

Seleksi *In Vitro* Planlet Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] yang Diinduksi Larutan Atonik Dalam Keadaan Cekaman Kekeringan

Endang Nurcahyani¹, Sumardi¹, Hardoko Insan Qudus², Sri Wahyuningsih¹, Asma Palupi¹, Sholekhah¹

¹Program Studi Magister Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia

²Program Studi Magister Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia

Email: Asmapalupi04@gmail.com

ABSTRACT

[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] is an ornamental plant that is much loved by the community because it has a beautiful flower shape and color, in addition it has high economic value. The obstacle in the cultivation of the *P. amabilis* is low humidity and lack of air. The addition of atonic plant growth regulators can increase plant growth. The purpose of this study is to get the best combination that grows in drought stress conditions. The specific characteristics of the plantlet *P. amabilis* observed included the total living orchid plantlet, the visualization of the plantlet. This research was conducted factorial with a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 2 factors, namely atonic completion with 3 levels: 0 mL/L, 2 mL/L, 3 mL/L and PEG 6000 with 3 levels: 0%, 5 %, 10%, with 5 replications. The results of this study indicate that the best combination of concentrations is PEG 6000 10% and atonic 0 mL/L

Keyword: atonic, in vitro, drought, *Phalaenopsis amabilis*, PEG 6000

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki berbagai jenis spesies anggrek *Phalaenopsis*, di antaranya *Phalaenopsis bellina*, *Phalaenopsis modesta* dan *Phalaenopsis amabilis*. Spesies – spesies asli tersebut perlu untuk dilindungi sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengembangan varietas baru anggrek (Noer, 2012).

Anggrek merupakan tanaman hias yang bernilai estetika tinggi karena bunganya memiliki warna yang menarik, selain itu anggrek dapat dijadikan sebagai tanaman pot maupun tanaman bunga potong (Muhit, 2010). Anggrek juga dapat digunakan untuk campuran pembuatan aneka produk kecantikan dan kesehatan (Virnanto, 2010).

Pada tahun 2014 produksi anggrek sebesar 19.739.627 dan tahun 2015 sebesar 21.514.789 (Anonymous, 2015). Peningkatan produksi anggrek juga perlu diperhatikan mengenai kualitas anggrek itu sendiri seperti penyediaan bibit anggrek yang

berkualitas dan dalam jumlah besar yang sering kali tidak dapat terpenuhi dengan metode perbanyakan konvensional. Oleh karena itu, diperlukan metode perbanyakan yang tepat, efisien dan cepat seperti kultur jaringan yang dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah banyak.

Cekaman kekeringan merupakan satu kendala dalam budidaya tanaman anggrek. Pada berbagai tanaman cekaman kekeringan berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan dan produksi. Cekaman kekeringan merupakan faktor utama penyebab kematian dalam budidaya anggrek. Kekeringan pada tanaman anggrek dapat disebabkan karena kelembaban yang rendah dan ketersediaan air yang kurang (Hendaryono, 2000).

Penggunaan PEG sebagai senyawa selektif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan pada jeruk keprok batu 55 (Ashari dkk., 2018).

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas anggrek bulan dapat dilakukan dengan pemberian Zat Pengatur Tumbuh

(ZPT). Atonik merupakan zat perangsang tumbuhnya akar, mengaktifkan penyerapan unsur hara, meningkatkan keluarnya kuncup dan buah, serta dapat memperbaiki kualitas tanaman (Sumiati, 2001).

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi yang terbaik antara PEG 6000 dan larutan atonik.

METODE

Penelitian ini dilakukan dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 2 faktorial yaitu 3 x 3 dan 5 kali ulangan sehingga jumlah satuan percobaan adalah 45. Tempat penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung selama 3 minggu. Bahan penelitian yang digunakan ialah planlet anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] yang diperoleh dari Umbulharjo, Yogyakarta, alkohol 96% untuk sterilisasi alat, aquades, *Polyethylene Glycol* 6000 (PEG) (0%, 5%, 10%) atonik (0 mL/L, 2 mL/L, 3 mL/L), medium *Vacin dan Went*, Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), agar, arang aktif, dan bayclin. Peralatan yang digunakan adalah botol kultur, baker glass, alumunium foil, *autoklaf*, *laminar air flow cabinet* (LAF) merek Esco, *hot plate*, pinset, *scalpel*, mata pisau, kertas filter, *erlenmeyer* berukuran 50-100 mL, kertas label, mikropipet, pipet tip, timbangan analitik, tisu, dan kamera Canon.

STERILISASI ALAT

Alat-alat gelas, pinset, pisau, dan cawan petri di autoklaf. Alat dari bahan gelas ditutup dengan plastik, sedangkan alat-alat dari bahan logam dan cawan petri dibungkus menggunakan kertas HVS. Semua alat tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada temperatur 121 °C, selama 30 menit.

PERSIAPAN MEDIUM TANAM

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacin* dan *Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Aquades ditambahkan sampai tanda 1 liter, memasukkan 2 gr arang aktif yang telah disaring, dan ph diatur sampai 5,5 dilakukan penambahan KOH 1N atau HCl 1N. larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar 7 g/L, sukrosa 30 g/L. larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih, selanjutnya medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk, kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit.

PERSIAPAN MEDIUM SELEKSI

Medium (VW) padat ditambahkan (PEG) 6000 dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, sebelum digunakan (PEG) yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF Cabinet. Selanjutnya (PEG) ditambahkan ke dalam medium VW. Sebelum digunakan, medium diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar (25°C) untuk memastikan bahwa (PEG) telah tersaring dengan baik apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

PERSIAPAN DAN STERILISASI

Sebelum menanam alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu di sterilisasi

dengan cara membakar alat menggunakan alkohol 96% di atas api bunsen. Planlet direndam dalam aquades steril selama 2 menit lalu direndam lagi dalam aquades yang telah ditambahkan dengan bayclin selama 2 menit. Planlet dibilas dengan menggunakan aquades steril selama 2 menit. Setelah itu dipindahkan kedalam cawan petri yang berisi tisu yang telah disterilisasi.

INDUKSI PLANLET DENGAN LARUTAN ATONIK

Larutan stok atonik dilarutkan terlebih dahulu dengan aquades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 μm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 μm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam LAF Cabinet. Kemudian larutan atonik diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 mL/L, 2 mL/L, 3 mL/L dan selanjutnya dilakukan perendaman akar planlet anggrek bulan selama 2 menit. Setiap botol kultur ditanam 2 anggrek bulan, sehingga total planlet yang ditanam sebanyak 90 dalam 45 botol kultur pada medium VW dengan penambahan senyawa (PEG). Diinkubasi pada ruangan dengan 1000 lux, 24 jam/hari dari suhu 20°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil seleksi planlet anggrek bulan berdasarkan persentase jumlah planlet hidup dengan kombinasi perlakuan konsentrasi PEG dan larutan atonik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada minggu I dan II konsentrasi PEG 0%, 5%, 10%, dan konsentrasi atonik 0 mL/L, 2 mL/L, dan 3 mL/L jumlah planlet hidup mencapai 100%. *Polyethylene Glycol* (PEG) dapat digunakan sebagai agen penyeleksi

dalam seleksi *in vitro* untuk memperoleh kandidat varian yang tahan terhadap kekeringan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya, penggunaan PEG 6000 dengan konsentrasi 15% pada kacang dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk simulasi toleransi kacang terhadap stres kekeringan untuk mendapatkan varietas yang tahan kekeringan (Rahayu dkk., 2005). PEG 6000 pada konsentrasi 4% dapat digunakan sebagai senyawa selektif tahan terhadap kekeringan pada tanaman jeruk keprok batu 55 (Ashari dkk., 2018). PEG 6000 dapat digunakan untuk simulasi cekaman kekeringan pada tanaman jeruk siam Pontianak (Rosyalina dkk., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Daksa dkk. (2014) bahwa (PEG) 6000 dapat digunakan untuk simulasi cekaman kekeringan pada tanaman padi gogo lokal Tanangge.

Hasil seleksi planlet anggrek bulan berdasarkan persentase visualisasi planlet dengan kombinasi perlakuan konsentrasi PEG dan larutan atonik disajikan pada Tabel 2.

Jumlah planlet pada konsentrasi PEG 0%, 5%, dan 10% yang dikombinasikan dengan atonik pada konsentrasi 0 mL/L, 2 mL/L, dan 3 mL/L pada minggu I sampai minggu II menunjukkan 100% hidup. Pada minggu II planlet yang ditanam pada medium PEG 5-10% menunjukkan adanya perubahan secara visual berwarna hijau dengan bagian ujung daun cokelat atau *browning*, persentase paling tinggi sebesar 80% pada minggu III dengan kombinasi PEG 10% dan atonik 0 mL/L. Planlet yang daunnya berwarna cokelat sebesar 20% pada konsentrasi PEG 10% dan atonik 0%. Penggunaan PEG 6000 sebesar 20% telah meningkatkan jumlah daun yang layu pada tanaman kacang (Rahayu dkk., 2005).

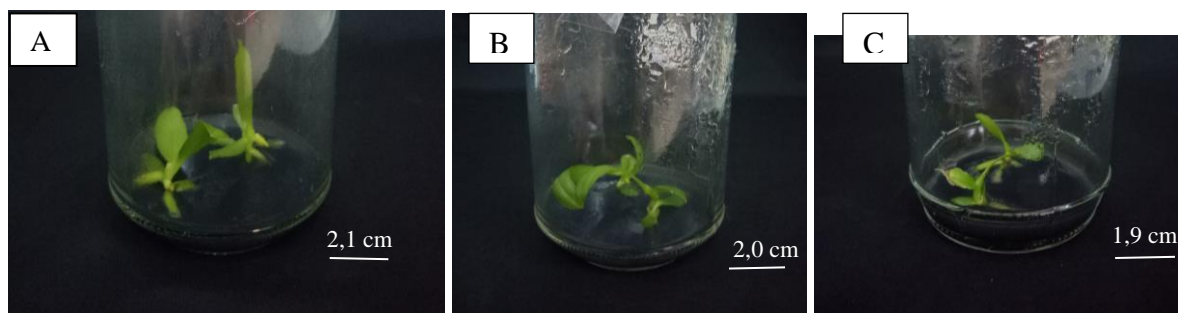
Tabel 1. Jumlah Planlet Hidup pada Kombinasi Perlakuan Konsentrasi PEG dan Atonik

No	Kombinasi perlakuan		Persentase jumlah planlet hidup pada minggu (%)		
	Konsentrasi PEG %	Konsentrasi atonik (mL/L)	I	II	III
1	0	0	100	100	100
		2	100	100	100
		3	100	100	100
2	5	0	100	100	100
		2	100	100	100
		3	100	100	100
3	10	0	100	100	80
		2	100	100	100
		3	100	100	100

Tabel 2. Persentase dan Visualisasi Planlet Hasil Seleksi pada Kombinasi Perlakuan Konsentrasi PEG dan Atonik

Konsentrasi PEG %	Kombinasi Perlakuan		Persentase jumlah planlet pada minggu (%)		
	Konsentrasi Atonik (mL/L)	I	II	III	
0	0	H : 100	H : 100	H : 80 HC : 20	
	2	H : 100	H : 100	H : 60 HC : 40	
	3	H : 100	H : 70 HC : 30	H : 60 HC : 40	
5	0	H : 100	H : 80 HC : 20	H : 30 HC : 70	
	2	H : 100	H : 50 HC : 50	H : 40 HC : 60	
	3	H : 100	H : 100	H : 30 HC : 70	
10	0	H : 100	H : 50 HC : 50	H : 40 HC : 40 C : 20	
	2	H : 100	H : 70 HC : 30	H : 20 HC : 80	
	3	H : 100	H : 70 HC : 30	H : 50 HC : 50	

Keterangan: H = Hijau ; HC = Hijau Cokelat ; C = Cokelat



Gambar 1. Visualisasi Planlet Hasil Seleksi Kombinasi Perlakuan Konsentrasi PEG dan Atonik

Keterangan : A = PEG 0% dan Atonik 0 mL/L
B = PEG 5% dan Atonik 2 mL/L
C = PEG10% dan Atonik 0 mL/L

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa planlet yang semula berwarna hijau kemudian menjadi hijau cokelat pada bagian tertentu, dan *browning* setelah diberi perlakuan dengan PEG. Planlet yang tahan PEG, *browning* hanya terjadi pada bagian ujung daun, sedangkan planlet yang tidak tahan PEG akan mengalami *browning* yang cepat meluas ke seluruh bagian planlet.

Dampak yang ditimbulkan oleh kekeringan adalah berkurangnya perakaran, perubahan sifat daun (bentuk, lapisan epikutikula, warna), dan umur tanaman lebih panjang (Blum, 2002).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan penambahan PEG pada media *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan sebagaimana respons tanaman terhadap cekaman kekeringan.

KESIMPULAN

Kombinasi perlakuan konsentrasi PEG dan larutan atonik yang terbaik untuk seleksi planlet anggrek bulan secara *in vitro* adalah PEG 10% dan atonik 0 mL/L.

REFERENSI

- Anonymous. 2015. Produksi Bunga Potong di Indonesia. <http://www.bps.go.id> [09 Agustus 2019].
- Ashari, A. Nurcahyani, E., Qudus H. I., dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus Reticulata* Blanco Var. *Crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit.* 11. 69-78
- Blum, A. 2002. Drought tolerance. Field screening for drought in crop plants with emphasis on rice. Proceeding of an International Workshop on Field Drought Tolerance in Rice. ICRISAT. india.
- Daksa, W. R., Ete, A., dan Adrianton. 2014. Identifikasi Toleransi Kekeringan Padi Gogo Lokal Tanangge Pada Berbagai Larutan PEG. *Jurnal e-J. Agrotekbis* 2 (2) : 114-120
- Hendaryono, D.P.S. 2000. Budidaya Aggrek Dalam Botol. Kanisius Yogyakarta
- Muhit, A. 2010. Teknik penggunaan beberapa jenis media tanam alternatif dan zat pengatur tumbuh pada Anggrek Bulan. *Teknik Pertanian*. 15: 60-62

- Noer, I.R. 2012. Pengaruh Pupuk Organik Guano dan Chitosan terhadap pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Phalaenopsis* spp [skripsi] Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Rahayu, E. S., Guhardja, E., Ilyas, S., dan Sudarsono. 2005. Polietilena Glikol (Peg) Dalam Media In Vitro Menyebabkan Kondisi Cekaman Yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L.). *Jurnal Berk. Penel. Hayati*. 11; 39-48
- Rosyalina, N., Nurcahyani, E., Qudus, H.I., dan Zulkifli. 2018. Pengaruh Larutan Atonik Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa* Hassk.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit*. 3; 61-68
- Sumiati, E. 2001. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh terhadap Hasil, Kualitas, dan Umur Simpan Buah Tomat Kultivar Gondol. *Jurnal Hortikultura*. 11: 30-39
- Virnanto. 2010. Prospek dan Mamfaat Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis*). [Http://Matematikacerdas.Wordpress.Com](http://Matematikacerdas.Wordpress.Com). Diunduh Tanggal 9 Januari 2019