (2006), biji anggrek setelah berkecambah akan tumbuh akar namun akar yang tumbuh dengan sempurna dapat di amati pada umur plantlet diatas 5 bulan terutama yang sudah dibuktultur dan plantet yang siap untuk diaklimatisasi.

Media organik yang digunakan pada penelitian ini memiliki nutrisi yang cukup bagi perkecambahan anggrek hitam karena mengandung air kelapa muda, bubur pisang, air taugé dan pupuk Growmore. Penambahan pupuk Growmore bertujuan untuk mensuplai unsur hara makro Nitrogen, Phospor dan Kalium untuk pertumbuhan akar daun pada eksplan.

Widiastoety dan Syafril (1993) menyatakan bahwa penambahan air kelapa umur muda sebanyak 150 ml/L media dapat mendorong pertumbuhan tinggi, panjang dan lebar daun serta panjang dan jumlah akar *plantlet* anggrek *Dendrobium*. Air kelapa baik digunakan pada media kultur jaringan karena mengandung zat atau bahan-bahan seperti vitamin, mineral, asam-asam amino, dan asam nukleat fosfor serta zat tumbuh auksin dan asam giberelat yang berfungsi sebagai penstimulir proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi.

Selain itu, air kelapa juga mengandung karbohidrat yang merupakan bahan dasar untuk menghasilkan energi dalam proses respirasi dan bahan pembentukan sel-sel baru (Bey dan Sutrisna, 2006).

Pada penelitian ini penambahan bubur pisang pada media organik bertujuan untuk memperoleh vitamin yang membantu perkecambahan. Pada penelitian anggrek *Dendrobium canayo* yang dilakukan oleh Muawanah (2005) juga menambahkan ekstrak pisang sebagai bahan tambahan media untuk kultur in vitro. Hal tersebut karena kandungan vitamin yang dimiliki oleh ekstrak pisang dapat digunakan untuk menggantikan vitamin sintesis yang biasa digunakan dalam media MS atau media VW.

Menurut Arditti and Ernst (1993), terdapat beberapa vitamin yang terkandung dalam buah pisang yaitu vitamin A, tiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), piridoksin (vitamin B6) dan asam askorbat (vitamin C). selain itu pisang juga memiliki hormon auksin dan giberelin.

SIMPULAN

Media VW dan media organik dapat digunakan sebagai media perbanyakan anggrek hitam dengan waktu tumbuh yang sama yaitu pada minggu ke – 5 setelah masa tanam. Media VW lebih memiliki unsur hara yang lengkap dibandingkan dengan media organik yang ditunjukkan melalui jumlah eksplan yang tumbuh pada minggu ke – 5 pada media VW rata-rata sebanyak 235,55 eksplan dan media organik sebanyak 191 eksplan. Pada minggu ke-16 media VW rata-rata sebanyak 308,85 eksplan dan media organik sebanyak 256,65 eksplan. Pengamatan pada jumlah daun media VW rata-rata 2,75 daun dan media organik 2,05 daun.

DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. dan Ernst, R. 1993. *Micropropagation of Orchid*. John Wiley and Sons. New York.
- Bey Y, Syafii W dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (Ga₃) Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phala-enopsis Amabilis*) Secara In Vitro. Jurnal Biogenesis Vol. 2(2):41- 46. ISSN: 1829 – 5460
- Djuita, N. R. Sri S., Hendrius C., Sarifah, Siti N., Rully F. 2004. Keaneka-ragaman Anggrek Di Situ Gunung Sukabumi. Biodiversitas 5 (2) : 77-80.
- Fadelah, A.A. 2006. Breeding for Tropical Miniature Pot Dendrobium Orchids. Acta Horticulturae 714:51-58.
- Lestari, D.N.K. 2010. Perbanyakan Bibit Daylily (*Hemerocallis fulva* L.) Dengan Metode Kultur Jaringan. Skripsi. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Udayana. Denpasar.

- Marlina, N. 2009. Teknik Perbanyakan Lili Dengan Kultur Jaringan. Buletin Teknik Pertanian Cihe-rang. 14 (1) : 6-8.
- Muawanah, G. 2005. Penggunaan Pupuk Hyponex, Ekstrak Tomat dan Ekstrak Pisang dalam Perbanyakan dan Perbesaran Planlet Anggrek Dendrobium (*Dendrobium canayo*) secara In Vitro. Skripsi. Program Studi Horti-kultura, Fakultas Pertanian, Insti-tut Pertanian Bogor. Bogor. Hal. 49.
- Semiarti, E., A. Indrianto, E. A. Suyono, R. L. Nurwulan, R. Restiani, Y. Machida and C. Machida. 2010. Genetic Trans-formation of the Indonesian Black Orchid (*Coe-logyne pandurata* Lindley) through Agrobacterium tumef-aciensfor Micropropagation. Pro-ceedings of NIOC 2010.Nagoya Dome Japan.16-20.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1980). Principles and Procedures of Statistics: a Biometrical. App-roach.Second Edi-tion. New York: McGraw-Hill Koga-kusha
- Untari, R. dan M.P Dwi. 2006. Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Co-elogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur in Vitro.Biodiversitas. 7(3): 344-348
- Parnata, A. S. 2005. *Panduan Budidaya dan Perawatan Anggrek*. Agro-media Pustaka. Jakarta.
- Widiastoety, D. dan Syafril. 1993. Pengaruh Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Bodies Anggrek *Den-drobium* dalam Medium Padat. Bul.Penel. Tan. Hias.
- Yusnita, 2003, *Kultur Jaringan*. Jakarta: Agro-media Pustaka
- Zulkarnain, H. 2011. *Kultur Jaringan Tana-man*. Jakarta: Bumi Aksara.