

**PERBANYAKAN ANGGREK *Dendrobium heterocarpum* Lindl.  
SECARA *IN VITRO* DENGAN MEDIA YANG BERBEDA**

**IN VITRO MICROPROPAGATION OF ORCHID  
*Dendrobium heterocarpum* Lindl. WITH DIFFERENT MEDIUM**

**Yuli Setiawati<sup>1\*</sup>, Ida Ayu Astarini<sup>2</sup>, Ni Putu Adriani Astiti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali*

<sup>2</sup>*Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali*

\**Email: yulisetia2011@gmail.com*

**INTISARI**

*Dendrobium heterocarpum* Lindl. merupakan salah satu jenis anggrek yang kini sering diburu. Hal ini dikarenakan anggrek ini memiliki penampilan yang mistik dan aroma yang khas. Penelitian bertujuan untuk melihat respon pertumbuhan dan perkembangan *Protocorm Like Bodies* (PLBs) *D. heterocarpum* selama 12 Minggu Setelah Tanam (MST) pada tiga media yang berbeda, yaitu *Murashige and Skoog* (MS), *Kursor C*, dan *Western 3* (W3). Benih *D. heterocarpum* ditanam pada media MS, *Kursor C* dan W3. Secara kualitatif pertumbuhan anggrek diamati berdasarkan skor pertumbuhan dan skor warna. Hasil penelitian menunjukkan waktu tumbuh benih pada media MS ialah 4 MST, lebih cepat satu minggu dibandingkan pada media *Kursor C* dan W3. Fase pertumbuhan pada media MS dan *Kursor C* hanya mencapai fase 1 sedangkan pada media W3 mencapai fase 2. Warna PLB hingga 12 MST pada media MS mencapai fase E yakni *strong yellowish green* (142A), sedangkan pada media *Kursor C* dan W3 mencapai fase D yakni *moderate yellowish green* (143D).

Kata kunci: *Dendrobium heterocarpum* Lindl, MS, *Kursor C*, W3, *in vitro*

**ABSTRACT**

*Dendrobium heterocarpum* Lindl. is one of the orchid species which is often sought. It is because this species has a mystique appearance and special fragrance. The research aimed to observe the growth and developing responses of protocorm like bodies (PLBs) of *D. heterocarpum* after 12 weeks in three different medium, i.e. *Murashige and Skoog* (MS), *Kursor C* and *Western 3* (W3). The *D. heterocarpum* seeds were planted in MS, *Kursor C* and W3 medium. Qualitatively the orchid growth were observe including growth score and colour score. The result showed that growing time of MS was 4 weeks, a week faster than the growing time on *Kursor C* and W3 medium. The growing phase on MS medium and *Kursor C* medium reached phase 1 whereas on W3 medium reached phase 2. PLB's colour after 12 weeks on MS medium reached phase E, *strong yellowish green* phase (142A). Meanwhile, on *Kursor C* and W3 was on phase D, *moderate yellowish green* (143D).

Keywords: *Dendrobium heterocarpum* Lindl, MS, *Kursor C*, W3, *in vitro*

## PENDAHULUAN

Suku Orchidaceae merupakan salah satu suku pada kingdom Plantae yang memiliki banyak anggota. Menurut Luan *et al.* (2006), sebanyak  $\pm 3500$  jenis anggrek alam dapat ditemukan. *Dendrobium* merupakan salah satu genus dalam suku Orchidaceae yang memiliki anggota cukup banyak, yakni sekitar 2000 jenis (Uesato, 1996). Di Indonesia anggrek spesies alam yang berasal dari genus *Dendrobium* banyak ditemukan di kawasan Papua dan Maluku (Gandawidjaya dan Sastrapradja, 1980).

*Dendrobium heterocarpum* Lindl. merupakan salah satu jenis anggrek asli alam yang banyak diburu kolektor anggrek. Hal ini dikarenakan anggrek ini memiliki penampilan yang mistik dan bau yang khas (Pimda dan Bunnag, 2010). Anggrek ini dapat ditemukan di kawasan India, Indonesia, Laos, Thailand, Malaysia, Myanmar dan Nepal. *D. heterocarpum* kini di habitat aslinya mulai sulit untuk ditemukan, hal ini dapat dikarenakan adanya eksploitasi.

Salah satu upaya untuk menjaga biodiversitas anggrek ialah perbanyakannya secara *in vitro* melalui kultur jaringan tumbuhan. Salah satu bagian yang dapat digunakan ialah biji, dimana apabila secara *in vivo* kemungkinan biji anggrek untuk berkecambah sangatlah kecil (Bey dkk., 2006). Secara umum perbanyakannya anggrek secara *in vitro* akan diawali dengan tumbuhnya *Protocorm Like Bodies* (PLBs). PLB nantinya apabila diinduksi pada media tumbuh yang tepat akan berdiferensiasi menjadi tanaman baru.

Media merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Menurut Yusnita (2003), dewasa ini telah banyak upaya yang dilakukan untuk mencari formulasi media yang paling optimal untuk menumbuhkan tanaman. Penelitian mengenai penggunaan berbagai media pun telah banyak dilakukan misalnya media Knudson C untuk anggrek *Epidendrum ibaguense* (Hossain, 2008); media VW ditambah air kelapa 150 ml/L untuk anggrek *Dendrobium fimbriatum*; media W3 untuk anggrek *Coelogyne pandurata* (Claudia dkk., 2013). Selain itu penambahan bahan organik

juga memberikan efek lebih baik dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan (Syammiah, 2006). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang pengaruh jenis media terhadap pertumbuhan dan perkembangan benih *Dendrobium heterocarpum* secara *in vitro*.

## MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Tempat Penelitian

Kapsul anggrek *D. heterocarpum* berusia 4 bulan diambil dari *nursery* Limbata Orchid Desa Pancasari, Kecamatan Sukasada Kabupaten Buleleng Bali. Penanaman eksplan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT. Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBITPH) Propinsi Bali. Penelitian dilakukan bulan November 2014 hingga Mei 2015.

### Pembuat larutan stok (*Murashige and Skoog* dan *Kursor C*)

Stok unsur hara makro dibuat masing-masing dengan 10 kali konsentrasi, sedangkan unsur hara mikro dibuat dengan 100 kali konsentrasi. Vitamin dibuat dengan 100 kali konsentrasi. Setiap senyawa baik makro, mikro dan vitamin ditimbang sesuai dengan komposisi, kemudian dilarutkan dengan aquades. Larutan stok diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam botol dan diberikan label. Larutan stok disimpan di dalam *refrigerator*.

### Pembuatan Media MS

Stok hara makro, mikro serta vitamin (Murashige dan Skoog, 1962) masing-masing dipipet ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan bubur pisang ambon 150 g/L, air kelapa 100 ml/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (BBIPTH, 2013).

### Pembuatan *Kursor C*

Stok hara makro, mikro serta vitamin masing-masing dipipet ke dalam *beaker glass*, lalu ditambahkan bubur pisang ambon 150 g/L, air kelapa 100 ml/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, arang aktif 2 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (BBIPTH, 2013).

**Pembuatan Media W3**

Media W3 instan ditimbang 18,49 g/L, bubur pisang ambon 60 g/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (Claudia dkk., 2013).

**Pengolahan Data**

Data berupa gambar diambil dengan kamera digital (Sony DSC-W830) setiap minggu selama 12 minggu dari arah luar botol. Data diolah secara kualitatif.

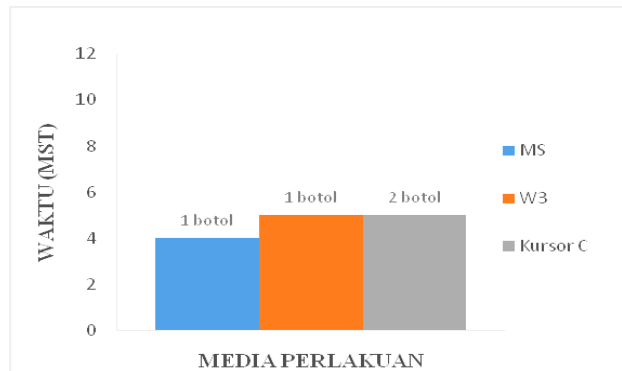
Fase pertumbuhan protokorm ialah **fase 0**: benih belum menunjukkan ada perkecambahan, **fase 1**: benih sudah membentuk protokorm, **fase 2**: protokorm yang terbentuk sudah mulai memiliki primordia daun, **fase 3**: protokorm dengan daun telah memiliki akar, **fase 4**: protokorm telah memiliki beberapa daun dan akar, **fase 5**: protokorm telah tumbuh/berkembang menjadi *plantlet* (Nurfadillah,

2011).

Fase warna ialah sebagai berikut: **A**: *Vivid yellowish green* (RHS 154A), **B**: *Brilliant yellowish green* (RHS 150A), **C**: *Light yellowish green* (RHS 144D), **D**: *Moderate yellowish green* (RHS 143D), dan **E**: *Strong yellowish green* (RHS 142A) (RHS Colour Chart, 1966).

**HASIL**

Berdasarkan hasil pengamatan perkembangan benih *D. heterocarpum* pada tiga macam media selama 12 MST didapatkan hasil bahwa waktu tumbuh benih pada media MS yaitu 4 MST, lebih cepat dibandingkan dengan media *Kursor C* dan media W3 yaitu 5 MST (Gambar 1).



Gambar 1. Waktu tumbuh benih *D. heterocarpum* pada media perlakuan

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini, hingga benih berusia 12 MST pada media MS dan *Kursor C* fase yang dicapai ialah fase 1, yakni biji telah membentuk protokorm. Media W3 menunjukkan fase yang dicapai hingga benih berusia 12 MST ialah fase 2, yakni

protokorm dengan primordia daun (Tabel 1.). Selain fase terdapat juga perbedaan tekstur PLB *D. heterocarpum* pada ketiga jenis media, dimana pada media MS dan *Kursor C* PLB cenderung berair dan pada media W3 PLB cenderung kering.

Tabel 1. Pertumbuhan dan perkembangan PLB *D. heterocarpum*

WAKTU (MST)	JENIS MEDIA PERLAKUAN		
	MS	<i>Kursor C</i>	W3
4	1B+K	1A+K	1B+K
5	1B+K	1A+K	1C+K

Tabel 1. (lanjutan)

WAKTU (MST)	JENIS MEDIA PERLAKUAN		
	MS	Kursor C	W3
6	1C+K	1A+K	1C+K
7	1C+R*	1B+K*	1C+KΘ
8	1C+R*	1B+R*	1C+R Θ
9	1D+R*	1C+R*	1D+R Θ
10	1D+R*	1C+R*	2D+R Θ
11	1E+R*	1C+R*	2D+R Θ
12	1E+R*	1D+R*	2D+R Θ

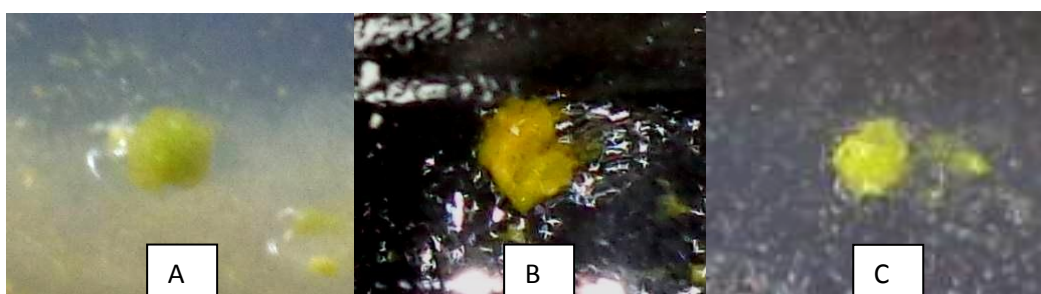
Keterangan : 0 – 5 : fase pertumbuhan (Nurfadillah, 2011)

A – E : skor warna PLB (RHS, 1966)

+/- : mengembang/tidak mengembang

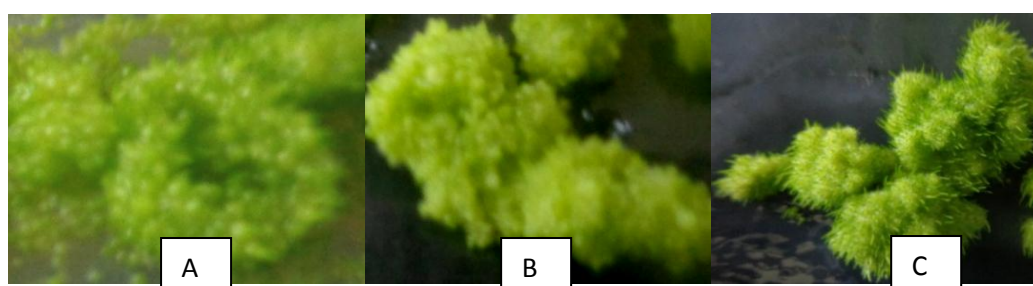
R/K : remah/kompak

\*/ Θ : berair/kering



Gambar 2. Tekstur dan warna PLB *D. heterocarpum* 4 MST

(A). Media MS, (B). Media *Kursor C*, (C). Media W3



Gambar 3. Tekstur dan warna PLB *D. heterocarpum* 12 MST

(A). Media MS, (B). Media *Kursor C*, (C). Media W3

**PEMBAHASAN**

Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu tumbuh pada ketiga media. Menurut Claudia dkk. (2013), perbedaan waktu tumbuh benih anggrek dapat disebabkan karena adanya perbedaan komposisi unsur hara makro dan mikro yang terkandung di dalam media. Media MS merupakan media yang cukup

komplit unsur hara makro maupun mikronya (Gunawan, 1990). Hal ini diduga dapat mempengaruhi waktu tumbuh benih anggrek yang diperbanyak secara *in vitro*.

Waktu tumbuh benih anggrek *D. heterocarpum* berhubungan dengan proses perkecambahan benih. Perkecambahan benih anggrek diawali dengan munculnya protokorm

dan dilanjutkan dengan munculnya plumula dan radikula (Amilah dan Astuti, 2006). Menurut George *et al.* (2007), pada perkecambahan benih unsur makro yang cukup memegang peranan penting ialah magnesium (Mg) dan fosfor (P). Kedua unsur tersebut berperan dalam mengaktifkan enzim-enzim yang dibutuhkan saat proses perkecambahan benih.

Perbedaan media MS, *Kursor C* dan W3 dilihat dari kandungan hara makronya terletak pada ketersediaan unsur nitrogen (N). Media MS menggunakan amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) sebagai sumber nitrogen, sedangkan pada media *Kursor C* dan W3 sumber nitrogen tersedia dalam bentuk amonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ). Menurut Mukaromah dkk. (2013), amonium nitrat merupakan sumber nitrogen yang optimum untuk perkembangan serta pertumbuhan benih anggrek *Dendrobium lanxiflorum* secara *in vitro*. Unsur nitrogen merupakan salah satu unsur yang sangat penting terkandung di dalam media, hal ini dikarenakan nitrogen sangat dibutuhkan dalam sintesis protein (Hosiholan dkk., 2000).

Secara kualitatif PLB pada *D. heterocarpum* yang ditumbuhkan pada media MS, *Kursor C* dan W3 memiliki perbedaan dalam hal tekstur dan warna. PLB pada media MS dan *Kursor C* hingga 12 MST menunjukkan tekstur yang remah dan berair. Tekstur remah dapat disebabkan karena kondisi lingkungan serta penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Yelnititis, 2012). Tekstur berair pada media MS dan *Kursor C* dapat disebabkan karena proses metabolisme dan respirasi sel yang optimum, sehingga produk akhir berupa  $\text{H}_2\text{O}$  (air) menjadi lebih banyak. Selain itu ketersediaan unsur K dapat memicu terbentuknya kantung air (misel) di dalam dinding sel. Dapat diduga ketika misel-misel yang terdapat di bagian dalam dinding sel terbentuk dan kemudian di dalam media MS tersedia unsur Chlor (Cl) dan Natrium (Na) maka tekanan osmosis sel akan menjadi lebih besar (George dan Sherington, 1984). Pada media W3 tekstur PLB terlihat lebih kering, diduga disebabkan karena senyawa-senyawa yang terkandung di dalam media W3 mampu

menekan unsur K untuk tidak membentuk misel di bagian dalam dinding sel.

Menurut Shin *et al.* (2011), warna PLB yang baik ialah berwarna hijau. Warna hijau yang tampak berasal dari klorofil. Klorofil merupakan zat hijau daun yang dibutuhkan dalam proses fotosintesis. Menurut Bahri (2010), di dalam fotosintesis fungsi utama dari klorofil ialah sebagai penangkap energi matahari sehingga fiksasi  $\text{CO}_2$  akan terjadi. Fiksasi  $\text{CO}_2$  yang telah terjadi akan memproduksi karbohidrat. Faktor yang mempengaruhi terjadinya sintesis klorofil ialah cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik, unsur-unsur hara seperti N, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, S dan O (Hendriyani dan Setiari, 2009).

Seperti pada penelitian ini, media MS dan *Kursor C* ditambahkan 100 ml/L air kelapa. Menurut Sari dkk. (2011), air kelapa merupakan salah satu bahan organik yang dapat memicu proliferasi sel serta memicu terjadinya metabolisme sehingga respirasi sel menjadi lancar. Air kelapa mengandung karbohidrat, vitamin, mineral serta zat pengatur tumbuh seperti auksin, sitokinin dan giberelin (Husain, 2012). Penambahan pisang ambon di dalam media *Kursor C* diduga dapat memenuhi kekurangan-kekurangan unsur hara yang terkandung di dalam media. Menurut Widiastoety dan Purbadi (2003), penambahan bubur pisang ambon 50 g/L dapat menyebabkan pertumbuhan tunas pada anggrek genus *Dendrobium* menjadi optimum.

## SIMPULAN

Benih anggrek *D. heterocarpum* pada media MS dan *Kursor C* hingga kurun waktu 12 MST hanya mencapai fase 1, yakni fase terbentuknya protokorm, sedangkan pada media W3 pada 12 MST menunjukkan hasil mencapai fase 2, dimana fase ini mulai muncul primordia daun.

Warna PLB pada masing-masing media menunjukkan hasil yang berbeda pada 12 MST, pada media *Kursor C* dan W3 fase warna mencapai fase D, yakni *brilliant yellowish green*, sedangkan pada media MS di akhir masa

pengamatan menunjukkan fase warna mencapai fase E yakni *strong yellowish green*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Ir. I Nengah Suta Maryana MMA selaku kepala UPT. Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura Propinsi Bali dan Ibu Ir. Ni Made Sriasih MMA. selaku Koordinator Seksi Hortikultura beserta seluruh staf atas segala ide serta penyediaan sarana dan prasarana untuk memperlancar penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amilah dan Y. Astuti. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin and Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.). Bulletin Penelitian No.09 Tahun 2006.
- Bahri, S. 2010. Klorofil. Diktat Kuliah Kapita Selektia Kimia Organik. Universitas Lampung.
- Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBIPTH). 2013. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Tabanan- Bali.
- Bey, Y., W. Syafii dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) dan Air Kelapa terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *In Vitro*. Jurnal Biogenesis. 2 (2): 41-46.
- Claudia, V., I.A. Astarini. dan S.K. Sudirga. 2013. Uji Viabilitas Benih Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dengan Masa Simpan yang Berbeda. Jurnal Simbiosis I (2).
- Gandawidjaya, D. dan S. Sastrapradja. 1980. Plasma nutfah *Dendrobium* Asal Indonesia. Bull. Kebun Raya 4(4): 113-125.
- George E.F., M.A. Hall. and G.J. De Klerk. 2007. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition: Volume 1. The Background. Exegetic, Basingstone. United Kingdom.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exergetics Ltd. United Kingdom.
- Gunawan, L.W. 1990. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hendriyani, I. S. dan N. Setiari. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. J. Sains & Mat. 17(3): 145-150.
- Hosiholan, M.P., M.S., Suprihatin dan R.I. Muryas. 2000. Pengaruh Perbandingan Nitrat dan Ammonium terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Selada (*Lactusa sativa* L.) yang Dibudidayakan secara Hidroponik. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Hortikultura Memasuki Indonesia Baru. Salatiga.
- Hossain, M.M. 2008. Asymbiotic Seed Germination and *In Vitro* Seedling Development of *Epidendrum ibaguense* Kunth. (Orchidaceae). African Journal of Biotechnology. 7(20): 3614-3619.
- Husain, I. 2012. Induksi Protocorm pada Eksplan Bawang Putih pada Media MS Minim Hara Makro dan Mikro yang Ditambahkan Air Kelapa. JATT 1(1): 31.
- Luan, V.Q., N.Q. Thien, D.V. Khiem and D.T. Nhut. 2006. *In vitro* Germination Capacity and Plant Recovery of Some Native and Rare Orchid. Proceeding of International Workshop of Biotechnology in Agriculture. Ho Chi Minh City, October 20-21, 2006.
- Mukaromah, L., T. Nurhidayati dan S. Nurfadilah. 2013. Pengaruh Sumber dan Konsentrasi Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *In Vitro*. Jurnal Sains dan Seni POMITS. 2(1).
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15: 473-479.

- Nurfadilah, S. 2011. The Effect of Light on The Germination and The Growth of The Seeds of *Dendrobium spectabile* Bl. (Orchidaceae) *In Vitro*. Prosiding Makalah Seminar Kebun Raya Cibodas. LIPI, Bogor.
- Pimda, W. and S. Bunnag. 2010. Cryopreservation of *Dendrobium heterocarpum* Lindl. Via Encapsulation – Dehydration Method. J. Elba Bioflux. II-Issue 1.
- Royal Horticultural Society. 1966. RHS Colour Chart 1<sup>st</sup> Ed. London.
- Sari, Y.P., H. Manurung dan Aspiah. 2011. Pengaruh Pemberian Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Anggrek Kantong Semar (*Paphiopedilum supardii* Braem & Loeb) pada Media Knudson secara *In Vitro*. Mulawarman Scientifie 10(2).
- Shin Y., K. Baque, M.K. Elghamedi, S. Lee and E.J. Paek. 2011. Effects of Activated Charcoal, Plant Growth Regulators and Ultrasonic Pre-Treatments on *In Vitro* Germination and Protocorm Formation of Calanthe Hybrids. Australian Journal of Crop Science. AJCS 5(5): 582-588.
- Syammiah. 2006. Jenis Senyawa Organik Suplemen pada Medium Knudson C Untuk Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies Dendrobium* Bertacong Blue x *Dendrobium undulatum*. J. Floratek 2: 86-92.
- Uesato, K. 1996. Influences of Temperature on The Growth of Ceratophalae Type *Dendrobium*. The Organizing Committee of 2nd Asia Pacific Orchid Conference, Ujung Pandang, p. 1-4.
- Widiastoety, D. dan Purbadi. 2003. Pengaruh Bubur Ubi Kayu dan Ubi Jalar terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Dendrobium*. Journal of Horticultural. 13(1): 1-6.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. 6 (3): 181-194.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Jakarta: Agromedia Pustaka.