

## PROPAGASI *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. DENGAN BENZILADENIN SECARA IN VITRO

Umi Kulsum Nur Qomariah<sup>\*1)</sup>, Endang Semiarti<sup>2)</sup>

(Centered & bold)

<sup>1)</sup>Agroekoteknologi, Universitas KH. A. Wahab Hasbullah

<sup>2)</sup>Biologi, Universitas Gadjah Mada

E-mail\*: umiqomariah@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman Anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. merupakan salah satu jenis anggrek alam Indonesia. Populasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. menurun bahkan terancam punah jika perdagangan terus berlanjut tanpa ada regulasi yang baik. Perbanyakkan *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. sangat diperlukan untuk konservasi dan menjaga plasma nutfah. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan BA secara *in vitro*. Metode penelitian diawali dengan polinasi secara *selfing* pada bunga *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. umur 4 bulan hasil polinasi ditumbuhkan secara *in vitro* selama 6 bulan sampai menjadi tuas yang diaplikasikan dengan kriteria memiliki 2-3 daun dan 1-2 akar. Induksi dilakukan pada media ½ KC dan ½ MS yang masing-masing diberi perlakuan BA 1 PPM, 5 PPM dan 9 PPM. Kultur diinkubasi pada suhu 25±2°C dengan fotoperiodisasi 16 jam terang dan 8 jam gelap. Parameter yang diamati meliputi warna daun, jumlah tunas, jumlah daun, panjang daun, jumlah akar dan panjang akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Perlakuan BA 9 PPM pada media ½ MS menghasilkan jumlah tunas adventif terbanyak dibandingkan semua perlakuan dan berbeda nyata. Analisis Uji F pada α 0,05 menunjukkan pengaruh BA terhadap jumlah tunas adventif, berbanding lurus terhadap taraf konsentrasi BA. Kombinasi perlakuan BA pada media ½ MS menghasilkan multiplikasi jumlah tunas adventif plantlet *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. terbanyak dibanding kombinasi perlakuan lainnya. Dengan demikian maka propagasi dalam rangka konservasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dapat dilakukan melalui aplikasi BA pada media ½ MS secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan terbentuknya tunas adventif.

**Kata kunci:** Benziladenin, *Dendrobium stratiotes*, *in vitro*, konservasi, propagasi.

### PENDAHULUAN

*Dendrobium stratiotes* Rchb.f. merupakan salah satu jenis anggrek alam yang memiliki ciri bunga unik dan banyak diminati masyarakat [1], namun kelestariannya terancam punah apabila perdagangan terus berlanjut tanpa ada regulasi yang baik. *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. juga dijadikan sebagai salah satu induk dalam persilangan, sehingga perlu dilakukan konservasi untuk mempertahankan plasma nutfahnya. Perkembangbiakan *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. secara alami membutuhkan waktu yang cukup lama (2-3) tahun [2]. Oleh karena itu maka diperlukan upaya perbanyakkan yang efektif dan efisien.

Propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan BA secara *in vitro* menjadi satu solusi alternatif upaya perbanyakkan tanaman. Dalam teknik kultur *in vitro*, zat pengatur tumbuh seperti sitokinin dapat diaplikasikan dalam media kultur. Sitokinin berperan penting dalam siklus sel, yaitu menginisiasi perpindahan fase G1 menuju S dan berlanjut ke proses mitosis sehingga dapat terjadi pembelahan sel. Proses pembelahan sel menjadi rangkaian penting dalam induksi tunas adventif.

Benziladenin (BA) merupakan salah satu jenis sitokinin sintetik yang dikenal secara luas, murah dan bersifat *thermostable* pada suhu yang tinggi. Penelitian terkait induksi tunas adventif dengan menggunakan BA telah banyak dilakukan pada berbagai tanaman. Induksi tunas adventif pada pisang abaca (*Musa textilis* Nee), menunjukkan perlakuan BA 5 PPM memberi hasil terbaik dengan rerata 8,6 tunas mikro per eksplan dan rerata tinggi tunas 2,49 cm [3]. Sedangkan untuk induksi tunas dengan media kinetin, jumlah tunas terbaik diperoleh pada BA 7 ppm dengan menghasilkan rerata 8,4 tunas

mikro per eksplan [3]. Perlakuan BA 1 ppm memberikan hasil yang optimum terhadap pembentukan tunas Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.[4].

Selama ini belum banyak penelitian mengenai propagasi tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan BA secara *in vitro*. Upaya konservasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. menjadi alasan penting untuk dilakukan dengan segera demi menjaga plasma nutfah. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan Benziladenin secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan penelitian terdiri dari tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f., bunga *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. yang 3 hari mekar sempurna kemudian dipolinsi secara *selfings* selama 4 bulan untuk diperoleh bijinya. Selama masa polinasi tanaman dipelihara di dalam green house. Media kultur yang digunakan yaitu Knudson C (Knudson, 1946) dan MS (Murashige & Skoog), dan ZPT Benziladenin.

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas, timbangan analitik (CHYO JK-200), *hot plate magnetic stirrer* (Thermolyne Cimarec 2 Stir plate), mikrotip, mikropipet, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF) (H.S.0975 Aneka Lab), ruang inkubator dengan suhu  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , timer, lampu, mikroskop ESCHENBACH, kamera digital (Sony DSC-W730, Japan) dan standar warna *RHS colour Chart*.

### Penaburan Biji dan Aplikasi BA

Biji anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. ditabur pada media padat *KC modified*, ditumbuhkan hingga menjadi plantlet fase 3 daun ( $\pm$  selama 6 bulan). Akar plantlet dipotong kemudian disubkultur ke media induksi  $\frac{1}{2}$  MS dan  $\frac{1}{2}$  KC yang telah diberikan BA dengan taraf konsentrasi 1, 5 dan 9 ppm. Plantlet ditumbuhkan dalam media induksi selama 6 bulan. Kultur diinkubasi pada suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan fotoperiodisasi 16 jam terang dan 8 jam gelap dan ditumbuhkan secara *in vitro*.

### Pengamatan morfologi

Pengamatan diawali dengan mengikuti proses perkecambahan biji mulai dari fase 0 sampai fase 5 berdasarkan umur, warna dan ukuran protokorm [5]. Kemudian dilanjutkan dengan analisis pengaruh aplikasi BA melalui pengamatan morfologi tanaman pada media induksi. Parameter yang diamati meliputi jumlah tunas adventif, tinggi plantlet, jumlah daun, panjang daun, panjang akar, jumlah akar dan warna plantlet.

### Analisis data

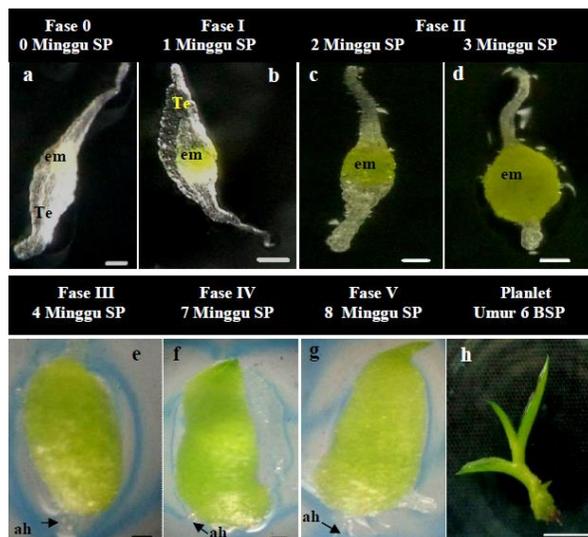
Sampel diambil menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data hasil pengamatan morfologi dianalisis dengan uji F menggunakan program SPSS 16 dan apabila terdapat beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut DMRT pada  $\alpha$  0,05 untuk menentukan konsentrasi BA yang paling baik menginduksi tunas adventif [6]. Data kualitatif berupa deskripsi gambar atau foto pengamatan. Analisis warna menggunakan standar *Flow Chart* colour RHS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perkecambahan Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f.

Perkembangbiakan generatif tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. menggunakan biji. Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. berukuran mikroskopis yang terdiri dari sel massa sel kompak, berinti banyak (*polynuclear*) dan tidak memiliki endosperm. Pertumbuhan biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. diamati secara *in vitro* setelah penaburan. Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. Fase 0 berwarna putih kekuningan dan memiliki testa (Gambar 1a). Proses perkembangan biji diawali dengan pembengkakan biji akibat proses imbibisi air, kemudian diikuti terlepasnya testa secara bertahap. Pada akhir minggu pertama

setelah penaburan (MSP), biji memasuki Fase 1 yang ditandai dengan pengembangan embrio. Perubahan warna dari kuning menjadi kuning kehijauan terjadi pada embrio yang berbentuk bulat secara merata (Gambar 1.b). Pada minggu kedua setelah penaburan, protokorm memasuki Fase II, berbentuk membulat berwarna kuning kehijauan dan testa terdesak di bagian ujung-ujung. Pada minggu, protokorm memasuki Fase II akhir, yaitu protokorm berbentuk bulat berdiameter  $\pm 0,3$  mm dan testa hampir terlepas (Gambar 1. c-d).



**Gambar 1.a-b.**Perkembangan embrio *D.stratiotes* selama perkecambahan biji. **a.Fase 0**, embrio masih memiliki testa dan belum mengalami perubahan. **b.Fase I**, embrio membengkak berwarna kuning kehijauan dan testa mulai terdesak (1 MSP); **c-d.Fase II**, embrio membesar berbentuk globular berwarna kuning kehijauan dan testa mulai terlepas (2-3 MSP); **e. Fase III**, embrio bulat memanjang berwarna kuning kehijauan dan muncul *absorbing hair* di bagian basal protokorm (4 MSP); **f.Fase IV**, permukaan embrio mulai meruncing dan berwarna hijau (7 MSP), **g.Fase V**, muncul tanda-tanda *Shoot Apical Meristem* (SAM) (8MSP). **e. embrio Te. Testa, ah. absorbing hair.** Bar a-g: 100 $\mu$ m. **h.**Planlet *D.stratiotes* umur 6 bulan setelah penaburan (BSP). Bar h: 5 mm.**Sumber** : dokumen pribadi, 2015.

Protokorm minggu keempat berkembang dengan perubahan bentuk menjadi bulat memanjang, ukuran P  $\pm 1,3$  mm dan lebar  $\pm 0,5$  mm, berwarna kuning kehijauan dan muncul *absorbing hair* di bagian basal protokorm (Gambar 1 e).Protokorm memasuki Fase IV pada minggu ketujuh, permukaan mulai mengalami polarisasi pertumbuhan, mengawali pembentukan *Shoot Apical Meristem* (SAM) dan protokorm berwarna kuning kehijauan (*Yellow-Green Group* N144B), berukuran panjang  $\pm 1,8$  mm dan lebar 0,6 mm, sedangkan *absorbing hair* semakin memanjang. Ujung protokorm yang mengalami inisiasi SAM berwarna hijau lebih tua (Gambar 1.f). Protokorm memasuki Fase V pada minggu kedelapan, ditandai dengan pembentukan *primordial leaf* yang merupakan tanda mulai terjadinya diferensiasi. Ukuran protokorm Fase V memiliki rerata panjang  $\pm 1,8$  mm dan lebar  $\pm 0,8$  mm dan protokorm berwarna kuning kehijauan (*Yellow-Green Group* N144B) (Gambar 1.g).

Presentase perkecambahan biji, disajikan dalam Tabel 1. Rerata perkecambahan biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. cukup rendah, yaitu 29,23% sehingga perkembangbiakan dengan menggunakan biji saja kurang efisien karena satu biji umumnya hanya dapat berkembang menjadi satu embrio. Oleh karena itu maka perlu dilakukan perbanyakkan *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. selain menggunakan biji. Perkembangan biji berdasarkan Fase protokorm disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Persentase Perkecambahan Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f.

Ulangan	$\sum$ Biji yang ditabur	$\sum$ Biji yang berkecambah	Persentase perkecambahan
I	216	40	18,52
II	116	41	35,35
III	139	47	33,81
rerata	157	42,67	29,23

Perkembangan biji pada bulan pertama, banyak yang masih berada pada fase 3 yaitu 40%, sedangkan yang memasuki fase 5 sebanyak 10%. Pada bulan kedua, sebanyak 50% biji telah yang memasuki fase 5 dan fase pertumbuhan lainnya sudah mulai berkurang. Kenyataan ini menunjukkan bahwa biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. mengalami perkembangan dan pertumbuhan. Protokorm terus mengalami pertumbuhan menjadi plantlet setelah ditumbuhkan secara *in vitro* selama 6 bulan (Gambar 1.h), dengan ciri morfologi berwarna hijau, memiliki 2-3 daun berukuran 1 - 1,2 cm dan terdapat 1-2 akar.

Tabel 2. Persentase Perkembangan Biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f.

Perkembangan Protokorm	Bulan I	Bulan II
Fase 2	20	10
Fase 3	40	15
Fase 4	30	25
Fase 5	10	50

Nilai kualitas warna plantlet dianalisis berdasarkan standar warna *RHS Colour Chart*, termasuk *Yellow-Green Group* 144 B. Plantlet umur 6 bulan yang berukuran relatif seragam selanjutnya diberikan perlakuan BA.

### Morfologi Tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. Hasil Aplikasi BA

Aplikasi BA terhadap tunas adventif tanaman, dilakukan pada plantlet *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dalam media  $\frac{1}{2}$  MS dan  $\frac{1}{2}$  KC. Perlakuan BA diberikan selama 6 bulan pada plantlet umur 6 BSP (Bulan Setelah Penaburan). Hasil perlakuan variasi konsentrasi BA dan variasi media setelah 6 bulan disajikan dalam Tabel 3.

Parameter morfologi yang diamati meliputi jumlah tunas adventif yang terbentuk, tinggi plantlet, jumlah daun, panjang daun, jumlah akar dan panjang akar. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada pengamatan jumlah tunas adventif, plantlet yang diberi perlakuan BA 9 ppm menghasilkan rerata jumlah tunas adventif terbanyak ( $6,0 \pm 1,0$ ) dan berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya.

Tunas adventif yang dihasilkan pada perlakuan BA 1 ppm lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol, namun tidak berbeda nyata. Jumlah tunas pada perlakuan BA 5 ppm tidak berbeda nyata terhadap tunas yang dihasilkan tanaman kontrol. Perlakuan BA 9 ppm menunjukkan hasil terbaik pada media  $\frac{1}{2}$  MS. Hasil uji F pada  $\alpha$  0,05 menunjukkan taraf konsentrasi BA berbanding lurus dengan jumlah tunas adventif. Semakin tinggi konsentrasi BA, diikuti dengan jumlah tunas adventif yang semakin banyak. Kombinasi perlakuan BA pada media  $\frac{1}{2}$  MS menunjukkan pengaruh positif BA terhadap jumlah

tunas adventif yang dihasilkan oleh plantlet *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. Taraf konsentrasi BA pada media ½ KC juga berbanding lurus dengan jumlah tunas adventif yang dihasilkan. Aplikasi BA 1 ppm pada media ½ MS dan ½ KC belum mampu menginduksi tunas adventif secara signifikan, sedangkan konsentrasi yang lebih dari 1 ppm dapat meningkatkan jumlah tunas adventif.

Tabel 3. Efek Variasi konsentrasi BA dan Jenis Media terhadap pertumbuhan Morfologi Plantlet *Dendrobium stratiotes* Rchb.f.

Parameter morfologi	Perlakuan BA (ppm)	Medium	
		½MS	½KC
Tinggi tanaman (cm)	Kontrol	3,4 ± 0,9 <sup>b</sup>	2,6 ± 0,9 <sup>b</sup>
	1	1,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,6 <sup>a</sup>
	5	2,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,5 <sup>a</sup>
	9	1,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,2 <sup>a</sup>
Jumlah Tunas Adventif	Kontrol	3,0 ± 1,0 <sup>ab</sup>	1,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>
	1	2,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,6 <sup>a</sup>
	5	4,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	1,0 ± 0,0 <sup>b</sup>
	9	6,0 ± 1,0 <sup>c</sup>	4,7 ± 0,7 <sup>c</sup>
Jumlah daun	Kontrol	8,8 ± 2,6 <sup>b</sup>	7,0 ± 2,8 <sup>b</sup>
	1	4,8 ± 2,1 <sup>ab</sup>	7,3 ± 1,3 <sup>ab</sup>
	5	5,5 ± 0,6 <sup>ab</sup>	6,3 ± 2,2 <sup>ab</sup>
	9	4,8 ± 2,4 <sup>a</sup>	6,3 ± 2,6 <sup>a</sup>
Panjang daun (cm)	Kontrol	1,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	1,0 ± 0,5 <sup>b</sup>
	1	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>a</sup>
	5	0,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
	9	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
Jumlah akar	Kontrol	3,8 ± 1,0 <sup>b</sup>	3,3 ± 1,0 <sup>b</sup>
	1	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,0 <sup>a</sup>
	5	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
	9	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
Panjang akar (cm)	Kontrol	2,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	1,2 ± 0,2 <sup>b</sup>
	1	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>
	5	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
	9	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
Nilai warna planlet pada RHS colour chart	Kontrol	Green 143B	Green 143A
	1	Green 143A	Yellow-Green 143B
	5	Green 143A	Yellow-Green 143B
	9	Green 143A	Yellow-Green 143B

Fenomena pembentukan tunas dengan aplikasi BA pada penelitian ini, sejalan dengan hasil penelitian Hardarini *et al* (2012) pada *Colocynthis citrullus* L [7]. Senyawa BA merupakan sitokinin sintetik, berperan meningkatkan kemampuan regenerasi dengan menstimulasi kemampuan pembelahan sel dalam jaringan. Siklus pembelahan sel dipengaruhi oleh BA dengan cara mengendalikan aktivitas enzim *cyclin-dependent kinase* (CDKs) pada akhir fase S, M dan G1 [8]. Respon terhadap signal hormonal menunjukkan sel-sel dalam eksplan menjadi sel yang kompeten [9]. Dan aktif melakukan pembelahan. Semakin tinggi konsentrasi BA menyebabkan semakin banyak sel yang kompeten dalam satu jaringan sehingga potensi regenerasi menjadi lebih tinggi [10]. Dengan demikian maka terbentuk tunas adventif dan meristem adventif.

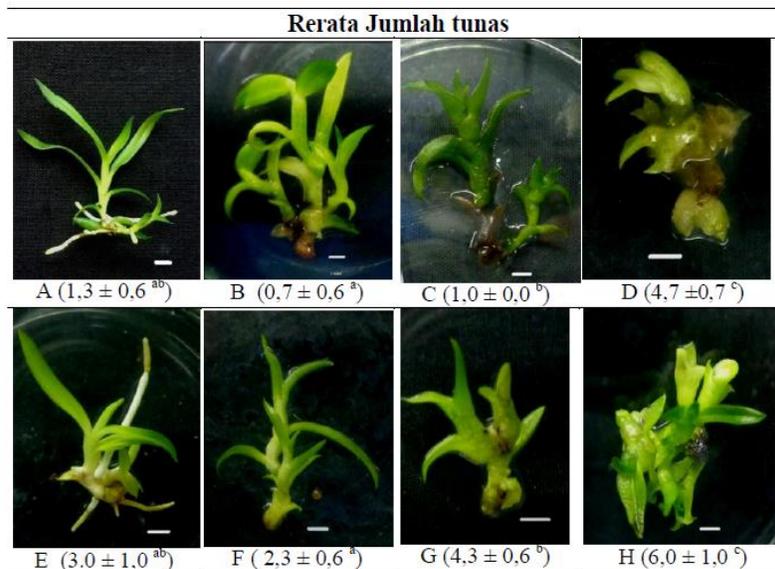
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa interaksi antara BA dengan media, mempengaruhi jumlah tunas adventif yang berkembang menjadi plantlet pada media ½ MS lebih banyak dibanding dengan tunas adventif yang dikultur pada media ½ KC. Fenomena ini diperkirakan akibat pengaruh kandungan nutrisi dari media tumbuh. Komposisi unsur hara media ½ MS lebih kaya dibandingkan media ½ KC. Kenyataan

ini sejalan dengan hasil penelitian Hardarini (2012) bahwa media MS yang mengandung  $\frac{1}{2}$  hara paling baik untuk menumbuhkan tunas [7].

Berdasarkan hasil pengamatan, aplikasi BA mengakibatkan ukuran plantlet cenderung lebih pendek. Hasil ini sesuai dengan penelitiann yang telah dilakukan Mercuriani *et al* (2014) [11]. Hambatan ukuran tinggi tanaman mungkin dapat disebabkan oleh terhambatnya proses elongasi sel. Elongasi sel pada tunas muda yang sedang berkembang, dipengaruhi oleh hormon auksin. Ketika kadar sitokinin dalam tumbuhan meningkat, maka kadar auksin akan menurun. Pemberian sitokinin eksogen, meningkatkan kadar sitokinin endogen sehingga menekan kadar auksin endogen [12].

Pertambahan tinggi tanaman disebabkan oleh pembentangan sel yang dipengaruhi oleh auksin. Auksin dihasilkan secara akropetal, sedangkan sitokinin dihasilkan secara basipetal. Sitokinin secara alami disintesis di akar kemudian di transpor ke organ lain (basipetal), sedangkan auksin disintesis di meristem apikal kemudian bergerak turun ke wilayah pemanjangan sel [12]. Sel umumnya mengandung auksin cukup atau hampir cukup untuk memanjang secara normal [13]. Sitokinin yang memasuki sistem tunas dari akar melawan kerja auksin dengan memberi signal kepada kuncup aksilaris agar mulai tumbuh [12]. Konsentrasi sitokinin yang tinggi dalam penelitian ini, dapat menekan rasio dan peranan auksin dalam tumbuhan, sehingga proses pembentangan sel terhambat dan tanaman menghambat tinggi tanaman.

Hasil pengamatan akar menunjukkan bahwa pada umur tanaman yang sama (12 BSP), akar baru dihasilkan oleh tanaman kontrol, sedangkan tanaman yang diberi perlakuan BA belum menghasilkan akar (pembentukan akar terhambat). Plantlet yang diberi perlakuan BA, secara umum tidak menghasilkan akar. Fenomena ini dibuktikan dengan pengamatan jumlah akar antar perlakuan kombinasi. Gambar 2 menunjukkan bahwa akar hanya tumbuh pada plantlet yang dikultur pada media kontrol  $\frac{1}{2}$  KC ataupun  $\frac{1}{2}$  MS. Hasil uji F pada  $\alpha 0,05$  menunjukkan bahwa BA berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan akar.



**Gambar 2.** Morfologi Tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan Perlakuan BA, **Keterangan:** A:  $\frac{1}{2}$  KC kontrol, B:  $\frac{1}{2}$  KC BA 1 ppm, C:  $\frac{1}{2}$  KC BA 5 ppm, D:  $\frac{1}{2}$  KC BA 9 ppm, E:  $\frac{1}{2}$  MS kontrol, F:  $\frac{1}{2}$  MS BA 1 ppm, G:  $\frac{1}{2}$  MS BA 5 ppm dan H:  $\frac{1}{2}$  MS BA 9 ppm. Bar: 2 mm. **Sumber :** dokumen pribadi, 2015.

Rasio auksin endogen dan perlakuan sitokinin eksogen, dimungkinkan sebagai penyebab terhambatnya pertumbuhan akar pada plantlet *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. yang diberi perlakuan BA. Kinerja sitokinin dipengaruhi oleh konsentrasi auksin. Sitokinin berperan dalam menghambat pertumbuhan akar melalui peningkatan konsentrasi etilen. Sitokinin menghambat pembentukan akar lateral melalui pengaruhnya

pada sel perisikel dan memblokir program pengembangan akar lateral. Penambahan benziladenin pada konsentrasi rendah menghasilkan respon yang rendah terhadap regenerasi tunas, menghasilkan tunas tunggal [14]. Penggunaan sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan dikombinasikan dengan Asam Indol Asetat (IAA) akan merangsang regenerasi tunas yang lebih tinggi, terutama dalam pembentukan multiplikasi tunas.

Benziladenin berperan dalam merangsang pembentukan multiplikasi tunas [15], serta paling efektif untuk mendorong pecah tunas dan pertumbuhan meristem aksilar [16]. Sitokinin mempunyai pengaruh fisiologis yang penting dalam merangsang pembelahan sel dan pemanjangan sel, aktivasi sintesis RNA, merangsang sintesis protein dan aktivitas enzim [17]. Kehadiran auksin pada konsentrasi rendah dibutuhkan untuk regenerasi primordia tunas, terutama berperan pada pemanjangan sel [18]. Auksin endogen dimungkinkan hanya terdapat dalam konsentrasi yang sangat rendah karena ditekan oleh tingginya kadar sitokinin. Dalam penelitian ini tidak dilakukan kombinasi perlakuan dengan auksin eksogen, sehingga diperkirakan sebagai penyebab terhambatnya pertumbuhan akar.

Hasil pengamatan kualitatif warna plantlet (Tabel 3) dengan menggunakan standar warna *RHS colour chart* menunjukkan terdapat sedikit perbedaan warna antara plantlet yang dikultur di media  $\frac{1}{2}$  MS dengan  $\frac{1}{2}$  KC. Nilai kualitatif warna plantlet yang ditumbuhkan di media  $\frac{1}{2}$  MS secara umum termasuk *Green group*, sedangkan plantlet yang di media  $\frac{1}{2}$  KC *Yellow-Green group*. Perbedaan warna hijau pada plantlet dimungkinkan disebabkan oleh akumulasi dan jenis pigmen klorofil yang dihasilkan. Pembentukan klorofil dalam tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor anatara lain faktor genetik, cahaya, oksigen, karbohidrat, nitrogen, magnesium, besi, air dan temperatur. Temperatur yang baik untuk pembentukan klorofil pada suhu 3-48°C. Unsur  $Mg^{2+}$  merupakan struktur inti pada molekul klorofil. Sumber magnesium plantlet pada penelitian ini berasal dari media kultur. Magnesium diperoleh dari dari senyawa  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ . Konsentrasi magnesium media  $\frac{1}{2}$  MS lebih tinggi dibanding  $\frac{1}{2}$  KC. Tumbuhan tingkat tinggi seperti *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. memiliki klorofil a dan klorofil b dalam kloroplas yang berfungsi menyerap cahaya. Klorofil a menyerap cahaya pada panjang gelombang 673 nm sedangkan klorofil b pada panjang gelombang 455-640 nm [12]. Proporsi magnesium yang cukup tinggi dalam media  $\frac{1}{2}$  MS dimungkinkan sebagai faktor utama penyebab tingginya akumulasi pigmen klorofil yang dihasilkan oleh plantlet di media  $\frac{1}{2}$  MS dibanding plantlet di media  $\frac{1}{2}$  KC. Oleh karena itu maka hasil pengamatan plantlet di media  $\frac{1}{2}$  MS berwarna lebih hijau dari plantlet di media  $\frac{1}{2}$  KC.

Aplikasi BA dalam penelitian ini telah terbukti dapat mendukung propagasi perbanyak *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dengan terinduksinya pembentukan tunas adventif dari plantlet. Setiap plantlet tumbuh dan berkembang dari satu protokorm, sedangkan setiap satu protokorm tumbuh dari satu biji *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. yang berukuran mikroskopis. Multiplikasi jumlah tunas adventif *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. menjadi satu solusi dari upaya konservasi plasma nutfah.

### KESIMPULAN

- Aplikasi Benziladenin berpengaruh positif meningkatkan jumlah tunas adventif tanaman *Dendrobium stratiotes* Rchb.f.
- Kombinasi perlakuan BA 9 ppm di media  $\frac{1}{2}$  MS menghasilkan rerata multiplikasi jumlah tunas adventif terbanyak ( $6,0 \pm 1,0$ ).
- Propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. terbukti dapat dilakukan dengan aplikasi Benziladenin secara *in vitro*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada segenap reviewer dan tim jurnal Universitas KH. A. Wahab Hasbullah yang telah berkenan menerima dan menelaah artikel, Kemenristekdikti sebagai sponsor utama yang telah memberikan dukungan finansial dalam penelitian ini, saudara Agus Setiawan yang telah memberikan plantlet juvenil *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. dan Nursery Titi Orchid yang telah memberikan biji *Dendrobium stratiotes* Rchb

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. BPS. 2009. *Ekspor dan Impor Tanaman Hias Tahun 2003–2008*. Statistik Perdagangan Luar Negeri. Badan Pusat Statistik, Jakarta.
- [2]. Laughlin, C.W & Dean. 1998. *New Plants for Hawaii Dendrobium Cultivar Release 3*. Hawaii. The College of Tropical Agriculture and Human Resources.
- [3]. Avivi, S. & Ikrarwati. 2004. Mikropropagasi Pisang Abaca (*Musa textillis* Nee) Melalui Teknik Kultur Jaringan. *IP*. 11 (2): 27-34.
- [4]. Marka, A.; Isda, M.N. & Fatonah, S. 2015. Perbanyakkan Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BL. Melalui Induksi Tunas Secara *In vitro* dengan Penambahan BAP dan NAA. *JOM FMIPA*. 2 (1): 108-114.
- [5]. Semiarti, E., Machida, Y. & Machida, C. 2007. Agrobacterium-mediated Transformation of the Wild Orchid Species *Phalaenopsis amabilis*. *Plant Biotech*. 24: 265-272.
- [6]. Sastrosupadi, A. 1999. *Rancangan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius, Yogyakarta, p. 38, 70-78.
- [7]. Hardarini, N.; Purwito, A. & Sukma, D. 2012. Perbanyakkan *In Vitro* Pada Tanaman Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh. *BIPB*:ISSN 0854-2333.
- [8]. Taiz, L & Zeiger . 2003. *Plant Physiology Third Edition*. California: Sinauer Assosiation.
- [9]. Sugiyama, M. 1999. Organogenesis *In Vitro*. *Cur Opinion in Plant Biol*. 2:61-64.
- [10]. Veltcheva, M.R. & Svetleva, D.L. 2005. *In vitro* Regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. via Organogenesis from Petiole Explants. *Journal of Central European Agriculture* 6(1): 53-58.
- [11]. Mercuriani, I.S.; Slamet, A.; Utami, B.S.; Sasongko, A.B.; Purwantoro, A.; Moeljopawiro, S. & Semiarti, E. 2014. *In vitro* Flowering of Indonesian *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume, diakses dari *researchgate*.
- [12]. Campbell N.A., Reece J.B., Urry L.A, Cain M.L, Wasserman SA, Minorsky P.V, Jackson R.B. 2010. *Biologi, Edisi Kedelapan*. Jakarta. Erlangga.
- [13]. Salisbury, F.B. & Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung. ITB Press.
- [14]. Hoque. 2010. *In vitro* Regeneration Potentiality of Potato under Different Hormonal Combination. *WJ Agri Sci*. 6 (6): 660-663.
- [15]. Rani, S. & J.S. Rana. 2010. *In Vitro* Propagation of *Tylophora Indica*- Influence of Explanting Season, Growth Regulator Synergy, Culture Passage and Planting, Substrate. *J Amm. Sci*. 6(2): 385-392.
- [16]. Nanda, R.M., P. Das, and G. R. Rout. 2004. *In vitro* Clonal Propagation of *Acacia mangium* Willd. and its Evaluation of Genetic Stability Through RAPD Marker. *Ann. For. Sci*. 61 : 381–386.
- [17]. Al Malki, A.A.H.S. & Elmeer, K.M.S.. 2010. Influence of Auxin and Cytokinin on *In Vitro* multiplication of *Ficus anastasia*. *Af. J. Biotech*. 9(5):635-639.
- [18]. Waseem, K., M.Q. Khan, J. Jaskani, M.S. Jilani and M.S. Khan, 2009. Effect of Different Auxins on the Regeneration Capability of Chrysanthemum Leaf Discs. *Int. J. Agric. Biol.*, 11: 468–472.