

**PERTUMBUHAN *PROTOCORM LIKE BODIES* (PLB)  
ANGGREK *Brassocattleya* Mount Anderson (*C. Bow Bells x Bc*  
*Deesse*) SECARA *IN-VITRO* DENGAN BERBAGAI  
KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH**

**SKRIPSI**

**OLEH:  
ATIK BILLAH NAJA  
11620070**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2017**

i

**PERTUMBUHAN *PROTOCORM LIKE BODIES* (PLB)  
ANGGREK *Brassocattleya* Mount Anderson (*C. Bow Bells x Bc*  
*Deesse*) SECARA *IN-VITRO* DENGAN BERBAGAI  
KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH**

**SKRIPSI**

Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**OLEH:**  
**ATIK BILLAH NAJA**  
**11620070**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2017**

ii

**PERTUMBUHAN *PROTOCORM LIKE BODIES* (PLB) ANGGREK *Brassocattleya Mount Anderson* (*C. Bow Bells x Bc Deesse*) SECARA IN-VITRO DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH**

SKRIPSI

Oleh:

**ATIK BILLAH NAJA**

**NIM. 11620070**

Telah diperiksa dan disetujui oleh untuk diuji:  
Tanggal: 13 Juli 2017

Pembimbing I



Kholifah Holil, M.Si

NIP. 19751106 200912 2 005


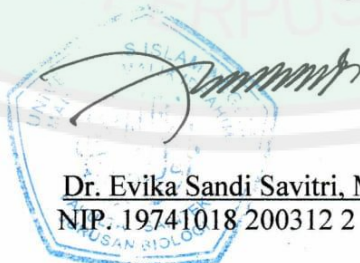
Pembimbing II



Umairatus Syarifah, M. A

NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002

**PERTUMBUHAN *PROTOCORM LIKE BODIES* (PLB) ANGGREK *Brassocattleya Mount Anderson* (*C. Bow Bells x Bc Deesse*) SECARA IN-VITRO DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH**

**SKRIPSI**

Oleh:

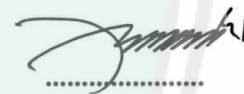
**ATIK BILLAH NAJA**

**NIM. 11620070**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 13 Juli 2017

Penguji Utama	<u>Ruri Siti Resmisari, M.Si</u> NIPT. 201402012423
Ketua Penguji	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002
Sekretaris Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si</u> NIP. 19751106 200912 2 005
Anggota Penguji	<u>Umaiyatus Syarifah, M.A</u> NIP. 19820925 200901 2 005



Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:


Nama : Atik Billah Naja  
NIM : 11620070  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Skripsi : Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) Secara *In-Vitro* dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 13 Juli 2017

Yang membuat pernyataan,



  
Atik Billah Naja  
NIM. 11620070

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil 'Alamin

Tidak ada Tuhan kecuali Allah yang Maha Esa dan tidak ada sekutu bagi-Nya, bagi-Nyalah segala kekuasaan dan pujian. Dan dia Maha Kuasa atas segala sesuatu.

Dan tak lupa sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya ini untuk keluargaku tercinta, terutama Ayah Muhammad Syafi' dan Ibu Zaenab.

رَبِّ أَوْزَعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ  
وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ

Terimakasihku kepada saudara-saudaraku Mbak Nurma, kedua adikku Zaidah dan Amal. May our life showered with love and blessings.

Guru dan Dosen yang mengajarku terutama dosen pembimbing Ibu Kholifah Holil, M.Si dan Ibu Umaiatus Syarifah, M.A., terimakasih telah sabar dan ikhlas membimbingku dalam penulisan maupun mental.

Teman-teman seperjuangan, Windi, Olif, Fina, Aham, Nailus, Merza, Anggik yang telah banyak membantu dan menyemanyatiku, dan teman-teman Biologi angkatan 2011 yang tidak bisa aku sebutkan satu per satu, terimakasih atas waktu dan kenangan yang kita bagi bersama.

Sahabat-sahabatku di perkuliahan maupun di luar perkuliahan dan Keluarga besar MAPALA TURSINA, terimakasih atas segalanya.

Sukses selalu untuk kita semua, dan keberuntungan selalu menyertai kita.

Semoga Karya ini dapat bermanfaat dan menjadi berkah.

## MOTTO

**“Don’t stop until you’re proud”**

Hidup itu singkat, kenapa tidak memberikan segala yang kita punya!?, untuk  
sebuah mimpi?



## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur kehadiran Ilahi Rabbi yang senantiasa memberikan limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul **“Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies (PLB)* Anggrek *Brassocattleya* mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) Secara *In-Vitro* dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh”** ini dan dapat terselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, iringan do'a dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Segenap keluarga penulis, terutama kedua orang tua dan saudara-saudara yang telah memberikan dukungan dan juga do'anya.
2. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M. Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Kholifah Holil, M. Si selaku dosen pembimbing yang penuh keikhlasan dan kesabaran serta memberi motivasi tanpa henti untuk membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
6. Umayyatus Syarifah, MA selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing penulis dalam menelaah penelitian dalam sudut pandang Islam untuk menunjang kesempurnaan penyusunan skripsi ini.

7. Sivitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh Bapak/Ibu dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Seluruh teman-teman Biologi terutama angkatan 2011 yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
9. Keluarga besar MAPALA Tursina yang telah mengajarkan banyak hal dan memenuhi kenangan selama masa kuliah.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat khususnya dibidang pengembangan ilmu Kultur Jaringan Tumbuhan.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 13 Juli 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK BAHASA INDONESIA .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>المخلص .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	9
1.3 Tujuan .....	10
1.4 Hipotesis .....	10
1.5 Manfaat Penelitian .....	10
1.6 Batasan Masalah .....	10
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA .....</b>	<b>12</b>
2.1 Anggrek <i>Cattleya</i> .....	12
2.1.1 Tinjauan Anggrek <i>Cattleya</i> .....	12
2.1.2 Klasifikasi Anggrek <i>Cattleya</i> .....	13
2.1.3 Morfologi Anggrek <i>Cattleya</i> .....	15
2.2 <i>Protocorm Like Bodies (PLB) In Vitro</i> .....	19
2.3 Kultur <i>In Vitro</i> .....	20
2.3.1 Pengertian Kultur <i>In Vitro</i> .....	20
2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Tumbuhan .....	22
2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) .....	24
2.4.1 Auksin .....	25
2.4.2 Sitokinin .....	26
2.4.3 Giberelin .....	28
2.5 Interaksi Antara Auksin, Sitokinin dan Giberelin dalam Pertumbuhan PLB .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>33</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	33

3.2 Rancangan Penelitian .....	33
3.3 Variabel Penelitian .....	34
3.4 Alat dan Bahan .....	34
3.4.1 Alat .....	34
3.4.2 Bahan.....	35
3.5 Langkah Kerja.....	35
3.5.1 Sterilisasi Alat .....	35
3.5.2 Pembuatan Media Perlakuan (Media ½ MS) .....	35
3.5.3 Sterilisasi Ruang Tanam.....	36
3.5.4 Induksi PLB (Subkultur) .....	36
3.5.5 Tahap Pemeliharaan .....	36
3.5.6 Pengamatan .....	37
3.6 Analisis Data .....	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Pengaruh Kombinasi NAA, GA3 dan BAP terhadap Kecepatan (Hari) Munculnya Tunas Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson.....	38
4.2 Pengaruh Kombinasi NAA, GA3 dan BAP terhadap Jumlah Tunas Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson .....	44
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>53</b>
5.1 Kesimpulan .....	53
5.2 Saran.....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>61</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1 Diagram persilangan <i>Bc.</i> Mount Anderson dari Anggrek Spesies.....	14
Gambar 2.2 Anggrek <i>Bassocattleya</i> Mount Anderson. ....	15
Gambar 2.3 Bunga <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson .....	18
Gambar 2.4 Struktur Kimia NAA.....	26
Gambar 2.5 Struktur Kimia BAP..... 27	
Gambar 2.6 Interaksi Auksin, Sitokinin dan GA.....	30
Gambar 4.1 PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson .....	38
Gambar 4.2 Diagram Hari Munculnya Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson.....	42

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 3.2 Kombinasi Perlakuan NAA, BAP dan GA3 .....	34
Tabel 4.1 Ringkasan Uji ANOVA tiga jalur pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP terhadap Hari munculnya tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson .....	40
Tabel 4.2 Ringkasan Uji ANOVA tiga jalur pengaruh Pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson .....	44
Tabel 4.3 Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson pada taraf uji 5%.....	45
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson pada taraf uji 5%.....	46
Tabel 4.5 Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan GA3 terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson pada taraf uji 5%.....	47
Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek <i>Brassocattleya</i> Mount Anderson pada taraf uji 5%.....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 2. Data Kecepatan (hari) Munculnya Tunas dan Jumlah Tunas PLB Angrek <i>Brassocattleya</i> mount Anderson ( <i>C. Bow Bells</i> x <i>Bc. Deesse</i> ) .....	61
Lampiran 3. Analisis Variasi Data dengan Menggunakan SPSS .....	64
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian .....	69



## ABSTRAK

**Naja, Atik Billah.** 2017. Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek *Brassocattleya* mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) Secara In-Vitro dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si, dan Pembimbing Agama: Umaiatus Syarifah, MA.

**Kata Kunci:** PLB, *Cattleya*, *Brassocattleya* Mount Anderson, ZPT, NAA, GA3 dan BAP.

---

Anggrek *Cattleya* merupakan anggrek yang sangat indah, memiliki bau yang wangi dan mempunyai berbagai macam warna bunga. Selain itu, bunganya dapat bertahan sekitar 1-2 minggu. Hal ini menjadikan *Cattleya* salah satu anggrek yang disukai konsumen. Sehingga dibutuhkan teknik perbanyakan yang tepat. Namun waktu yang diperlukan untuk perbanyakan *Cattleya* terutama pada masa *protocorm* secara in vitro lebih lama jika dibandingkan dengan anggrek lainnya. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek persilangan *Cattleya* yaitu anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) secara in-vitro dengan berbagai konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 faktorial, yaitu konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA (0; 1; 2 mg/L), BAP (0; 1; 3; 5 mg/L) dan GA3 (0; 0,1; 0,2 mg/L), sehingga terdapat 36 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Eksplan yang digunakan adalah PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson yang inkubasi selama 60 hari. Parameter yang diamati adalah kecepatan (hari) munculnya tunas PLB, dan jumlah tunas. Analisis data menggunakan analisis varian (ANOVA) tiga jalur dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Perlakuan N2G2B1 (1 mg/l NAA+ 0. 1 mg/l GA3 + 0 mg/l BAP) merupakan kombinasi hormon yang paling optimal untuk kecepatan pertumbuhan PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse* secara in-vitro. Sedangkan untuk perbanyakan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson perlakuan kombinasi 1 mg/l NAA dan 0 mg/l GA3 atau kombinasi 1 mg/l NAA dan 0.1 mg/l GA3 merupakan perlakuan yang dapat menghasilkan jumlah tunas lebih banyak.

## ABSTRACT

**Naja, Atik Billah.** 2016. The growth of Protocorm Like Bodies (PLB) Orchid Brassocattleya mount Anderson (*C. Bow Bells x Bc Deesse*) In-Vitro with Various Concentrations of Growing Regulators. Thesis, Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Lecturer of Biology: Kholifah Holil, M.Si, and Religious Advisor: Umaiyatus Syarifah, MA.

**Keywords:** PLB, Cattleya, Brassocattery Mount Anderson, ZPT, NAA, GA3 and BAP.

---

Orchid Cattleya is a very beautiful orchid, have a fragrance and variety colors of flowers. This Orchid can last about 1-2 weeks. This makes Cattleya one of the favorite orchids for the consumers. So it needs proper propagation techniques. However, the time required for propagation of Cattleya especially during protocorm in vitro is longer compared to other orchids. Therefore, the purpose of this study is to know the growth of Protocorm Like Bodies (PLB) Cattleya orchid Orchid bridge Mount Brands (*C. Bow Bells x Bc Deesse*) in-vitro with various concentrations of Growing Regulators.

This research is an experimental research with Complete Randomized Design (RAL) 3 factorial, with the growth regulatory concentrations of NAA (0; 1; 2 mg / L), BAP (0; 1; 3; 5 mg / L) and GA3 (0; 0.1, 0.2 mg / L), so there were 36 treatments with 3 replications. This experiment is used an explant of PLB Brassocattery Mount Anderson Orchid which incubated for 60 days. The parameters observed were the speed (day) of the emergence of PLB buds, and the number of buds. Data analysis using three-way analysis of variance (ANOVA) with 5% Duncan Multiple Range Test (DMRT).

The results showed that treatment of N2G2B1 (1 mg / 1 NAA + 0. 1 mg / 1 GA3 + 0 mg / 1 BAP) was the most optimal combination of hormones for growth rate of PLB 00 (*C. Bow Bells x Bc Deesse*) 01. While for multiplication of buds PLB Anggrek Brassocattleya Mount Anderson combination treatment 1 mg / 1 NAA and 0 mg / 1 GA3 or a combination of 1 mg / 1 NAA and 0.1 mg / 1 GA3 is a treatment that can produce more buds.

## الملخص

نجما ، أطيع بالله. 2017. نمو *Protocorm Like Bodies* (PLB) خصي *Brassocattleya Mount Anderson* (*C. Bow Bells x Bc. Deesse*) اختبارا بعدة تركيز مادة منظم النمو. البحث الجامعي. قسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة في علم الحياة: خليفة خليل الماجستير والمشرفة في الديانة: أمية الشريفة الماجستير.

الكلمات الأساسية: PLB, *Cattleya*, *Brassocattleya Mount Anderson*, ZPT, NAA, GA3 dan BAP

أن خصي *Cattleya* خصي بالغ الجمل، له رائحة عطرة وله عدة الألوان. وعلى ذلك، يستطيع أن يحرص حوالي 1-2 أسبوعا تقريبا. وعلى هذا يؤدي إلى *Cattleya* من الخصي المحبوب. لذلك يحتاج إلى تقنية الإكثار المناسب. ومع ذلك أن الوقت اللازم للإكثار *Cattleya* خاصة في مدة *protocom* اختبارا أطول من جنس الخصي الآخر. انطلاقا مما سبق، الهدف من هذه الدراسة لمعرفة نمو *Protocorm Like Bodies* (PLB) خصي *Brassocattleya Mount Anderson* (*C. Bow Bells x Bc. Deesse*) اختبارا بعدة تركيز مادة منظم النمو.

هذه الدراسة هي الدراسة التجريبية على تصميم كامل العشوائية (RAL) ثلاثة مضروب، ومنها: بعدة تركيز مادة منظم النمو NAA (0; 1; 2 mg/L)، BAP (0; 1; 3; 5 mg/L) و (0; 1; 0,2 mg/L) GA3، بحيث كان 36 خطوة و3 التكرار. أما الأزدراع المستخدم فهو PLB الخصي *Cattleya hybrida* (*Brassocattleya Mount Anderson*) الحضانة لمدة 60 يوما. أما المعلمة الملاحظة فهي سرية (اليوم) وظهور فرخ النبات PLB، ومجموع من فرخ النبات. أما تحليل البيانات تستخدم الباحثة تحليل الفروق (ANAVA) ثلاث خطوط مع الاختبار المتقدم *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%.

تدل هذه الدراسة أن معاملة N2G2B1 (1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3 + 0 mg/l BAP) كانت الجمع الأمثل بين الهرمونات لمعدل النمو *Protocorm Like Bodies* (PLB) خصي *Brassocattleya Mount Anderson* (*C. Bow Bells x Bc. Deesse*) في المختبر. أما بالنسبة لتضاعف البراعم PLB خصي *Brassocattleya Mount Anderson* الجمع بين العلاج NAA dan 0 mg/l GA3 أو الجمع 1 mg/l NAA dan 0.1 mg/l GA3 هو العلاج التي يمكن أن تنتج كميات أكبر من تبادل لاطلاق النار.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Famili Orchidaceae atau anggrek merupakan salah satu famili terbesar dalam angiospermae. Famili Orchidaceae terdiri dari 700 genus dan 35.000 spesies yang tersebar di seluruh dunia (Oliveira dan Faria, 2005). Anggrek *Cattleya* termasuk ke dalam salah satu dari 5 genus anggrek terpopuler di dunia selain *Dendrobium*, *Vanda*, *Phalaenopsis*, dan *Oncidium* (Sarwono, 2002).

Anggrek *Cattleya* atau yang dikenal dengan sebutan ratu anggrek merupakan anggrek yang sangat indah, memiliki bau yang wangi dan mempunyai berbagai macam warna bunga (Sarwono, 2002). Selain itu, bunganya dapat bertahan sekitar 1-2 minggu (Widiastoety, 2005). Hal ini menjadikan *Cattleya* salah satu anggrek yang disukai konsumen.

Menurut Rahmatia dan Pitriana (2007) menyatakan bahwa banyak *Cattleya* merupakan tanaman hasil persilangan. Persilangan pada anggrek jenis ini dapat terjadi baik antar spesies (*interspecific*) maupun antar genus (*intergeneric*). Beberapa persilangan antar genus pada *Cattleya* adalah dengan genus *Brassavola*, *Laelia*, dan *Cattleya*. Salah satu hasil persilangannya yaitu genus *Brassocattleya* (*Brassavola x Cattleya*) yang termasuk *intergeneric hybrid* dari aliansi *Cattleya* yang banyak disukai (Fordyce, 1968). *Barrocattleya* Deesse (*Bc. Ferrieres x C. Lamartine*) merupakan anggrek persilangan yang paling sering digunakan sebagai indukan persilangan, salah satu hasil persilangan dari *Bc.*

Deesse yang indah adalah *Bc. Mount Anderson* (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) (Fordyce, 1968).

Direktorat Jendral dan Pemasaran Hasil Pertanian (2005) menyebutkan anggrek *Cattleya* dominan disukai masyarakat sebesar 20%. Berdasarkan pengamatan di pasar bunga Kota Batu oleh Andri dan Tumbuan (2015), pada saat ini anggrek *Cattleya* menjadi anggrek nomer tiga yang dominan disukai masyarakat setelah jenis *Dendrobium* (34%) dan *Oncidium Golden Shower* (26%). Banyaknya permintaan konsumen akan Anggrek *Cattleya* perlu diimbangi oleh perkembangan produksi, sehingga dibutuhkan teknik perbanyakan yang cepat dan efisien.

Perbanyakan tumbuhan secara umum telah diterangkan oleh Allah SWT dalam firmanNya QS al-Waqiah (56) : 62-64 :

وَلَقَدْ عَلَّمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾  
 أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ﴿٦٣﴾  
 ءَأَنْتُمْ تَزْرَعُونَهُمْ  
 أَمْ حَسِبْتُمْ أَنَّكُمْ كُنْتُمْ مِنَ الْغَائِبِينَ ﴿٦٤﴾

“﴿62﴾ dan Sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, Maka Mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)?  
 ﴿64﴾ Maka Terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam. ﴿62﴾ kamukah yang menumbuhkannya atau kamukah yang menumbuhkannya?”

Dalam ayat ini digunakan kata *النشأة* bukan kata *خلق*, keduanya memiliki arti “*penciptaan*”, penciptaan yang dimaksud disini adalah penciptaan awal dari sesuatu yang baru. Kata *النشأة* memiliki maksud “*menciptakan sesuatu dari yang ada ke sesuatu yang baru dan mengembangkannya*”, sedangkan kata *خلق* berarti “*menciptakan sesuatu tanpa asal atau menciptakan sesuatu dari sesuatu*” (Manzhur, 1999). Menurut Ibnu Katsir ayat tersebut menerangkan bahwa Allah

SWT telah menciptakan makhluk setelah sebelumnya makhluk sama sekali tidak pernah ada dan tidak pernah disebut (Katsir, 1988). Dzat yang telah menciptakan pertama kali pasti berkuasa pula menciptakan yang kedua kalinya. Perlu diketahui bahwa proses mengembalikan seperti semula tidak sesulit ketika menciptakannya pertama kali, dari tidak ada menjadi ada (al-Jazairi, 2009).

Mengacu pada ayat-ayat di atas, maka konsep dasar perbanyakkan secara *in vitro* dapat dikatakan merupakan hasil dari usaha manusia untuk mengambil pelajaran dari penciptaan pertama kali. Melalui perbanyakkan *in vitro* pada dasarnya manusia bukan menciptakan sesuatu dari yang tidak ada, melainkan hanyalah melakukan perbanyakkan dari induknya.

Pada umumnya, Anggrek dapat diperbanyak secara generatif dan vegetatif. Perbanyakkan generatif adalah perbanyakkan yang dilakukan dengan menggunakan biji yang di dahului dari penyerbukan bunga, sedangkan perbanyakkan vegetatif adalah perbanyakkan yang menggunakan bagian-bagian tubuh tanaman seperti batang, daun, akar, tangkai bunga, pemisahan rumpun. Pemisahan rumpun dilakukan pada anggrek berbatang banyak (simpodial) contohnya *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, dan *Oncidium* (Soeryowinoto, 1977). Perbanyakkan anggrek melalui biji tidak dapat dilakukan secara konvensional karena biji anggrek tidak memiliki endosperm (cadangan makanan), sehingga untuk perkecambahannya hanya dapat dilakukan dengan menumbuhkannya pada media buatan secara aseptis melalui kultur biji secara *in vitro* (Nurfadilah, 2011). Banyak hibrida dalam genus *Cattleya* dengan spesies anggrek lainnya telah diproduksi dan

beberapa teknik kultur jaringan tanaman telah dikembangkan untuk memperbanyak klonal *Cattleya hibrida* (Arditti, 1977).

Perbanyak *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman serta menumbuhkannya dalam keadaan aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali (Sandra, 2004). Perbanyak Anggrek *Cattleya* secara *in vitro* lebih dipilih untuk produksi massal karena jumlah anakan yang dihasilkan relatif lebih banyak, dan waktu yang diperlukan lebih singkat. Perbanyak Anggrek secara *in vitro* yaitu dilakukan dengan menyebarkan dan mengencambahkan biji anggrek di dalam media agar yang steril (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Waktu yang diperlukan untuk memperbanyak *Cattleya* secara *in vitro* lebih lama jika dibandingkan dengan anggrek lainnya, hal ini dipengaruhi oleh waktu pertumbuhan yang diperlukan *Cattleya* pada masa protokom. Schneider (2014) menyebutkan bahwa memperbanyak *Cattleya* pada media ½ MS memerlukan waktu 100 hari setelah inokulasi untuk membentuk protokom yang memiliki daun dan akar primodial pada *Cattleya intermedia* dan 120 hari untuk *Cattleya warneri*. Sedangkan pada media Knudson-C dengan penambahan 15% air kelapa *Cattleya bicolor* Lindl memiliki daun primodial tanpa akar setelah 8 bulan semai (Prizão dkk, 2012). Perbanyak secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh media tanam dan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).

Penggunaan media ½ MS menunjukkan hasil yang positif dalam pertumbuhan tanaman Anggrek secara *in vitro* (Arditti, 1997). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Schneider (2014) spesies *Cattleya intermedia* dan

*Cattleya warneri* berkecambah pada tingkat yang lebih baik di media yang mengandung jumlah nutrisi yang lebih tinggi. Media MS dengan setengah konsentrasi macronutrients dan BG menengah dengan dua pertiga dari konsentrasi ditemukan menjadi media yang paling cocok untuk perkecambahan biji dengan total tertinggi pembentukan *protocorm*. Sehingga dalam penelitian ini digunakan media ½ MS dengan penambahan kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).

Penambahan ZPT pada perbanyakan anggrek *Cattleya* diperlukan untuk mempersingkat waktu pembentukan PLB (*Protocorm Like Bodies*). ZPT yang bisa ditambahkan adalah auksin, sitokinin dan giberelin. Auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk menginisiasi pemanjangan dan pembesaran sel (Salisbury & Ross, 1995), dan menurut George (1993) Auksin telah dilaporkan berfungsi untuk meningkatkan pengakaran tanaman secara *in vitro*. Salah satu kelompok auksin yang paling banyak digunakan pada teknik kultur *in vitro* adalah *Naphthalene Acetic Acid* (NAA).

NAA merupakan zat pengatur tumbuh sintetik yang mempunyai sifat lebih stabil dan tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi dibandingkan golongan auksin lainnya (Hendaryono dalam Paramartha, 2012). Sedangkan Sitokinin memiliki peran besar pada perkembangan tanaman, seperti pengaturan pembentukan tunas, perbanyakan dan juga meningkatkan pembelahan sel (Mok DWS dalam Ashraf, 2014). Bersama-sama dengan auksin, sitokinin merangsang pembelahan sel dan mempengaruhi jalur diferensiasi, BAP dari golongan sitokinin diperkuat atau diperlemah oleh NAA dari golongan auksin. (Campbell, 2002).

Pada umumnya BAP dari kelompok sitokinin meningkatkan perbanyakan tunas pada beberapa spesies tanaman. BAP adalah golongan hormon sitokinin hasil sintetik yang aktif dan daya rangsanginya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh tanaman (George dan Sherrington, 1984 *dalam* Andaryani, 2010). Sedangkan giberelin dapat bekerja bersama-sama dengan auksin dan sitokinin dalam media, sifatnya sama dengan auksin (Yulia, 2012).

Menurut Bey (2006), giberelin merupakan hormon tumbuh pada tanaman yang bersifat sintesis dan berperan mempercepat perkecambahan. Menurut Davies (1995), terdapat 89 jenis giberelin. Semua giberelin merupakan turunan giberelin dan bersifat asam sehingga dinamakan GA (asam giberelat) yang dinomori untuk membedakannya, yang paling umum digunakan adalah GA3. Giberelin dalam hal ini GA3 (*Giberelic Acid*) merupakan faktor utama dalam mengendalikan induksi tunas, akar dan juga elongasi (Coello, 2010).

Yulia (2012) menyebutkan efek giberelin menunjukkan bahwa zat tersebut berperan menginduksi pemanjangan batang melalui tiga peristiwa. Pertama, memicu pembelahan sel apeks tajuk, terutama sel meristematik yang terletak di bagian bawah, dan selanjutnya mempengaruhi sel korteks dan sel empulur (Sachs *dalam* Salisbury dan Ross, 1995). Kedua, giberelin memacu pertumbuhan sel dengan cara meningkatkan hidrolisis pati, fruktan, dan sukrosa menjadi molekul glukosa dan fruktosa (Yulia, 2012), yang berperan dalam pembentukan dinding sel. Selain itu, berperan dalam penurunan potensial air, sehingga air akan bergerak masuk lebih cepat, dan menyebabkan penambahan ukuran sel (Yulia, 2012). Hal ini terjadi karena adanya perubahan plastisitas dinding sel. Ketiga, Giberelin dapat

meningkatkan pengaktifan gen dan memacu pembentukan enzim khusus yang menyebabkan berlangsungnya berbagai proses fisiologis (Salisbury dan Ross, 1995).

Plastisitas dinding sel yang disebabkan oleh penambahan giberelin memiliki mekanisme yang sama dengan auksin. Menurut hipotesis pertumbuhan asam, auksin merangsang pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memainkan peranan dalam respon pertumbuhan sel. Pada daerah pemanjangan tunas pompa proton akan dirangsang oleh hormon sehingga menurunkan pH pada dinding sel. Pengasaman dinding sel ini dapat mengaktifkan enzim-enzim yang dapat memecahkan ikatan silang (ikatan hidrogen) yang terdapat di antara mikrofibril-mikrofibril selulosa, sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Dinding sel yang menjadi lebih plastis menyebabkan sel bebas mengambil tambahan air melalui osmosis dan bertambah panjang (Campbell dan Reece, 2009).

Secara sinergis, meningkatnya konsentrasi auksin di dalam sel merupakan stimulus untuk aktivasi sitokinin. Aktifnya sitokinin diikuti dengan aktifnya enzim yang menaikkan laju sintesis protein yang merupakan protein pembangun sel sehingga terbentuklah sel-sel baru yang pada akhirnya terdiferensiasi menjadi organ tertentu (Salisbury dan Ross, 1995). Menurut Kasli (2009) menyatakan bahwa sitokinin akan memacu peningkatan jumlah sel dengan cara berikatan pada reseptor protein yang terdapat pada membran plasma sel target (sel meristematik). Sedangkan peningkatan aktivitas sitokinin pada zona meristem apikal, menyebabkan diferensiasi sel menjadi tunas (Schaller, 2014).

Hormon-hormon tersebut diatas sangat berpengaruh pada proses perkembangan eksplan dalam hal ini PLB secara in-vitro. *Protocorm* adalah bentukan bulat padat berwarna hijau yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm (Bey, 2006). Sedangkan PLB (*Protocorm Like Bodies*) merupakan struktur yang menyerupai *protocorm* yang terbentuk dari jaringan eksplan atau kallus in-vitro. Setelah *protocorm* terbentuk maka tahap selanjutnya adalah pembentukan daun dan akar yang kemudian akan menjadi planlet. Proses perkembangan biji anggrek terbagi dalam 5 fase, fase 0: biji belum belum berkecambah, fase 1: biji berkembang menjadi *protocorm*, fase 2: *protocorm* dengan primordia daun, fase 3: *protocorm* dengan daun dan akar pertama, fase 4: *protocorm* dengan beberapa daun dan akar, fase 5: planlet (Nurfadilah, 2011).

Untuk mempercepat pertumbuhan tunas dan pengakaran pada PLB diperlukan penambahan konsentrasi ZPT yang tepat. Hasil penelitian Larventyeva (2007) media optimum untuk proliferasi *protocorm Cattleya* adalah media MS yang dimodifikasi dengan penambahan 5 mg/l BAP, 2 mg/l NAA. Pandiangan dan Nainggolan (2006) pada tanaman Anggrek (*Dendrobium sp.*) pemberian GA3 0,15-0,2 ppm (0,15-0,2 mg/l) dapat meningkatkan secara nyata jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar planlet. Yang membedakan penelitian ini dari penelitiannya Penelitian yang dilakukan oleh Larventyeva (2007) adalah dalam penelitian ini menggunakan eksplan PLB anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*.

Hasil beberapa penelitian diatas memberikan informasi bahwa ketiga hormon tersebut berpengaruh terhadap pertumbuhan anggrek secara *in vitro*. Akan tetapi informasi mengenai hasil dari kombinasi ketiga hormon tersebut dalam pertumbuhan anggrek masih terbatas, khususnya pada anggrek *Cattleya*. Untuk dapat mengetahui informasi tersebut maka perlu menggabungkan kombinasi hormon auksin, sitokinin dan giberelin pada pertumbuhan PLB anggrek *Cattleya* secara *in vitro*.

Berlandaskan beberapa penelitian di atas, penelitian ini menggunakan kombinasi hormon NAA (Auksin) 0,0-2,0 ppm, BAP (Sitokinin) 0,0-5,0 ppm dan dikombinasikan dengan penambahan GA3 (Giberelin) 0,15-0,2 ppm untuk meningkatkan pertumbuhan tunas dan pengakaran pada PLB. Hal ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi optimum dari hormon-hormon tersebut dalam pertumbuhan PLB tanaman Anggrek *Cattleya* secara *in vitro*. PLB yang digunakan dalam penelitian ini adalah PLB anggrek *Cattleya hybrid* (*Brassocattleya* Mount Anderson) pada fase 0-1. Para meter yang diamati dalam penelitian ini adalah kecepatan tumbuh tunas PLB (hari), jumlah rata-rata tunas PLB.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah antara lain:

1. Bagaimana pertumbuhan PLB anggrek *Cattleya hybrida* (*Brassocattleya* Mount Anderson) secara in-vitro dengan penambahan berbagai konsentrasi ZPT?
2. Berapa konsentrasi ZPT yang optimum untuk pertumbuhan *protocorm* anggrek *Cattleya hybrid* (*Brassocattleya* Mount Anderson) secara in-vitro?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini antara lain:

1. Mengetahui pertumbuhan PLB anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)* secara in-vitro dengan berbagai konsentrasi ZPT.
2. Mengetahui konsentrasi ZPT yang optimal untuk pertumbuhan PLB anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)* secara in-vitro.

### 1.4 Hipotesis

1. Kombinasi NAA, GA3 dan BAP mampu mempercepat pertumbuhan PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*
2. Terdapat konsentrasi NAA, GA3 dan BAP tertentu yang dapat menumbuhkan PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)* secara optimal.

### 1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah efisiensi waktu yang diperlukan dalam proses perbanyakan dengan teknologi kultur jaringan, dengan cara mempercepat waktu yang dibutuhkan dalam pertumbuhan PLB Anggrek *Cattleya hibrida (Brassocattleya Mount Anderson)*.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. *Protocorm Like Bodies (PLB)* yang digunakan merupakan PLB Anggrek *Brassocattleya Mount Anderson* fase 0-1 yang diambil dari Handoyo Budi Orchids.
2. Media yang digunakan adalah media  $\frac{1}{2}$  MS (Murashige Skoog).

3. ZPT yang digunakan adalah NAA (0; 1; 2 mg/L), BAP(0; 1; 3; 5 mg/L) dan GA3(0; 0,1; 0,2 mg/L).
4. Parameter yang diamati meliputi : Para meter yang diamati dalam penelitian ini adalah hari tumbuhnya tumbuh tunas PLB dan jumlah rata-rata tunas PLB.



## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Anggrek *Cattleya*

##### 2.1.1 Tinjauan Umum Anggrek *Cattleya*

Anggrek *Cattleya* merupakan salah satu jenis anggrek yang bervariasi dan meliputi sekitar 113 spesies, varietas dan forma yang tak terhitung jumlahnya serta ribuan *hybrid* baik alami maupun buatan (Hawkes, 1965). Habitat asli genus *Cattleya* (*Orchidaceae*) berasal dari Amerika Tengah dan Selatan, tumbuh di sepanjang pegunungan, hutan kering, lereng, bukit berawan, ngarai, terutama pada pohon dan batu (Calderon, 2007 dalam Diaz - Alvarez, 2015). *Cattleya* merupakan tanaman epifit dan memiliki *pseudobulb* tebal yang dapat menyimpan banyak air dan cadangan makanan (Sessler, 1978).

Anggrek *Cattleya* dijuluki sebagai *The Queen of Orchid* karena ukuran dan keindahan bunganya. Anggrek ini memiliki bunga yang sangat indah, memiliki bau yang wangi dan mempunyai berbagai macam warna bunga dan termasuk ke dalam salah satu dari 5 genus terpopuler di dunia selain *Dendrobium*, *Vanda*, *Phalaenopsis* dan *Oncidium* (Sarwono, 2002). *Cattleya* memiliki banyak warna seperti oranye, hijau, dan merah (Ploughman, 2007). Sebagaimana firman Allah dalam al-Quran surah Qaff (50) :7,

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ﴿٧﴾

7. dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata,

Al-Jazairi (2009) menerangkan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tanaman yang indah dan menarik di pandang mata. Menurut al-Qurthubi (1995), kata **بِهَيْج** dalam ayat di atas memiliki arti *indah atau bagus*. *Cattleya* merupakan salah satu tanaman hias yang diciptakan oleh Allah SWT dengan nilai estetika tinggi karena berbunga indah dengan warna-warna yang menarik. Hal tersebut menjadikan Anggrek *Cattleya* merupakan anggrek yang paling indah dan diminati untuk tujuan dekoratif.

*Cattleya* diambil dari nama William Cattley, seorang hortikultoris sekaligus kolektor anggrek dari Inggris yang mengimpor tanaman dari Brasil yang pada tahun 1818 memperoleh tanaman ini dan menanamnya. Pada November 1823, tanaman dari Brasil ini berbunga sangat indah. Dr. John Lindley, seorang orchidologist terkenal pada waktu itu menggambarkannya sebagai *Cattleya labiata* dalam bukunya kumpulan catatan Botanica, t. 33 (1824), Lindley mendirikan sebuah genus baru yang ia namai untuk menghormati Mr. Cattley. Menyadari terdapat kekerabatan dengan anggrek yang sebelumnya dijelaskan sebagai *Epidendrum violaceum* dari Loddiges, ia merubah nama anggrek tersebut dengan *Cattleya loddigesii* (aos.org, 2016).

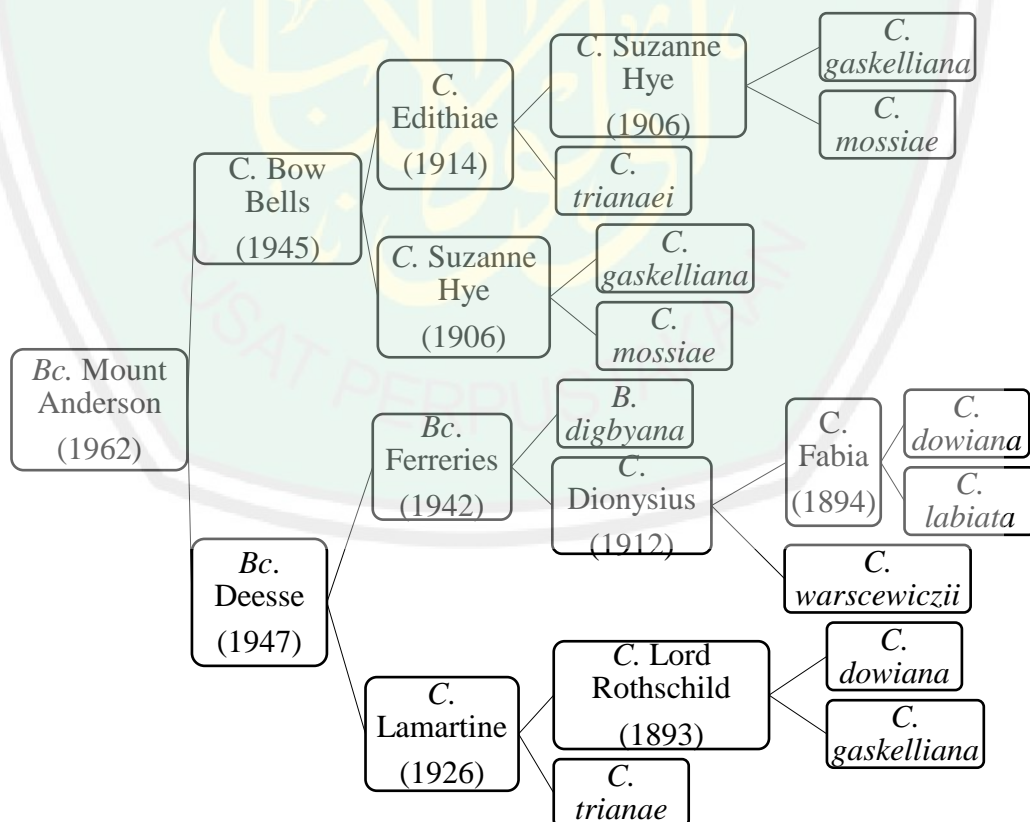
### 2.1.2 Klasifikasi Anggrek *Cattleya*

Klasifikasi anggrek *Cattleya* (Dressler, 1993) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae

Ordo : Asparagales  
 Famili : Orchidaceae  
 Subfamili : Epidendroideae  
 Suku : Epidendrea  
 Subsuku : Laeliinae  
 Genus : *Cattleya*

Angrek *Brassocattleya* Mount Anderson merupakan *Cattleya hybrid* dengan Genus *Brassocattleya* yang termasuk dalam aliansi *Cattleya*. *Brassocattleya* Mount Anderson adalah hasil persilangan dari angrek *Cattleya* Bow Bells dengan *Brassocattleya* Deesse (Gambar 2.1.1). Genus *Brassocattleya* merupakan persilangan dari *Brassavola* x *Cattleya* (Fordyce,1968).

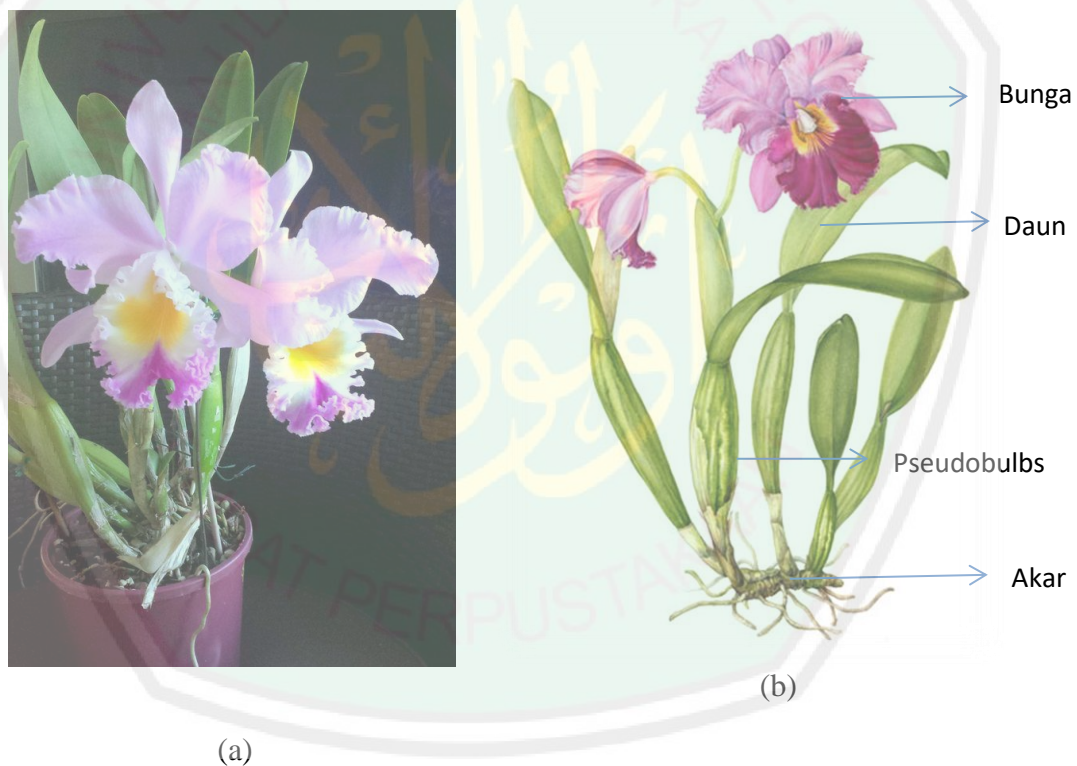


Gambar 2.1 Diagram persilangan *Bc. Mount Anderson* (*Cattleya hybrid*) dari

Anggrek Spesies (Orchid.or.jp, 2017)

### 2.1.3 Morfologi Anggrek *Cattleya*

Menurut Steenis (1997), famili Orchidaceae merupakan herba menahun, kerap kali epifit, kebanyakan memiliki akar rimpang atau batang yang membesar (pseudobulbus). Bertepi daun rata, kerap kali berdaging, hampir selalu berseling, dua baris. Bunga berkelamin dua dan memiliki bibir (labellum) yang berbeda-beda. Lebih lanjut Soeryowinoto (1987) mengungkapkan bahwa ciri khas anggrek dapat terlihat pada bunga, buah, dan biji.



Gambar 2.2 (a) Anggrek *Bassocattleya* Mount Anderson (b) *Botanical illustration* Anggrek *Cattleya* (Lighthipe, 2012).

### 2.1.3.1 Akar

Pada umumnya, akar anggrek berbentuk silindris, berdaging lunak, dan mudah patah. Bagian ujung akar meruncing, licin, dan sedikit lengket. Dalam keadaan kering, akar tampak berwarna putih keperak-perakan dan hanya bagian ujung akar saja yang berwarna hijau atau tampak agak keunguan. Akar yang sudah tua akan berwarna coklat dan kering. Akar anggrek bervelamen, yaitu lapisan luar yang terdiri dari beberapa lapis sel berongga dan transparan, serta merupakan lapisan pelindung pada sistem saluran akar. Velamen ini berfungsi melindungi akar dari kehilangan air selama proses transpirasi dan evaporasi, menyerap air, melindungi bagian dalam akar, serta membantu melekatnya akar pada benda yang ditumpangnya (Widiastoety, 2004).

Akar anggrek *Cattleya* yang merupakan anggrek simpodial, diproduksi pada bagian dasar *pseudobulb* atau sepanjang rhizoma yang menghubungkan *pseudobulb* satu dengan lainnya (Gunawan, 2005). Anggrek *Cattleya* memiliki akar lekat dan akar udara. Fungsi akar lekat diduga hanya untuk menahan tanaman tetap pada posisinya, sedangkan akar udara lebih berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman dikarenakan akar udara mampu menyerap unsur-unsur hara (Gunadi, 1977).

### 2.1.3.2 Batang

Bentuk batang anggrek beraneka ragam, ada yang ramping, gemuk berdaging seluruhnya atau menebal di bagian tertentu saja, dengan atau tanpa umbi semu (*pseudobulb*) (Widiastoety, 2004). Anggrek memperoleh nutrisi dari dalam tanah maupun udara, selain itu juga memiliki cadangan makanan yang

tersimpan di dalam umbi semu atau pseudobulbus. Pseudobulbus menyimpan kandungan air yang cukup sehingga anggrek mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang kekurangan air (Soon, 1980).

Berdasarkan pertumbuhannya, batang anggrek dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu tipe simpodial dan tipe monopodial. Anggrek *Cattleya* termasuk golongan anggrek tipe simpodial yakni mempunyai batang yang berumbi semu (*pseudobulb*) dengan pertumbuhan ujung batang terbatas, dimana tangkai bunga keluar dari ujung *pseudobulb*. Pertumbuhan batang akan terhenti bila telah mencapai maksimal. Pertumbuhan baru dilanjutkan oleh tunas anakan yang tumbuh di sampingnya. Tunas anakan tersebut tumbuh dari rhizoma (batang di bawah media) yang menghubungkannya dengan tanaman induk (Widiastoety, 2005).

#### 2.1.3.2.1 Daun

Bentuk daun anggrek terdiri dari berbagai macam bentuk seperti agak bulat, lonjong, sampai lanset. Tebal daun beragam, dari tipis sampai berdaging, dan kaku serta permukaannya rata. Daun tidak bertangkai, sepenuhnya duduk pada batang, bagian tepi bergerigi ataupun rata, tulang daun sejajar dengan tepi daun dan berakhir di ujung daun serta daun anggrek muncul pada ruas-ruas batang dengan posisi berhadapan atau berpasangan (Widiastoety, 2005).

Berdasarkan pertumbuhannya anggrek *Cattleya* termasuk golongan *evergreen* yaitu daun tetap segar/hijau dan tidak gugur secara serentak. Daun anggrek *Cattleya* berbentuk lanset ataupun lebar, tebal dan berdaging (Widiastoety, 2005). Sandra (2003) menyebutkan bahwa anggrek *Cattleya*

termasuk anggrek berdaun lebar, bentuk daunnya sederhana, bertulang daun lurus serta jumlahnya satu atau dua helai tiap batang. Anggrek berdaun lebar biasanya lebih gampang berbunga dibandingkan yang berdaun sempit karena proses fotosintesis dan transpirasi juga semakin cepat sehingga makanan yang dihasilkan lebih banyak.

### 2.1.3.3 Bunga



Gambar 2.3 Bunga *Cattleya hybrid* (*Brassocattleya* Mount Anderson)

Anggrek *Cattleya* memiliki bunga yang muncul dari bagian atas pseudobulbus kemudian muncul diantara ketiak daun (Soon, 1980). Jumlah kuntum bunga untuk jenis *Cattleya* berdaun satu berjumlah 1-2 kuntum bunga dan berukuran besar, sementara jenis *Cattleya* berdaun 2-3 mempunyai bunga 3-8 kuntum dan berukuran kecil. Panjang tangkai bunga termasuk pendek, diameter bunga 5 hingga lebih dari 16 cm, dan daya tahan bunga bertahan 1-2 minggu bila tidak dipotong dan kurang lebih 3-4 hari bila digunakan sebagai bunga potong (Widiastoety, 2005).

Bagian bunga anggrek terdiri dari tiga sepal dan tiga petal. Tiga sepal terdiri dari satu sepal dorsal dan dua sepal lateral, sedangkan salah satu dari petal mengalami modifikasi yang disebut dengan labellum (Soeryowinoto, 1987). Column (tugu bunga) yang merupakan tempat kumpulan alat-alat kelamin bunga anggrek mempunyai serbuk sari yang disebut polinia (Gunawan, 2005). Purwanto dan Semiarti (2009) menerangkan di bagian tengah bunga anggrek terdapat alat reproduksi jantan dan betina, serbuk sari (alat reproduksi jantan) berwarna kuning dan tertutup oleh *anther cap*, sementara putik (alat reproduksi betina) terletak di bawah *cap* dan polinia serta menghadap ke labellum.

#### 2.1.3.4 Buah

Buah anggrek disebut sebagai buah lentera dan apabila masak, buah akan pecah melalui bagian tengahnya (Soeryowinoto, 1987). Biji anggrek tidak memiliki endosperma yang berfungsi sebagai cadangan makanan (*endosperm*) untuk membantu proses perkecambahan. Selain itu, embrio anggrek tidak memiliki kotiledon atau keping biji serta tidak ada radikula atau akar lembaga (Gunadi, 1985). Oleh karena itu, untuk perkecambahan dan pertumbuhan awal biji anggrek dibutuhkan gula dan persenyawaan-persenyawaan lain dari luar atau dari lingkungan sekelilingnya (Gunawan, 2005).

Bentuk buah anggrek umumnya berbeda-beda, bergantung pada jenisnya. Biasanya, setelah bunga diserbuki dan dibuahi, 3-9 bulan kemudian muncul buah yang sudah tua. Kematangan buah sangat bergantung pada jenis anggreknya. Buah pada anggrek *Cattleya* baru matang setelah sembilan bulan. Bagian awal yang terbuka adalah tengahnya bukan di ujung atau pangkal buah. Di dalam buah

terdapat biji yang dapat mencapai 5 juta biji (Iswanto, 2010).

## 2.2 *Protocorm Like Bodies (PLB)*

*Protocorm* merupakan biji yang berisi embrio yang belum terorganisir, terdiri dari beberapa ratus sel yang selama masa perkecambahan biji membentuk struktur berupa umbi (Zulkarnain, 2009). *Protocorm* berupa bentukan bulat padat berwarna hijau yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm (Bey, 2006). Setelah *protocorm* terbentuk maka tahap selanjutnya adalah pembentukan daun dan akar yang kemudian akan menjadi planlet.

Proses perkembangan biji anggrek terbagi dalam 5 fase, fase 0: biji belum berkecambah, fase 1: biji berkembang menjadi *protocorm*, fase 2: *protocorm* dengan primordia daun, fase 3: *protocorm* dengan daun dan akar pertama, fase 4: *protocorm* dengan beberapa daun dan akar, fase 5: planlet (Nurfadilah, 2011). *Protocorm Like Bodies (PLB)* merupakan struktur yang menyerupai *Protocorm* yang terbentuk dari jaringan eksplan dan atau kalus *in vitro* (Arditti, 1977)

## 2.3 Kultur *In vitro*

### 2.3.1 Pengertian Kultur *In vitro*

Kultur *in vitro* merupakan salah satu alat utama bioteknologi tanaman yang mengeksploitasi sifat totipotensi dari sel tanaman, sebuah konsep yang diajukan oleh Haberlandt (1902) dan dipertegas penggunaannya pertama kali oleh

Steward (1985). kultur jaringan merupakan alternatif sebutan dari kultur sel, jaringan dan organ dengan kondisi *in vitro* (Debergh dan Read, 1991).

Kultur *in vitro* merupakan teknik perbanyakan 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 utama dari teknik kultur *in vitro* adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Zulkarnain, 2009). Berbagai jenis kultur dapat diklasifikasikan ke dalam kultur organ, kultur kalus, meristem dan kultur jaringan, embriogenesis somatik, kultur sel dan kultur protoplas (Islam, 2005).

Manfaat teknik kultur *in vitro* yang utama adalah perbanyakan klon atau perbanyakan tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Teknik kultur *in vitro* bermanfaat dalam beberapa hal khusus, yaitu perbanyakan klon secara cepat, keragaman genetik, kondisi aseptik, seleksi tanaman, stok tanaman mikro, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun, dan memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional (Zulkarnain, 2009). Dalam perkembangan perbanyakan tanaman, teknik kultur jaringan mempunyai dua kegunaan utama, yaitu untuk perbanyakan klonal yang akan menghasilkan propagula bermutu, dan perbaikan utama tanaman untuk menghasilkan kultivar baru yang lebih unggul sesuai dengan program perbaikan sifat-sifat genetik yang dikehendaki (Yusnita, 2004).

Kultur jaringan adalah salah satu metode dalam perbanyakan tanaman anggrek, dengan mengambil bagian-bagian tanaman anggrek (eksplan) serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali (Gunawan, 1992).

### **2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur *In vitro***

Keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya sterilisasi, pemilihan bahan eksplan, faktor lingkungan seperti pH, cahaya dan temperatur, serta kandungan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh ) dalam medium kultur (Hendaryono, 1994).

#### **2.3.2.1 Eksplan**

Eksplan adalah bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk inisiasi suatu kultur. Secara teoritis, hampir semua bagian tanaman dapat digunakan sebagai eksplan, namun pertumbuhannya bergantung dari sumber dan ukuran eksplan (Gunawan, 1992). Eksplan yang digunakan dapat berasal dari jaringan meristem tunas, kepala sari atau tepung sari, cadangan makanan (*endosperm*) atau embrio, kalus, dan organ tanaman yang meliputi pucuk, bunga, daun, dan akar (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

#### **2.3.2.2 Media**

Faktor yang harus dipertimbangkan ketika perbanyakan spesies tanaman *in vitro* adalah jenis media yang digunakan. Medium terdiri dari garam basal dan nutrisi penting yang dibutuhkan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan.

Teknik kultur *in vitro* melibatkan penggunaan media garam tinggi dan rendah, seperti Murashige dan Skoog (MS) (Murashige dan Skoog, 1962; Daniel Lineberger, 2009). Media MS dapat digunakan untuk perbanyakkan anggrek secara *in vitro* karena medium MS memiliki kandungan garam-garam lebih tinggi daripada media lain disamping kandungan nitratnya juga tinggi (Zulkarnain, 2009).

Umumnya media kultur *in vitro* tersusun atas komposisi hara makro, hara mikro, vitamin, gula, asam amino dan N-organik, persenyawaan kompleks alamiah (air kelapa, ekstrak ragi, jus tomat, dan sebagainya), *buffer*, arang aktif, zat pengatur tumbuh (terutama auksin dan sitokinin) dan bahan pematat. Faktor lain yang tidak kalah penting dalam kultur *in vitro* adalah pengaturan pH media. Tingkat keasaman media harus diatur supaya tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH sitoplasma. Sel-sel tanaman membutuhkan pH yang sedikit asam berkisar antara 5,5-5,8 (Alitalia, 2008). Masing-masing unsur anorganik mempunyai peranan penting dalam pembentukan klorofil dan protein, pertumbuhan vegetatif, pemanjangan sel tanaman, meningkatkan aktivitas enzim, mengaktifkan pembentukan jaringan meristematik, dan translokasi karbohidrat (George, 2008).

Media kultur *in vitro* juga mengandung karbohidrat sebagai sumber energi yang didapat dari penggunaan gula. Gula yang terbaik adalah sukrosa, walaupun glukosa dan fruktosa dapat juga digunakan. Konsentrasi gula yang digunakan dalam media kultur jaringan bergantung pada tipe dan umur bahan tanaman (Pierik, 1987). Karbohidrat ini digunakan untuk menggantikan karbon yang

biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis (Gunawan, 1995).

### **2.3.2.3 Lingkungan Tumbuh**

Kondisi fisik lingkungan tumbuh yang meliputi cahaya, suhu, dan kelembaban merupakan faktor lain yang menentukan keberhasilan dalam kultur jaringan. Intensitas cahaya yang rendah dapat mempertinggi embryogenesis dan organogenesis. Intensitas cahaya optimum pada kultur 0-1000 ux (inisiasi), 1000-10000 lux (multiplikasi), 10000-30000 lux (pengakaran), dan <30000 lux untuk aklimatisasi (Santoso dan Nursadi, 2004).

Temperatur yang umum digunakan untuk kultur berbagai tanaman adalah  $\pm 20^{\circ}$  C. Suhu yang terlalu rendah dapat menghambat pertumbuhan tanaman dan suhu yang terlalu tinggi dapat mematikan tanaman. Temperatur optimum tergantung jenis tanaman, sedangkan temperatur normal berkisar antara  $22^{\circ}$  C (Santoso dan Nursadi, 2004).

### **2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)**

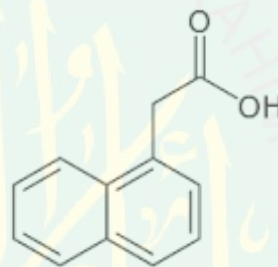
Konsep zat pengatur tumbuh diawali dengan konsep hormon tanaman (Fitohormon) (Wattimena, 1992). Fitohormon adalah senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi secara endogen. Senyawa tersebut berperan merangsang dan meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu. Senyawa-senyawa lain yang memiliki karakteristik yang sama dengan hormon tetapi diproduksi secara eksogen, dikenal sebagai zat pengatur tumbuh. Macam-macam zat pengatur tumbuh yaitu auksin, sitokinin, giberelin, asam absisat, dan etilen (Zulkarnain, 2009).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) penting dalam kultur jaringan tanaman karena ZPT memainkan peran penting dalam pemanjangan batang, tropisme, dan dominasi apikal. ZPT umumnya diklasifikasikan ke dalam kelompok berikut; auksin, sitokinin, giberelin dan asam absisat. Selain itu, proporsi auksin dan sitokinin menentukan jenis dan tingkat organogenesis pada kultur sel tanaman (Skoog dan Miller, 1957 *dalam* Saad, 2012). Zat pengatur tumbuh memainkan peran penting untuk mengembangkan model tertentu pertumbuhan kultur jaringan, yang mungkin karena akumulasi bahan biokimia tertentu di dalamnya. Hormon tunggal atau kombinasi yang berbeda dalam medium menyebabkan pemeliharaan bahan anorganik dan organik spesifik dan seimbang dalam jaringan tumbuh. Hal ini menyebabkan sel-sel atau jaringan tumbuh baik ke pucuk atau akar atau bahkan kematian (Murashige dan Skoog, 1962 *dalam* Saad, 2012).

#### 2.4.1 Auksin

Dalam kultur jaringan, auksin biasanya digunakan untuk merangsang produksi kalus dan pertumbuhan sel, untuk inisiasi tunas dan perakaran, untuk menginduksi embriogenesis somatik, untuk merangsang pertumbuhan dari tunas apeks dan kultur tunas batang (Saad, 2012). Auksin terbagi menjadi beberapa jenis antara lain: Indole Acetic Acid (IAA), Indole Butyric Acid (IBA), Naphtaleneacetic Acid (NAA), dan 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D). Di alam IAA diidentifikasi sebagai auksin yang aktif di dalam tumbuhan (endogenous) yang diproduksi dalam jaringan meristematik yang aktif seperti contohnya tunas, sedangkan IBA dan NAA merupakan auksi sintetis (Hoesen, 2000).

Auksin mempunyai peranan besar dalam proses diferensiasi sel menjadi embrio somatik. Auksin dibutuhkan dalam menginduksi pembentukan sel embrionik dengan menginisiasi aktivitas *differential gene* dan memanipulasi sekumpulan gen untuk meningkatkan populasi sel embrionik melalui pembelahan sel secara berulang-ulang, serta menstimulasi terjadinya diferensiasi sel dan terjadinya embrio (Salisbury dan Ross, 1995). NAA mempunyai kemampuan untuk mempercepat pemanjangan sel yang menyebabkan efek perubahan fisiologis (Mudyantini, 2001).



Gambar 2.4 Struktur kimia NAA (Salisbury dan Ross, 1995)

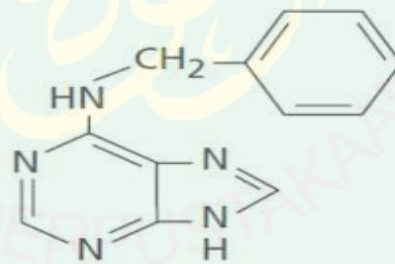
#### 2.4.2 Sitokinin

Dalam media kultur, sitokinin terbukti merangsang pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas dan proliferasi tunas aksilar dan pembentukan akar. Sitokinin adalah senyawa yang relatif stabil dalam media kultur dan dapat tersimpan kering dalam  $-20^{\circ}\text{C}$ . Sitokinin sering dilaporkan sulit larut dan kadang-kadang penambahan beberapa tetes 1N HCl atau 1N NaOH memfasilitasi pelarutan sitokinin (Saad, 2012).

Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (*6-amino purine*). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan aktifitas sitokinin. Di dalam senyawa

sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut akan meningkatkan aktifitas zat pengatur tumbuh ini.  $\text{NH}_2\text{N NH}$  Adenine (*6-amino purine*). Sitokinin memiliki rantai samping yang kaya akan karbon dan hidrogen, menempel pada nitrogen yang menonjol dari puncak cincin purin (Santoso dan Nursadi, 2004).

ZPT yang tergolong dalam sitokinin adalah BAP atau BA. BAP memiliki rumus bangun  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_5$  dan titik lebur  $230\text{-}233^\circ\text{C}$  (Santoso dan Nursadi, 2004). Sitokinin dalam hal ini BAP merupakan suatu zat pengatur tumbuh sintetis yang tidak mudah dirombak oleh sintesis enzim dari tanaman sehingga dapat memacu induksi dan multiplikasi tunas (Chaeruddin, 1996 dalam Kurnianingsih, 2009). BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu. Struktur kimia BAP ditunjukkan pada gambar 5 di bawah ini:



Gambar 2.5 Struktur Kimia BAP (Gardner, 1991)

Secara alami, sitokinin merupakan hormon endogen di tanaman, banyak jaringan dan organ kecil (eksplan) yang diisolasi dari tanaman ini (tanaman induk) dan dibudidayakan secara *in vitro*. Di dalam kondisi *in vitro*, eksplan ini tidak memiliki kemampuan mensintesis cukup sitokinin untuk mempertahankan

pertumbuhan mereka. Dalam penelitian kultur jaringan pada efek sitokinin, sitokinin diperlukan dalam pembelahan sel tanaman. Oleh karena itu, penambahan sitokinin dalam tingkat rendah sangat penting untuk media kultur. Efek sitokinin pada sel, jaringan dan budidaya organ bervariasi sesuai dengan sitokinin yang digunakan, konsentrasi, jenis budidaya dan jenis eksplan. BAP memiliki efek dalam merangsang pertumbuhan tunas tambahan dan adventif dan pengembangan daun dari kultur tunas pucuk (Reddy, 2014).

### 2.4.3 Giberelin

Giberelin terdiri lebih dari dua puluh senyawa (Vasil, 1998 *dalam* Saad, 20012). GAs mengatur berbagai proses perkembangan sepanjang siklus hidup tanaman, dari perkecambahan biji melalui ekspansi daun, batang perpanjangan, induksi bunga, dan pengembangan benih (Sun dan Gubler, 2004). Menurut Gardner (1991) semua organ tanaman mengandung berbagai macam GA pada tingkat yang berbeda-beda, tetapi sumber terkaya dan mungkin tempat sintesisnya ditemukan pada buah, biji, tunas, daun muda, dan ujung akar.

GA3 (asam giberelat) merupakan kelompok giberelin yang paling sering digunakan (Wattimena, 1992). Menurut Armini (1991) GA3 merupakan giberelin sintetik yang sangat aktif dan mudah ditemukan di pasaran. GA3 mempunyai berat molekul 346.38 dengan rumus molekul  $C_{19}H_{22}O_6$ .

Asam giberelat (GA3) merupakan faktor pertumbuhan yang mendorong pemanjangan, karena dapat meningkatkan pembelahan sel; juga meningkatkan pertumbuhan dan jumlah tunas, karena aksinya spesifik di area pertumbuhan aktif seperti protocorms dan akar apeks (Pierik 1990 *dalam* Coello, 2010)

Studi pensinyalan GA dalam genetik, menjelaskan terdapat komponen yang dapat memberikan sinyal negatif maupun positif. Dalam hal ini protein DELLA yang telah banyak dijelaskan, protein DELLA merupakan kelompok dari *nuclear proteins* yang terdapat pada GRAS dan berperan dalam pengaturan transkripsi dan pensinyalan respon GA. GA berperan positif dalam pertumbuhan akar dan batang pada tumbuhan (Weiss, 2007).

#### **2.4 Interaksi Antara Auksin, Sitokinin, Dan Giberelin Dalam Pertumbuhan**

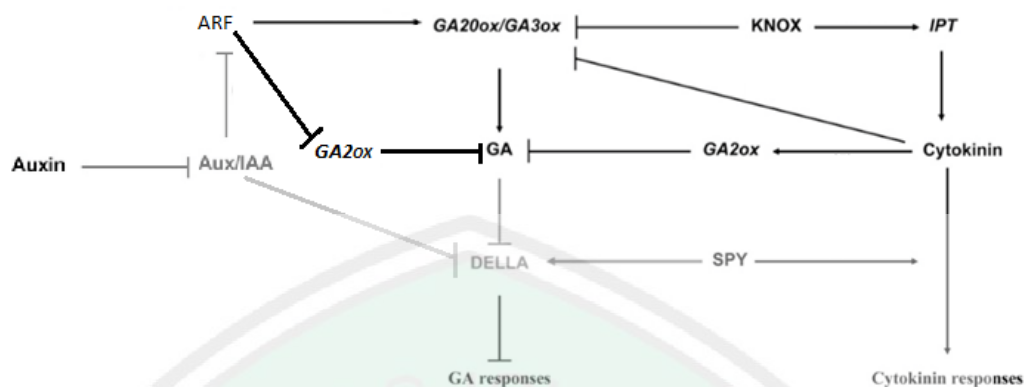
##### **PLB**

Menurut hipotesis pertumbuhan asam, auksin merangsang pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memainkan peranan dalam respon pertumbuhan sel. Pada daerah pemanjangan tunas pompa proton akan dirangsang oleh hormon sehingga menurunkan pH pada dinding sel. Pengasaman dinding sel ini dapat mengaktifkan enzim-enzim yang dapat memecahkan ikatan silang (ikatan hidrogen) yang terdapat di antara mikrofibril-mikrofibril selulosa, sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Dinding sel yang menjadi lebih plastis menyebabkan sel bebas mengambil tambahan air melalui osmosis dan bertambah panjang (Campbell dan Reece, 2009).

Secara sinergis, meningkatnya konsentrasi auksin di dalam sel merupakan stimulus untuk aktivasi sitokinin. Aktifnya sitokinin diikuti dengan aktifnya enzim yang menaikkan laju sintesis protein yang merupakan protein pembangun sel sehingga terbentuklah sel-sel baru yang pada akhirnya terdiferensiasi menjadi organ tertentu (Salisbury dan Ross, 1995). Menurut Kasli (2009) menyatakan bahwa sitokinin akan memacu peningkatan jumlah sel dengan cara berikatan pada

reseptor protein yang terdapat pada membran plasma sel target (sel meristematik). Sedangkan peningkatan aktivitas sitokinin pada zona meristem apikal, menyebabkan diferensiasi sel menjadi tunas (Schaller, 2014).

Plastisitas dinding sel yang disebabkan oleh penambahan giberelin memiliki mekanisme yang sama dengan auksin (Campbell dan Reece, 2009). Yulia (2012) menyebutkan efek giberelin menunjukkan bahwa zat tersebut berperan menginduksi pemanjangan batang melalui tiga peristiwa. Pertama, memicu pembelahan sel apeks tajuk, terutama sel meristematik yang terletak di bagian bawah, dan selanjutnya mempengaruhi sel korteks dan sel empulur (Sachs *dalam* Salisbury dan Ross, 1995). Kedua, giberelin memacu pertumbuhan sel dengan cara meningkatkan hidrolisis pati, fruktan, dan sukrosa menjadi molekul glukosa dan fruktosa (Yulia, 2012), yang berperan dalam pembentukan dinding sel. Selain itu, berperan dalam penurunan potensial air, sehingga air akan bergerak masuk lebih cepat, dan menyebabkan penambahan ukuran sel (Yulia, 2012). Hal ini terjadi karena adanya perubahan plastisitas dinding sel. Ketiga, Giberelin dapat meningkatkan pengaktifan gen dan memacu pembentukan enzim khusus yang menyebabkan berlangsungnya berbagai proses fisiologis (Salisbury dan Ross, 1995).



Gambar 2.6 Interaksi Auksin, Sitokinin dan GA (Weiss, 2007).

Interaksi antara GA dan sitokinin (Gambar 2.3) terdapat dua pengaturan utama, pertama oleh protein KNOXI yang mengontrol keseimbangan kedua hormon tersebut di dalam SAM (*Shoot Apical Meristem*) dengan menginduksi produksi sitokinin yang secara langsung menghambat pembentukan GA, atau secara tidak langsung mendorong penonaktifan GA. Yang kedua, protein SPY mengatur keseimbangan jalur respon kedua hormon melalui penekanan sinyal GA dan mendorong respon sitokinin. Sedangkan pada interaksi Auksin dan GA (Gambar 2.3), Auksin mendorong respon GA untuk menstabilkan protein DELLA dan dengan mendorong ekspresi gen pembentuk GA (Weiss, 2007).

Auksin memfasilitasi pembelahan sel dan diferensiasi akar. Auksin menginduksi pembelahan sel, perpanjangan sel, dan pembentukan kalus dalam kultur. Sitokinin menginduksi pembelahan sel dan diferensiasi. Sitokinin mempromosikan sintesis RNA dan menstimulasi aktivitas protein dan enzim dalam jaringan. Kinetin dan benzil-aminopurine adalah sitokinin yang paling sering digunakan dalam kultur sel tanaman. Giberelin terutama digunakan untuk menginduksi pembentukan planlet dari bentuk embrio adventif dalam kultur.

George (1993) menyatakan bahwa jika rasio auksin lebih rendah dari pada sitokinin maka organogenesis akan mengarah ke tunas, jika rasio auksin seimbang dengan sitokinin maka akan mengarah ke pembentukan kalus sedangkan jika rasio auksin lebih tinggi dari pada sitokinin organogenesis akan cenderung mengarah ke pembentukan akar.

Menurut George (1993) yang menyatakan bahwa jika konsentrasi auksin rendah daripada sitokinin maka organogenesis akan mengarah ke tunas, jika konsentrasi auksin seimbang dengan sitokinin maka akan mengarah ke pembentukan kalus sedangkan jika konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin organogenesis akan cenderung mengarah ke pembentukan akar.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian dilaksanakan pada bulan September-November 2016. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Jawa Timur.

#### **3.2 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Terdiri dari 3 faktor perlakuan, yaitu konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA, BAP dan GA3.

1. Faktor pertama, konsentrasi NAA (N) dengan 3 taraf, yaitu:
  - a. N1= BAP 0 mg/L
  - b. N2= BAP 1,0 mg/L
  - c. N3= BAP 2,0 mg/L
2. Faktor kedua, konsentrasi BAP (B) dengan 4 taraf, yaitu:
  - a. B1= BAP 0 mg/L
  - b. B2= BAP 1,0 mg/L
  - c. B3= BAP 3,0 mg/L
  - d. B4= BAP 5,0 mg/L
3. Faktor ketiga, konsentrasi GA3 (G) dengan 3 taraf, yaitu:
  - a. G1= IBA 0 mg/L
  - b. G2= IBA 0,1 mg/L
  - c. G3= IBA 0,2 mg/L

Pengamatan dilakukan dengan 3 ulangan. Adapun 36 kombinasi perlakuan sehingga terdapat 108 buah unit percobaan yang ditunjukkan pada Tabel 1 berikut:

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan NAA, BAP dan GA3.

ZPT		BAP			
		0 mg/L	1 mg/L	3 mg/L	5mg/L
NAA (0mg/L)	GA3 (0 mg/L)	N1G1B1	N1G1B2	N1G1B3	N1G1B4
	GA3 (0,1 mg/L)	N1G2B1	N1G2B2	N1G2B3	N1G2B4
	GA3 (0,2 mg/L)	N1G3B1	N1G3B2	N1G3B3	N1G3B3
NAA (1mg/L)	GA3 (0 mg/L)	N2G1B1	N2G1B2	N2G1B3	N2G1B4
	GA3 (0,1 mg/L)	N2G2B1	N2G2B2	N2G2B3	N2G2B4
	GA3 (0,2 mg/L)	N2G3B1	N2G3B2	N2G3B3	N2G3B4
NAA (2mg/L)	GA3 (0 mg/L)	N3G1B1	N3G1B2	N3G1B3	N3G1B4
	GA3 (0,1 mg/L)	N3G2B1	N3G2B2	N3G2B3	N3G2B4
	GA3 (0,2 mg/L)	N3G3B1	N3G3B2	N3G3B3	N3G3B3

**Keterangan:** Kontrol adalah perlakuan dengan kombinasi penambahan zat pengatur tumbuh NAA 0 mg/L + BAP 0 mg/L + GA3 0 mg/L (N1B1G1).

### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat dan 3) variabel terkendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi NAA, BAP dan GA3. Variabel terikat dalam penelitian merupakan variabel yang dapat diukur, yaitu: hari tumbuhnyatunas PLB, jumlah rata-rata tunas PLB.

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1. Alat-alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, cawan petri, magnetik strirer, botol kultur dan tutup botol, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), LAF (*Laminar air flow*), timbangan analitik, pipet, alat sterilisasi (autoklaf, lampu spiritus, dan penyemprot alkohol), PH meter, rak kultur, kertas label, kertas, plastic, karet, *hot plate*, *magnetic stirrer*, tisu, aluminium foil, *wrapping plastic*.

#### 3.4.2. Bahan-bahan

Bahan penelitian meliputi eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah PLB anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*, media MS, agar, gula, NAA, BAP, GA3, 0,1 HCl, 0,1 NaOH, alkohol 70%, spiritus, dan akuades.

### 3.5 Langkah Kerja

#### 3.5.1 Sterilisasi Alat

1. Alat-alat *dissecting set* (scalpel, pinset, gunting), alat-alat gelas dan logam dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air bersih beberapa kali dan kemudian dikeringkan.
2. Alat-alat logam ditutup *wrap*, sedangkan alat-alat gelas dan cawan petri dibungkus dengan plastik besar, kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121<sup>0</sup>C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.
3. Kemudian alat-alat *dissecting set* (scalpel, pinset, gunting) disterilisasi dengan alkohol 96 % dan dibakar dengan nayala api spiritus setiap kali akan digunakan di LAF.

### 3.5.2 Pembuatan Media Perlakuan ( Media ½ MS)

1. Ditimbang media MS (*half strength*) sebanyak 2,215 gr dan gula sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam gelas beaker.
2. Ditimbang agar sebanyak 7 gr dan dimasukkan ke dalam gelas beaker.
3. Ditambahkan aquades sampai 1000 ml, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*.
4. Ditambahkan ZPT NAA, BAP dan GA3 sesuai perlakuan dan dihomogenkan
5. Diukur pH larutan media dengan pH meter, yaitu 5,6 - 5,8. Penurunan dan peningkatan pH dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes HCl 0,10 N dan NaOH 0,10 N.
6. Dipanaskan dengan kompor dan diaduk hingga mendidih serta homogen.
7. Media yang telah mendidih dituang ke dalam botol kultur ± 10 ml, kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet serta di beri kertas label. Sterilisasi media dilakukan dalam autoklaf pada tekanan 17,50 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit

### 3.5.5 Sterilisasi Ruang Tanam

Meja LAF (*Laminar Air Flow*) disemprot dan dibersihkan dengan alkohol 96 % terlebih dahulu, kemudian dinyalakan sinar UV selama 1 jam. Setelah 1 jam dimatikan sinar UV, dihidupkan blower. Kemudian alat-alat yang dimasukkan ke dalam LAF disemprot alkohol 70 % terlebih dahulu.

### 3.5.6 Induksi PLB (Subkultur)

Diambil bagian PLB dari botol anggrek *Cattleya hybrida* (*Brassocattleya* Mount Anderson) pada cawan petri, kemudian PLB dipisah untuk dilakukan penanaman ke dalam media botol kultur yang sudah diberi perlakuan oleh berbagai kombinasi konsentrasi ZPT. Kemudian dilanjutkan dengan pemeliharaan PLB anggrek *Cattleya hybrid* (*Brassocattleya* Mount Anderson).

### **3.5.7 Tahap Pemeliharaan**

Botol-botol yang telah terisi eksplan diletakkan dalam rak kultur dan disemprot dengan alkohol 70% setiap 3 hari sekali. Kondisi lingkungan pemeliharaan menggunakan suhu 20-25<sup>0</sup>C dan menggunakan pencahayaan 2000 LUX. Setiap harinya mendapatkan 8 jam kondisi gelap dan 12 jam kondisi terang.

### **3.5.8 Pengamatan**

#### **3.5.8.1 Hari munculnya tunas**

Pengamatan dilakukan setiap hari. Kecepatan tumbuh diukur dengan melihat munculnya tunas pertama dan organogenesis pada media perlakuan.

#### **3.5.8.2 Jumlah tunas**

Kriteria jumlah tunas yang dihitung adalah semua tunas PLB yang tumbuh. Dilakukan pada akhir pengamatan (Hari ke-60)

### **3.6 Analisis Data**

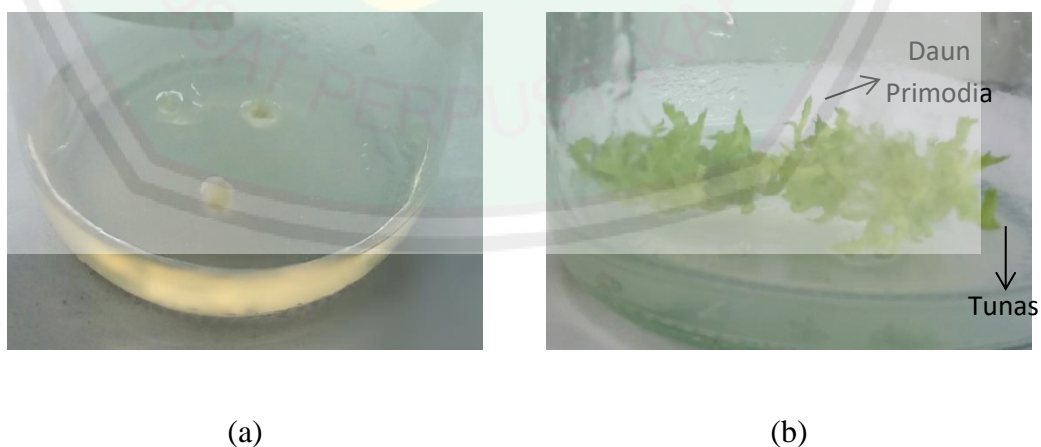
Data pengamatan berupa data kuantitatif dan kualitatif. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan (data kuantitatif) dilakukan analisis ANOVA tiga jalur menggunakan SPSS 16.0 bila terdapat perbedaan nyata maka dilakukan uji Duncan multiple range test (DMRT) 5 % untuk mengetahui konsentrasi kombinasi ZPT terbaik.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Kombinasi NAA, GA3 dan BAP terhadap Hari Tumbuhnya Tunas Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.

Munculnya tunas (dengan daun primordia) merupakan salah satu indikator untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan eksplan PLB *Brassocattleya* Mount Anderson yang pada saat penanaman masih pada fase 1 yaitu berupa massa sel derivat *protocorm*. PLB tersebut akan tumbuh dan berkembang memasuki fase 2 dimana PLB tersebut menjadi tunas. Pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP pada masing-masing media perlakuan pertumbuhan PLB menunjukkan respon perkembangan fase 2 yaitu munculnya tunas dengan waktu yang berbeda. Hasil Penelitian kecepatan munculnya tunas PLB menunjukkan adanya tonjolan berwarna kehijauan yaitu tunas dan munculnya primordia daun atau daun muda pada PLB, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 (a) eksplan PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson. (b) Tonjolan tunas dan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson berdaun primordia setelah inkubasi selama 60 hari dari perlakuan N2G2B1.

Gambar 4.1 menunjukkan tonjolan tunas apikal pada permukaan PLB. Tunas apikal merupakan jaringan-jaringan meristem yang belum terdiferensiasi, meskipun begitu meristem-meristem tersebut memiliki identifikasi dan stabilitas struktural yang spesifik (Peres, 1999). Terjadinya pertumbuhan tunas PLB diakibatkan adanya aktivitas sel-sel meristematis yang mengalami pembelahan sel dan perpanjangan sel yang berdiferensiasi menjadi tunas. Pembentukan tunas melalui PLB dimulai dari perkembangan protoderm pada lapisan subepidermal, yang kemudian membentuk primodium (bakal daun pertama) (Park dkk, 2003). Hal ini disebabkan adanya ketepatan pemberian ZPT dalam media  $\frac{1}{2}$  MS dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.

Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan kecepatan (hari) munculnya tunas PLB bervariasi pada setiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data rerata hari munculnya tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson normal ( $p=0,2$ ) dan homogen ( $p=0,084$ ) (lampiran 01) sehingga dapat dilakukan uji statistik ANOVA tiga jalur. Ringkasan uji ANOVA tiga jalur pengaruh pemberian kombinasi hormon NAA, GA3 dan BAP terhadap kecepatan pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson secara *in vitro* ditunjukkan pada tabel 4.1.

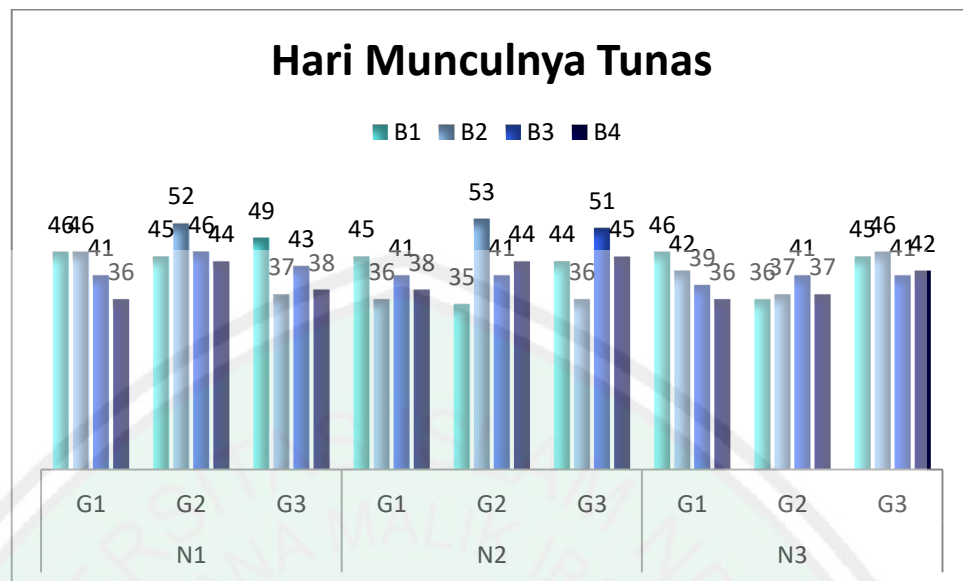
Tabel 4.1 Ringkasan Uji ANOVA tiga jalur pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP terhadap Hari Tumbuhnya tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson

Sumber Keragaman (SK)	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	F <sub>hitung</sub>	Sig.
Model koreksi	2492.991	35	71.228	1.008	.476
Intersep	192111.343	1	192111.343	2718.201	.000
NAA	161.463	2	80.731	1.142	.325
GA3	73.185	2	36.593	.518	.598
BAP	200.324	3	66.775	.945	.424
NAA*GA3	391.759	4	97.940	1.386	.247
NAA*BAP	208.093	6	34.682	.491	.813
GA3*BAP	765.259	6	127.543	1.805	.110
NAA*GA3*BAP	692.907	12	57.742	8.17	.632
Galat	5088.667	72	70.676		
Total	199693	108			
Total Koreksi	7581.657	107			

Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA tiga jalur di atas tentang pemberian kombinasi hormon NAA, GA3 dan BAP terhadap kecepatan pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson menunjukkan nilai model koreksi Sig > 5 % yakni 0,476, sehingga H<sub>0</sub> diterima. Nilai signifikansi pada model koreksi tersebut menunjukkan semua variabel independen (NAA, GA3 dan BAP atau NAA\*GA3, NAA\*BAP, PAB\*GA3 dan NAA\*GA3\*BAP) secara tunggal maupun bersama-sama memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap variabel dependen yaitu kecepatan pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson secara *in vitro*. Karena nilai model koreksi Sig > 5 %, maka kecepatan pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson secara *in vitro* tidak dilakukan uji lanjut. Meskipun dalam hal ini, masing-masing perlakuan kombinasi NAA, BAP dan GA3 pada media ½ MS

dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Hal ini mungkin disebabkan, karena perbedaan hormon endogen yang terkandung dalam eksplan mencapai taraf interaksi yang tepat dengan hormon eksogen pada masing-masing media perlakuan, sehingga menunjukkan perubahan fisiologis munculnya tunas yang hampir sama.

Berdasarkan nilai angka rerata hari munculnya tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson perlakuan N2G2B1 (1 mg/l NAA + 0,1 mg/l GA3 + 0 mg/l BAP) menunjukkan pertumbuhan tunas tercepat, yaitu terjadi pada hari ke-35 jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (tanpa pemberian hormon) yang baru dapat menumbuhkan tunas pada hari ke-46 (Gambar 4.2 dan lampiran 01). Hal ini mengindikasikan adanya aktifitas pembentukan jaringan dan organ tanaman. Pemberian kombinasi hormon NAA dan GA3 dalam jumlah rendah mampu mempercepat pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson secara *in vitro*. Seperti diketahui, GA3 dan auksin mempengaruhi aktifitas dan pembelahan sel (Sutisna, 2010). Auksin juga terkait dengan hormon lain dalam meristem tunas, yaitu giberelin (GA) (Vernoux, 2010). Adapun rerata hari munculnya tunas dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Diagram Hari Munculnya Tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.

Gambar 4.2 di atas menunjukkan diagram rerata yang berbeda antar berbagai perlakuan. Selain pertumbuhan tunas tercepat, hasil rerata tersebut juga menunjukkan perlakuan (0 mg/l NAA + 0 mg/l GA3 + 5 mg/l BAP) efektif mempercepat munculnya tunas PLB dalam 36 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian hormon BAP dalam jumlah tinggi secara mandiri sudah cukup untuk mempercepat pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson. Mok (2001 dalam Ashraf, 2014) menyatakan sitokinin memiliki peran besar pada perkembangan tanaman, seperti regulasi pembentukan tunas, multiplikasi dan mendorong pembelahan sel, hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini. Diperkuat juga oleh pernyataan George (1993) yang menyatakan bahwa BAP meningkatkan pembentukan tunas.

Sedangkan pada perlakuan N2G2B2 (1 mg/l NAA + 0,1 mg/l GA3 + 1 mg/l BAP) menumbuhkan tunas secara lambat yaitu dalam 53 hari. Hal ini diduga terjadi karena tanaman tidak responsif dengan penambahan hormon pada

konsentrasi tersebut. Selain itu perlakuan yang menunjukkan pertumbuhan tunas secara lambat atau melebihi waktu dari perlakuan kontrol rata-rata terjadi pada perlakuan penambahan GA3 dengan konsentrasi tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan GA3 dengan konsentrasi tinggi bersifat menghambat. Pada saat konsentrasi hormon yang diberikan terus meningkat, pertumbuhan tanaman akan mulai menurun, karena hormon yang diberikan menjadi bersifat menghambat.

Mekanisme penghambatan GA3 ini terjadi karena adanya pengaturan umpan balik (feedback control). Taiz dan Zeiger (1998) menjelaskan bahwa pemberian GA3 yang tinggi akan menyebabkan terjadinya penurunan transkripsi GA20 oksidase. GA20 oksidase merupakan target utama dalam pengaturan umpan balik. Apabila transkripsi GA20 oksidase menurun, maka akan terjadi pengeblokan biosintesis GA3, yang akan menyebabkan aktivitas GA3 menjadi menurun.

Khryanin (1987) menyatakan bahwa fase pertumbuhan tanaman berhubungan erat dengan kondisi hormon dalam tanaman. Kondisi hormon ini mencakup keberadaan atau sintesis suatu hormon dan perimbangan akumulasi hormon-hormon tersebut pada suatu arah pertumbuhan atau perkembangan tertentu serta pengaruhnya terhadap keberadaan pengatur tumbuh eksternal. Menurut Suhentaka dan Sobir(2010), tanaman yang berbeda dapat merespon hormon dalam berbagai konsentrasi secara berbeda pula. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kandungan konsentrasi hormon endogen tanaman itu sendiri.

#### 4.2 Pengaruh Kombinasi NAA, GA3 dan BAP terhadap Jumlah Tunas Anggrek *Brassocattleya Mount Anderson*.

Pemberian kombinasi NAA, GA3 dan BAP pada media  $\frac{1}{2}$  MS memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya Mount Anderson* pada 60 HST (hari setelah tanam). Penghitungan jumlah tunas dilakukan pada keseluruhan PLB yang bertunas pada masing-masing ulangan setiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas (Lampiran 01) menunjukkan sebaran data normal ( $p = 0.408$ ) dan homogen ( $p = 0.094$ ), sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil pengamatan jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya Mount Anderson* dengan menggunakan uji ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan Uji ANOVA tiga jalur pengaruh Pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek *Brassocattleya Mount Anderson*

Sumber Keragaman (SK)	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	F <sub>hitung</sub>	Sig.
Model koreksi	2663.519	35	76.101	2.284	.002
Intersep	10521.815	1	10521.815	315.830	.000
NAA	207.796	2	103.898	3.119	.050
GA3	27.241	2	13.620	.409	.666
BAP	300.630	3	100.210	3.008	.036
NAA*GA3	566.148	4	141.537	4.248	.004
NAA*BAP	690.426	6	115.071	3.454	.005
GA3*BAP	428.537	6	71.423	2.144	.059
NAA*GA3*BAP	442.741	12	36.895	1.107	.368
Galat	2398.667	72	33.315		
Total	15584	108			
Total Koreksi	5062.185	107			

Berdasarkan hasil uji statistik pemberian zat pengatur tumbuh NAA, GA3 dan BAP terhadap jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson menggunakan ANOVA tiga jalur, menunjukkan nilai model koreksi Sig. < 5 % yakni Sig. 0.002, sehingga H1 diterima. Hal ini menunjukkan variabel independen memiliki pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson, yaitu pada variabel NAA, BAP, NAA\*GA3 dan NAA\*BAP. Berdasarkan hal tersebut, maka analisis beberapa variabel independen lain perlu dikaitkan.

Sedangkan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range*) taraf 5%. Hanafiah (2012) menyatakan Uji Duncan dilakukan jika nilai KK (Koefisien Keragaman) besar (minimal 10% kondisi homogen dan minimal 20% kondisi heterogen). Nilai KK (Lampiran 01) pada penelitian ini sebesar 58.5%. Hasil uji DMRT  $\alpha$  5% untuk NAA dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 : Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian konsentrasi NAA terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek *Cattleya* hybrid (*Brassocattleya* Mount Anderson) pada taraf uji 5%

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
NAA 2 mg/L	8.33	a
NAA 0 mg/L	8.67	ab
NAA 1 mg/L	22.33	b

Penelitian ini menunjukkan hasil dengan pemeberian 1 mg/l NAA jumlah tunas PLB *Brassocattleya* Mount Anderson telah mencapai pertumbuhan maksimal, sedangkan pada konsentrasi 2 mg/l NAA menunjukkan penurunan pertumbuhan jumlah tunas PLB *Brassocattleya* Mount Anderson. Hal ini

dikarenakan untuk perbanyakkan tunas dibutuhkan NAA dalam konsentrasi rendah dan perimbangannya dengan ZPT lain juga mempengaruhi. Konsentrasi auksin yang relatif lebih rendah dibandingkan konsentrasi sitokinin dapat memacu pertumbuhan tunas (Gunawan, 1995). Bhojwani *dalam* Karjadi (2007) menambahkan Auksin dalam jumlah tinggi bersifat menghambat pembentukan tunas dan daun.

Davies (1995) menyatakan bahwa pemberian NAA pada media kultur menyebabkan pembelahan sel pada permulaan kultur berjalan lambat, akan tetapi populasi sel tetap dijaga dan kemudian jumlahnya ditingkatkan. Hormon auksin akan menginduksi sekresi ion  $H^+$  keluar sel melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan  $K^+$  diambil dan pengambilan ini mengurangi potensial air dan sel, akibatnya air masuk ke dalam sel dan sel membesar. Auksin juga mempengaruhi metabolisme RNA yang juga berarti metabolisme protein melalui transkripsi (Gunawan 1988).

Tabel 4.4 : Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian konsentrasi BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson pada taraf uji 5%

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
BAP 1 mg/L	7.33	a
BAP 3 mg/L	8	ab
BAP 0 mg/L	8.67	ab
BAP 5 mg/L	9.67	b

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa penambahan hormon BAP dengan konsentrasi tinggi (BAP 5 mg/L) merupakan perlakuan terbaik untuk meningkatkan jumlah pertumbuhan tunas PLB *Brassocattleya* Mount Anderson, yaitu dapat meningkatkan hingga 9.67 jumlah tunas. Hal ini membuktikan bahwa

sitokinin memiliki kemampuan dalam pembelahan sel terutama pembentukan tunas. Pembelahan sel yang terus menerus mengakibatkan peningkatan jumlah sel, dengan banyaknya jumlah sel tersebut juga akan memacu terbentuknya jumlah tunas yang banyak. Sesuai dengan pernyataan Suryowinoto (1996) bahwa BAP merupakan ZPT golongan sitokinin yang berperan dalam menstimulasi pembelahan sel dan menginduksi pembentukan tunas. Salisbury dan Ross (1995) menambahkan Pada konsentrasi BAP yang terlalu tinggi, kemungkinan eksplan lebih mengarah pada multiplikasi tunas dibandingkan untuk pertumbuhan tunas. Mok (2000) melaporkan bahwa *6-benzyl aminopurine* (BAP) adalah sitokinin tipe adenin yang meningkatkan pembelahan sel dan pembesaran sel pada kultur tanaman. Lakitan (1996) menambahkan bahwa sitokinin akan merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein.

Tabel 4.5 : Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian konsentrasi NAA dan GA3 terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson pada taraf uji 5%

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
2 mg/l NAA + 0 mg/l GA3	6.67	a
2 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3	7.67	a
1 mg/l NAA + 0.2 mg/l GA3	7.67	a
2 mg/l NAA + 0.2 mg/l GA3	8.33	a
2 mg/l NAA + 0.2 mg/l GA3	8.33	a
0 mg/l NAA + 0 mg/l GA3	8.67	a
2 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3	11.67	a
1 mg/l NAA + 0 mg/l GA3	22.33	b
1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3	28.33	b

Penelitian ini menunjukkan kombinasi NAA dan GA3 masing-masing dengan konsentrasi rendah 1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3 (N2G2) merupakan kombinasi yang baik untuk menumbuhkan tunas PLB anggrek *Brassocattleya*

Mount Anderson, hal ini dapat dilihat pada tabel 4.5. Sedangkan kombinasi NAA dengan GA3 dalam konsentrasi tinggi menunjukkan hasil yang kurang baik. Berdasarkan pada penelitian ini dapat diketahui bahwa perlakuan G2N2B1 (1 mg/l NAA+ 0.1 mg/l GA3 + 0 mg/l BAP) merupakan kombinasi hormon yang paling cocok ditambahkan ke dalam media, baik untuk kecepatan pertumbuhan tunas maupun perbanyak jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.

Penelitian pada anggrek *Cattleya* yang lain juga menunjukkan GA3 bersama NAA memberikan pengaruh positif terhadap tahap awal pertumbuhan *Cattleya mendelii* and *Cattleya quadricolor* yang diinkubasi dalam media ½ MS (Santos-Hernández dkk. 2005). Begitu pula pada penelitian terhadap *Cattleya skinneri* pemberian GA3 dan auksin dengan media ½ MS dapat meningkatkan induksi tunas dan akar (Coello, 2010). Perkembangan vegetatif tanaman tergantung pada pembelahan, pembesaran dan diferensiasi sel. Adapun pengaruh giberelin terhadap pertumbuhan vegetatif adalah merangsang aktifitas pembelahan sel pada daerah meristem batang dan kambium, disamping itu giberelin juga merangsang aktifitas pembelahan sel sehingga dapat mempercepat tumbuhnya batang dan daun pada tanaman (Kusumo, 1984).

Giberelin menyebabkan sintesis  $\alpha$ -amilase, yaitu enzim yang menghidrolisis rantai pati menjadi glukosa. Glukosa ini kemudian diglikolisis menjadi piruvat dan setelah melalui siklus krebs menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Energi inilah yang kemudian digunakan dalam pertumbuhan (Ratnasari, 2010). Selain itu Giberelin dapat meningkatkan pengaktifan gen dan

memacu pembentukan enzim khusus yang menyebabkan berlangsungnya berbagai proses fisiologis (Salisbury dan Ross, 1995). Secara sinergis, pengaktifan GA3 pada suatu jaringan juga diiringi oleh aktifnya auksin dan sitokinin. Paramartha (2012) menyatakan salah satu fungsi auksin pada pertumbuhan daun adalah membantu perkembangan jaringan meristem calon daun.

Tabel 4.6 : Hasil Uji DMRT pengaruh pemberian kombinasi NAA dan BAP terhadap Jumlah Tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson pada taraf uji 5%

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	5	a
2 mg/l NAA + 0 mg/l BAP	6.67	a
0 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	7.33	a
0 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	8	ab
0 mg/l NAA + 0 mg/l BAP	8.67	ab
0 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	9.67	ab
1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	10	ab
2 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	10.33	ab
2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	10.67	ab
1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	11.67	ab
1 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	13.33	ab
1 mg/l NAA + 0 mg/l BAP	22.33	b

Tabel 4.6 menunjukkan untuk kombinasi NAA dan BAP, perlakuan N2B1 (1 mg/L NAA + 0 mg/L BAP) merupakan perlakuan terbaik dalam pertumbuhan jumlah tunas PLB anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson, yaitu dapat meningkatkan hingga 22.33 jumlah tunas. Pada hasil penelitian lain pada *protocorm Cattleya*, Larventyeva (2007) menyatakan media optimum untuk proliferasi adalah media MS yang dimodifikasi dengan penambahan 5 mg/L BAP, 2 mg/L NAA. Davies (1995) menyatakan Perbedaan jumlah tunas yang terbentuk

pada tiap perlakuan dipengaruhi oleh kombinasi hormon sitokinin dan NAA pada konsentrasi yang berbeda.

BAP berfungsi memacu pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan dan memacu pertumbuhan tunas, sedangkan NAA berfungsi dalam menginduksi pemanjangan sel, mempengaruhi dominasi apikal, penghambatan pucuk aksilar dan adventif, serta inisiasi pengakaran (Wattimena, 1992).

Interaksi antara auksin dengan sitokinin akan menentukan arah diferensiasi jaringan, tergantung dari kombinasi konsentrasi kedua senyawa. Apabila auksin dalam konsentrasi tinggi sedangkan konsentrasi sitokininnya rendah maka akan meningkatkan pertumbuhan akar. Sebaliknya jika konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi konsentrasinya maka akan terbentuk banyak tunas. Namun, bila konsentrasi kedua senyawa dalam keadaan yang setimbang maka kemungkinan hanya akan terbentuk kalus tanpa diferensiasi lanjut (Wattimena, 1992). Dengan adanya pemberian sitokinin dan auksin dalam bentuk BAP dan NAA ke dalam media menyebabkan diferensiasi sel ke arah pembentukan organ dan jaringan menjadi lebih terarah.

Winarsih dan Priyono (2000) menyatakan bahwa kombinasi perlakuan sitokinin dan auksin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Hasil penelitian Silalahi (2008) menunjukkan bahwa BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada kultur angrek hitam. Interaksi antara hormon akan menentukan arah diferensiasi jaringan, tergantung dari kombinasi konsentrasi senyawa hormon. Sebagaimana firman Allah dalam al-Quran surat al Qamar (54) ayat 49,

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran” (Al-Qamar:49).

Menurut Muhammad (2010), kalimat (خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ) “Kami menciptakannya menurut ukuran”, yakni sesuai dengan taqdir. Ibnu Katsir menjelaskan Allah menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut (Katsir, 1988). Kata (قدر) bermakna ketentuan, dari segi bahasa kata tersebut bermakna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat di atas membicarakan bahwa segala sesuatu termasuk ketentuan dan sistem yang ditetapkan adalah kekuasaan dari Allah SWT dan tidak hanya terbatas pada salah satu aspek saja. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk memberi potensi yang sesuai dan dengan kadar yang cukup untuk melakukan fungsinya yang bertujuan untuk mempertahankan satu keseimbangan (Shihab, 2002).

Pemberian kombinasi dan konsentrasi yang tepat mampu memperbanyak dan mempercepat terjadinya induksi tunas. Induksi tunas terjadi melalui peristiwa diferensiasi sel yaitu sel yang sudah mencapai volume akhirnya menjadi terspesialisasi dengan cara tertentu (Salisbury dan Ross, 1995). Aktivitas sel-sel meristematik yang mengalami pembelahan sel dan perpanjangan sel tersebut pada akhirnya mengalami differensiasi menjadi tunas, hal ini mendorong terbentuknya tunas PLB. Semakin sering sel-sel meristematik tersebut membelah dan mengalami perpanjangan sel, maka tunas yang terbentuk akan semakin banyak.

Dimana tunas-tunas tersebut yang kemudian membentuk primodium (bakal daun pertama).



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian pertumbuhan *Protocorm like Bodies* (PLB) menggunakan kombinasi NAA (*Naphtaleneacetic Acid*), GA3 (*Giberelic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) dan pada media ½ MS (*Murashige and Skoog*) secara *in vitro* maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perlakuan N2G2B1 (1 mg/l NAA+ 0.1 mg/l GA3 + 0 mg/l BAP) merupakan kombinasi hormon yang paling cocok ditambahkan ke dalam media untuk kecepatan pertumbuhan tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.
2. Perlakuan 1 mg/l NAA dan 0 mg/l GA3 atau kombinasi 1 mg/l NAA dan 0.1 mg/l GA3 merupakan perlakuan yang dapat menghasilkan jumlah tunas PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson lebih banyak.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut penggunaan NAA dan GA3 terhadap PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson sampai pada tahap pertumbuhan daun dan perakaran. Sedangkan untuk mengetahui pengaruh penggunaan hormon NAA dan GA3 yang tepat, maka perlu didesain ulang konsentrasi yang digunakan dalam pertumbuhan PLB Anggrek *Brassocattleya* Mount Anderson.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *in vitro*. Skripsi program studi hortikultura Fakultas pertanian Institut pertanian bogor
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In vitro*. Skripsi Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Andri, Kuntoro Boga dan Willem J.F. Alfa Tumbuhan, 2015. Potensi Pengembangan Agribisnis Bunga Angrek Di Kota Batu Jawa Timur. *Jurnal LPPM Bidang EkoSosBudKum* Volume 2 Nomor 1
- aos.org diakses pada 10/05/2015 1:28
- Arditti, J. 1977. Clonal Propagation of Orchids By Means of Tissue Culture: A Manual. In: J. Arditti (Ed.), *Orchid Biology: Reviews And Perspectives I*, pp. 203-293. *Cornell University Press*, New York, USA
- Armini, A.N. M., Wattimena dan Gunawan L.W., 1991. Perbanyak Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan. *Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. Institut Pertanian Bogor.
- Ashraf, Mehdi F., Maheran Abd Aziz, Nurashikin K., Ismanizan I. 2014. Effect of Cytokinin Types, Concentrations and Their Interactions on *In vitro* Shoot Regeneration of *Chlorophytum borivilianum* Sant. & Fernandez. *Electronic Journal of Biotechnology* 17 (2014) 275–279
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Angrek*. Departemen Pertanian.
- Bey, Y., W. Syafii, dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) dan Air Kelapa terhadap Perkecambahan Bahan Biji Angrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *In vitro*. *Jurnal Biogenesis*. 2 (2): 41-46 2006
- Campbell, N. A. dan J. B. Reece. 2009. *Biology Jilid 3*. Jakarta: Erlangga
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Mitchell, L.G. 2002. *Biologi*. Alih bahasa lestari, R. safitri, A., Simarmata, L., Hardani, H.W. (eds). Jakarta: Erlangga
- Coello, Christian Y., Clara Luz M., Carolina O., Luc D. & Federico Antonio G. 2010. Plant growth regulators optimization for *in vitro* cultivation of the

- orchid *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressier & W.E.Higgins. *Gayana Bot.* 67(1): 19-26, 2010. ISSN 0016-5301
- Daniel Lineberger R. 2009. *In vitro culture of dog ride grapevine*. Office of Undergraduate Research Texas A and M University. pp. 1-35.
- Davies, J.P. 1995. Plant hormone: their nature, occurrence and function. In: P.J. Davies (ed.): *Plant Hormones: Phisiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. *Kluwer Academic Publisher*. Boston
- Debergh P.C. and P.E. Read. 1991. *Micro propagation*. In: Debergh PC and Zimmerman RH. The Netherlands: Kluwer Acad. Publ. pp. 1-13.
- Diaz - Alvarez, Edison A., C. Torres-Galeano, Á. P. Rojas-Cortés & E. De La Barrera. 2015. *In vitro germination and development of two endangered endemic Colombian orchids Cattleya mendelii and Cattleya quadricolor*. *Gayana Bot.* 72(2): 213-220. ISSN 0016-5301
- Dressler, Robert. L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press
- Fordyce, Frank. 1968. Brassocattleyas: Hybridizer's Viewpoint. *Orchid Digest*. vol. 32/3
- Gardner, F. B., R.B. Pearce dan R. Mitchell, 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Terjemahan H. Susilo dan Subiyanto. UI Press: Jakarta.
- George E. F. 1993. *Plant propagation by tissue culture. Part I*. Edington: The Technology Exegetics Ltd
- George, E. F., M. A. Hall, Geert-Jan De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*, 175–204. Springer
- Gunadi, T. 1977. *Kenal Anggrek*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Gunadi, T. 1985. *Anggrek Untuk Pemula*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik kultur jaringan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur Invitro Dalam Holtikultura* . Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan, L.W. 2005. *Budidaya Anggrek. Seri Agrihobi*. Edisi Revisi. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hawkes, A. D. 1965. *Encyclopedia of Cultivated Orchids*. Faber . London. Diakses online : <http://books.google.co.id>
- Hendaryono, D. P. 1994. *Teknik Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modern)*. Kanisius : Yogyakarta

- Hendaryono, D. P.S., dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius, Yogyakarta
- Hoesen, D., S. Hazar, Priyono dan H. Sumarnie. 2010. Peranan zat pengatur tumbuh IBA, NAA, dan IAA pada perbanyakan Amaris Merah (*Amaryllidaceae*). *Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional. Lab Treub Balitbang Botani Puslitbang Biologi, LIPI Bogor*.
- Islam, Md. Nurul. 2005. In vitro growth and multiplication of a hybrid orchid (*Dendrobium alba x Ascanda dongtarm*) with different concentration of plant growth regulators. *Journal of Bioscience and Agriculture Research (JBAR)*. Published online: 09.05.2014, Vol. 1 (01): 27-33, 2014
- Iswanto, H. 2010. *Petunjuk Praktis Merawat Angrek*. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Kasli. 2009. Upaya Perbanyakan Tanaman Krisan (*Crysanthemum sp.*) secara *in vitro*. *Jerami*, 2 (3), 121-125.
- Katsir, I. 1988. *Tafsir Ibnu Katsir*. Surabaya: Bina Ilmu
- Khairunisa, R. 2009. Penggunaan Beberapa Jenis Sitokinin Terhadap Multiplikasi Tunas Dan Pertumbuhan Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten.] Steenis) Secara *In vitro*. *Institut Pertanian Bogor*. Bogor.
- Khryanin, V.N. 1987. Hormonal regulation of sex expression in plants. p. 117-132. In S.S. Purohit (Ed.). *Hormonal Regulation of Plant Growth and Development*. Martinus Nijhoff Publ. Kluwer Academy, Boston
- Kurnianingsih, R., Marfuah, Ikhsan Matondong. 2009. Pengaruh Pemberian BAP (6-Benzyl Amino Purin) pada Multiplikasi Tunas *Anthurium hookerii* Kunt. Enum. Secara *In vitro*. *Jurnal Vis Vitalis*. Vol 02. No 2.
- Kusumo, S.1984. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Jakarta: Yasaguna.
- Larventyeva, Alla M dan Roman V. Ivannikov. 2007. *In vitro* propagation Of *Cattleya lindl.* And *Laelia lindl.* Species. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, vol. 7, núm. 1-2, marzo, 2007, pp. 147-149 Universidad de Costa Rica
- Lighthipe, Mindy. 2012. *Drawing The Beautiful of Nature*. [tp://www.mindylighthipe.com/portfolio/bodacious-cattelaya/](http://www.mindylighthipe.com/portfolio/bodacious-cattelaya/)
- Manzhur, Ibnu. 1999. *Lisanul aroby*. Beirut: Dar Shadir

- Mudyantini, Widya. 2001. Pemberian Zat Pengatur Tumbuh GA dan NAA terhadap Pembungaan pada Mawar (*Rosa hybrida* Hort.). *BioSMART. Volume 3, Nomor 1*. ISSN: 1411-321X
- Muhammad, Al-Imam Jalaluddin. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba.
- Murashige T, Skoog F. A. 1962. revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*; 15:473–97. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nurfadilah, Siti. 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
- Paciorek, Tomasz dan Jir'ı Friml. 2006. Auxin signaling. *Journal of Cell Science* (119, pp. 1199-1202)
- Pandiangan, Samse dan Tiurmaida Nainggolan. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin Ga3 Dan Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Planlet Tanaman Anggrek *Dendrobium Sp.* Secara *In vitro*. *Jurnal Komunikasi Penelitian* Vol 18(2) 2006
- Paramartha, Aisya I., Dini E. dan Siti N. 2012. Pengaruh Penambahan Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium Taurulinum* J.J Smith Secara *In vitro*. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS Vol. 1, No. 1, (Sept. 2012) ISSN: 2301-928X*
- Park, S.Y., H.N. Murthy, and K.Y. Paek. 2003. Protocorm-like Body Induction and Subsequent Plant Regeneration from Root Tip Cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science*. 164: 919-923.
- Peres LEP, Amar S, Kerbaui GB, Salatino A, Zaffari GR & Mercier H (1999) Effects of auxin, Cytokinin And Ethylene Treatments On The Endogenous Ethylene And Auxin-To-Cytokinins Ratio Related To Direct Root Tip Conversion Of *Catasetum fimbriatum* Lindl (Orchidaceae) Into Buds. *J. Plant Physiol*. 155: 551–555
- Pierik, R.I.M., 1987. *In vitro Culture of Higepr Plants*. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht.
- Ploughman, Terry. 2007. *Understanding Orchid*. Dipublikasikan secara online <http://www.ebookwholesaler.net/terms.php>
- Prizão, E. C. Letícia de Menezes G., Maria A. M. G., Claudete A. M. and Maria de Fátima Pires da Silva Machado. 2012. Activated Charcoal And Graphite for The Micropropagation of *Cattleya bicolor* Lindl. and a orchid double-hybrid 'BLC Pastoral Innocence'. *Acta Scientiarum*. v. 34, n. 2, p. 157-161, Apr.-June, 2012. *Agronomy*. Maringa

- Purwanto, A. dan E. Semiarti. 2009. *Pesona Kecantikan Anggrek Vanda*. Yogyakarta: Kanisius.
- Qurthubi. Abdullah bin Muhammad bin Ahmad al-Anshari. 1995. *al-Jami' li Ahkam al-Qur'an*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Rahmatia D, Pitriana P. 2007. *Pengayaan Seri Flora dan Fauna 'Bunga Anggrek'*. Jakarta: Ganesha Ecxact
- Reddy, Devi Reddy Dharaneeswara dkk. 2014. Effects Of 6-Benzyl Amino Purine (6-Bap) On *In vitro* Shoot Multiplication Of Grand Naine (*Musa Sp.*). *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. ISSN 0976-2612, Online ISSN 2278-599X, Vol5, Issue1, 2014, pp 36-42
- Rego-Oliveira, L. V.; Faria, R. T. 2005. *In vitro* propagation of Brazilian orchids using traditional culture media and commercial fertilizers formulations. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 27, n. 1, p. 1-5,
- Saad, Abobkar I. M. dan Ahmed M. Elshahed. 2012. Plant Tissue Culture Media. *Intech. Department of Botany and Microbiology, Faculty of Science, Sebha University, Libya*
- Salisbury, Frank B, dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Sandra, E. 2003. *Membuat Anggrek Rajin Berbunga. Edisi Revisi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sandra, E. 2004. *Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. Depok: Agromedia Pustaka.
- Santos-Hernández, L., M. Martínez-García, J.E. Campos & E. Aguirre-León. 2005. *In vitro* Propagation Of *Laelia Albida* (Orchidaceae) For Conservation And Ornamental Purposes In Mexico. *Horticultural Science* 40: 439-442
- Santoso, Untung dan F. Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM Press, Malang
- Sarwono, B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Schaller, G.E., Ian H Street, and Joseph J Kieber. 2014. Cytokinin and the cycle. *Science Direct Elsevier*. 21: 7-15.
- Schneider, Luana. 2014. Seed Germination of *Cattleyaintermedia* and *Cattleyawarneri* in Alternative culture Media. *American International Journal of Contemporary Research*. Vol. 4, No. 7
- Sessler, G. J. 1978. *Orchids and How to Grow Them*. New Jersey: Prentice Hall Inc. Diakses online at: <http://books.google.co.id>

- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Silalahi, M. Lumbangaol, L. dan Irni., 2008. The Effect Of Adding Bap And Naa To The Growth Of Black Orchid (*Coelogyne pandurata* L.) By Using *In vitro* Technique. *Prosiding seminar nasional sains dan teknologi-II 2008*
- Soon, Teoh Eng. 1980. *Asian Orchids*. Singapore: Times Books International
- Steenis, C. G. G. J. Van. 1997. *Flora*. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Steward F.C., M.O. Mapes and K. Mears. 1985. Growth And Organized Development Of Cultured Cells: II. Organization In Cultured Grown From Freely Suspended Cells. *Am J Bot.* 45: 705.
- Suhentaka dan sobir. 2010. Pengaruh Kosentrasi BA dan NAA Pada Tahap Secara *In vitro* Keberhasilan Aklimatisasi Nenas (*Ananas Comosus* (1) Merr ). Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura, *Institut Pertanian Bogor*. Bogor
- Sun, T.P. and Gubler, F. 2004. Molecular Mechanism Of Gibberellin Signaling Inplants. *Annu Rev Plant Biol* 55: 197–223.
- Suryowinoto, M. 1987. *Mengenal Anggrek Alam Indonesia*. Jakarta: PT Penebar Swadaya
- Suryowinoto, S. M., dan Moeso. S, 1977. Perbanyak Vegetatif pada anggrek. Yogyakarta: Penerbit Yayasan Kanisius,
- Sutisna, Agus. 2010. Teknik Mempercepat Pertumbuhan Tunas Lateral Untuk Perbanyak Vegetatif *Anthurium* Dengan Aplikasi GA3 dan BA. *Buletin Teknik Pertanian* Vol. 15, No. 2, 2010: 56-59
- Utami, E. S. W., Sumardi I., Taryono, dan Semiarti E. 2007. Pengaruh  $\alpha$ -Naphthaleneacetic Acid (NAA) terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis Amabilis* (L.) *Bl. Biodiversitas*. 8(2):295—299.
- Vernoux T., Besnard F. and Traas J. 2010. *Auxin at the Shoot Apical Meristem*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Dipublikasikan Secara Online
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.S. Matjik, E. Sjamsudin, N.M.A. Wiendi, dan A. Eniawati., 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. IPB.
- Weiss, David dan Naomi Ori. 2007. Mechanisms of Cross Talk between Gibberellin and Other Hormones. *Plant Physiology* , Vol. 144, pp. 1240–1246
- Widiastoety, D. 2004. *Bertanam Anggrek*. Depok: Penebar Swadaya.

- Widiastoety, S. Kartikaningrum, dan Purbadi. 2005. Pengaruh pH Media terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek Dendrobium. *J.Hort.*15 (1): 18-21
- Wilkins, M.B., 1992. *Fisiologi Tanaman*. Penerjemah Sutedjo M.M dan Kartasapoetra A.G. penerbit Bumi Aksara: Jakarta.
- Winarsih, S. dan Priyono. 2000. Pengaruh ZPT Terhadap Pembentukan dan Pengakaran Tunas Mikro pada Asparagus secara *In Vitro*. *Jurnal Hortikultura*.10 (1) : 11-17.
- Yulia N.D., Juliarni. 2012. *Paraphalaenopsis laycockii* (M. R. Henderson) A.D. Hawkes: Tinjauan Terhadap Morfologi Tanaman dan Anatomi Daun. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. 10 (2)
- Yuniastuti, E., Praswanto., I. Harminingsih. 2010. Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium pada Beberapa Media Dasar secara *In vitro*. *Caraka Tani*, 25(1),1-8
- Yusnita. 2004. *Kultur jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.

## LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Kecepatan (hari) Munculnya Tunas dan Banyak Jumlah Tunas  
PLB Anggrek Cattleya hybrid (*Brassocattleya Mount Anderson*)

Tabel 1.1 Kecepatan (hari) Munculnya Tunas PLB Anggrek Cattleya hybrid  
(*Brassocattleya Mount Anderson*)

Perlakuan	Ulangan			Total Hari	Rata-rata
	1	2	3		
	Hari ke-				
N1G1B1	54	42	42	138	46
N1G1B2	42	45	50	137	46
N1G1B3	40	42	42	124	41
N1G1B4	33	36	39	108	36
N1G2B1	40	36	60	136	45
N1G2B2	41	54	60	155	52
N1G2B3	41	40	56	137	46
N1G2B4	42	42	48	132	44
N1G3B1	39	54	54	147	49
N1G3B2	34	39	39	112	37
N1G3B3	42	33	54	129	43
N1G3B4	40	33	40	113	38
N2G1B1	35	41	60	136	45
N2G1B2	39	34	36	109	36
N2G1B3	39	42	41	122	41
N2G1B4	34	39	41	114	38
N2G2B1	34	32	39	105	35
N2G2B2	40	60	60	160	53
N2G2B3	31	32	60	123	41
N2G2B4	33	50	50	133	44
N2G3B1	40	31	60	131	44
N2G3B2	33	35	39	107	36
N2G3B3	36	56	60	152	51
N2G3B4	35	39	60	134	45
N3G1B1	39	45	54	138	46
N3G1B2	34	44	48	126	42
N3G1B3	41	35	42	118	39

N3G1B4	32	36	39	107	36
N3G2B1	33	35	39	107	36
N3G2B2	31	39	40	110	37
N3G2B3	42	40	42	124	41
N3G2B4	34	35	42	111	37
N3G3B1	54	50	32	136	45
N3G3B2	32	45	60	137	46
N3G3B3	33	45	44	122	41
N3G3B4	35	40	50	125	42

Tabel 1.2 Banyak Jumlah Tunas PLB Anggrek Cattleya hybrid (*Brassocattleya Mount Anderson*)

Perlakuan	Ulangan			Total Tunas	Rata-rata
	1	2	3		
	Hari ke-				
N1G1B1	11	12	3	26	8.67
N1G1B2	14	5	3	22	7.33
N1G1B3	8	9	7	24	8.00
N1G1B4	9	7	13	29	9.67
N1G2B1	12	10	1	23	7.67
N1G2B2	5	4	1	10	3.33
N1G2B3	12	16	5	33	11.00
N1G2B4	5	10	6	21	7.00
N1G3B1	7	11	7	25	8.33
N1G3B2	20	11	14	45	15.00
N1G3B3	24	24	6	54	18.00
N1G3B4	11	12	10	33	11.00
N2G1B1	37	14	16	67	22.33
N2G1B2	11	6	18	35	11.67
N2G1B3	20	9	1	30	10.00
N2G1B4	18	10	12	40	13.33
N2G2B1	33	29	23	85	28.33
N2G2B2	15	2	1	18	6.00
N2G2B3	22	10	1	33	11.00
N2G2B4	8	11	1	20	6.67

N2G3B1	10	10	3	23	7.67
N2G3B2	12	9	18	39	13.00
N2G3B3	19	3	1	23	7.67
N2G3B4	2	5	1	8	2.67
N3G1B1	10	4	6	20	6.67
N3G1B2	5	7	3	15	5.00
N3G1B3	23	4	5	32	10.67
N3G1B4	12	8	11	31	10.33
N3G2B1	20	9	6	35	11.67
N3G2B2	11	12	1	24	8.00
N3G2B3	11	10	11	32	10.67
N3G2B4	8	10	13	31	10.33
N3G3B1	12	7	6	25	8.33
N3G3B2	2	3	1	6	2.00
N3G3B3	8	11	8	27	9.00
N3G3B4	5	9	8	22	7.33

Tabel 1.3 Uji normalitas kecepatan (hari) munculnya tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kecepatan Tumbuh (hari)	.037	108	.200*	.993	108	.828

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai sig > 0,05, maka data normal

Tabel 1.4 Uji Homogenitas kecepatan (hari) munculnya tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*

**Levene's Test of Equality of Error Variance<sup>s</sup>**

Dependent Variable: Kecepatan Tumbuh (hari)

F	df1	df2	Sig.
1.493	35	72	.084

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

- a. Design: Intercept+NAA+ GA3+BAP+NAA \*  
GA3+NAA \* BAP+GA3 \* BAP+NAA \* GA3 \* BAP

Nilai sig > 0,01, maka data homogen

Tabel 1.5 Uji *three way* ANAVA kecepatan (hari) munculnya tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)*

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Kecepatan Tumbuh (hari)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2492.991 <sup>a</sup>	35	71.228	1.008	.476
Intercept	192111.343	1	192111.343	2718.201	.000
NAA	161.463	2	80.731	1.142	.325
GA3	73.185	2	36.593	.518	.598
BAP	200.324	3	66.775	.945	.424
NAA * GA3	391.759	4	97.940	1.386	.247
NAA * BAP	208.093	6	34.682	.491	.813
GA3 * BAP	765.259	6	127.543	1.805	.110
NAA * GA3 * BAP	692.907	12	57.742	.817	.632
Error	5088.667	72	70.676		
Total	199693.000	108			
Corrected Total	7581.657	107			

a. R Squared = .329 (Adjusted R Squared = .003)

Nilai sig < 0,05 = maka tidak terdapat pengaruh yang nyata

Tabel 1.6 Uji normalitas jumlah tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid*  
(*Brassocattleya Mount Anderson*)

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Banyak Tunas	.056	108	.200*	.987	108	.408

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai sig > 0,05, maka data normal

Tabel 1.7 Uji Homogenitas jumlah tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid*  
(*Brassocattleya Mount Anderson*)

**Levene's Test of Equality of Error Variance<sup>s</sup>**

Dependent Variable: Banyak Tunas

F	df1	df2	Sig.
1.447	35	72	.094

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+NAA+ GA3+BAP+NAA \*  
GA3+NAA \* BAP+GA3 \* BAP+NAA \* GA3 \* BAP

Nilai sig > 0,01, maka data homogen

Tabel 1.8 Uji *three way* ANAVA jumlah tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid* (*Brassocattleya* Mount Anderson)

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Banyak Tunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2663.519 <sup>a</sup>	35	76.101	2.284	.002
Intercept	10521.815	1	10521.815	315.830	.000
NAA	207.796	2	103.898	3.119	.050
GA3	27.241	2	13.620	.409	.666
BAP	300.630	3	100.210	3.008	.036
NAA * GA3	566.148	4	141.537	4.248	.004
NAA * BAP	690.426	6	115.071	3.454	.005
GA3 * BAP	428.537	6	71.423	2.144	.059
NAA * GA3 * BAP	442.741	12	36.895	1.107	.368
Error	2398.667	72	33.315		
Total	15584.000	108			
Corrected Total	5062.185	107			

a. R Squared = .526 (Adjusted R Squared = .296)

Nilai sig < 0,01 = maka terdapat pengaruh yang nyata

$$\text{KK (Koefisien Keragaman)} = (\sqrt{\text{KT Galat}/X}) \times 100\% = (\sqrt{33,315/9,87}) \times 100\% = 58,5\%$$

(X) = rata-rata semua data.

Tabel 1.9 Uji lanjut DMRT (Duncan's Multiple Range Test) jumlah tunas PLB Anggrek *Cattleya hybrid (Brassocattleya Mount Anderson)* pada taraf uji 5%

NAA

**Banyak Tunas**

Duncan			
NAA	N	Subset	
		1	2
NAA 2 mg	36	8.33	
NAA 0 mg	36	9.58	9.58
NAA 1 mg	36		11.69
Sig.		.421	.175

BAP

**Banyak Tunas**

Duncan			
BAP	N	Subset	
		1	2
BAP 1 mg	27	7.93	
BAP 3 mg	27	8.70	8.70
BAP 0 mg	27	10.67	10.67
BAP 5 mg	27		12.19
Sig.		.164	.076

NAA\*GA3

## Banyak Tunas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N3G1B1	3	6.6667	
N1G2B1	3	7.6667	
N2G3B1	3	7.6667	
N1G3B1	3	8.3333	
N3G3B1	3	8.3333	
N1G1B1	3	8.6667	
N3G2B1	3	11.6667	
N2G1B1	3		22.3333
N2G2B1	3		28.3333
Sig.		.391	.249

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

NAA\*BAP

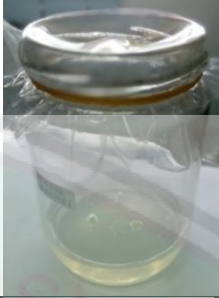
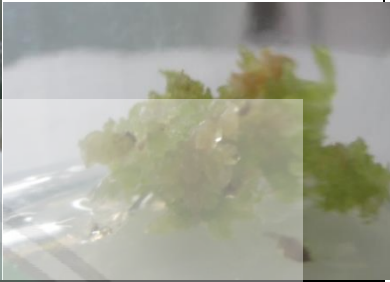



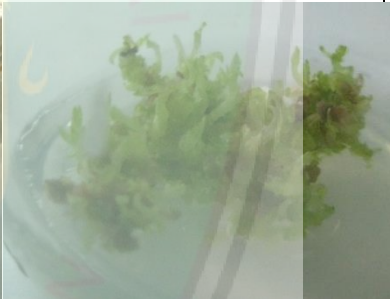
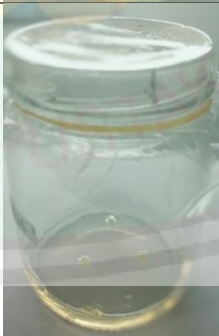

## Banyak Tunas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N3G1B2	3	6	
N3G1B1	3	6.6667	
N1G1B2	3	7.6667	
N1G1B3	3	8.3333	8.3333
N1G1B1	3	8.6667	8.6667
N1G1B4	3	8.6667	8.6667
N2G1B3	3	9.5	9.5
N3G1B4	3	9.6667	9.6667
N3G1B3	3	10	10
N2G1B2	3	11	11
N2G1B4	3	15.6667	15.6667
N2G1B1	3		21.3333
Sig.		0.156	0.058



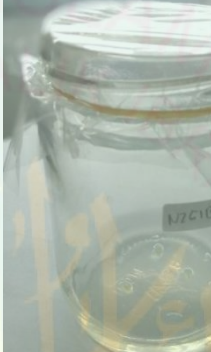

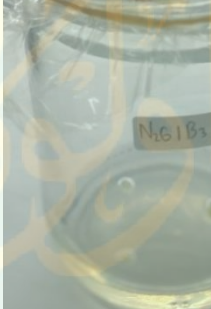



Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

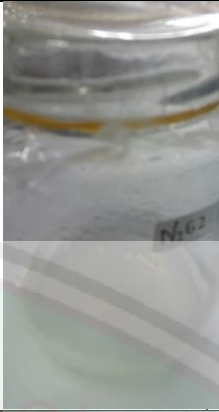
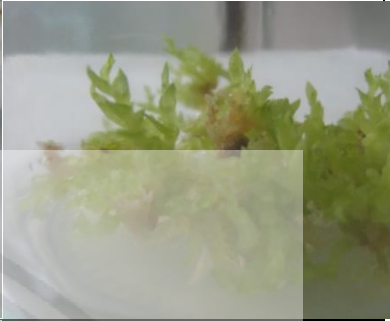
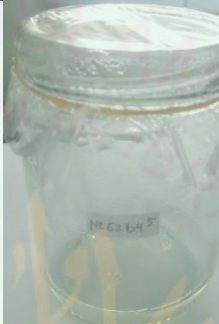


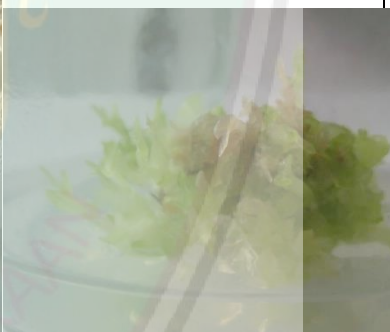
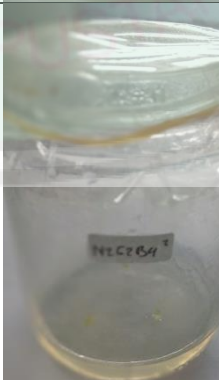

Lampiran 2 Foto Penelitian

no.	perlakuan	Awal inkubasi	Hari Ke-60
1	N1G1 B1		
2	N1G1 B2		
3	N1G1 B3		
4	N1G1 B4		

5	N1G2 B1		
6	N1G2 B2		
7	N1G2 B3		
8	N1G2 B4		

9	N1G3 B1		
10	N1G3 B2		
11	N1G3 B3		
12	N1G3 B4		



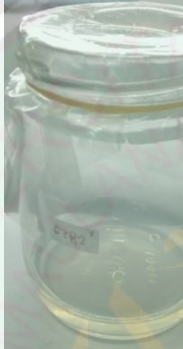





13	N2G1 B1		
14	N2G1 B2		
15	N2G1 B3		
16	N2G1 B4		

17	N2G2 B1		
18	N2G2 B2		
19	N2G2 B3		
20	N2G2 B4		

21	N2G3 B1	 	 
22	N2G3 B2	 	 
23	N2G3 B3	 	 
24	N2G3 B4	 	 

25	N3G1 B1		
26	N3G1 B2		
27	N3G1 B3		
28	N3G1 B4		

29	N3G2 B1		
30	N3G2 B2		
31	N3G2 B3		
32	N3G2 B4		

33	N3G 3B1	 
34	N3G 3B2	 
35	N3G 3B3	 
36	N3G 3B4	 



**KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. /Fax. (0341) 558933

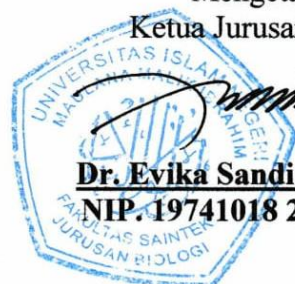
**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Atik Billah Naja  
 NIM : 11620070  
 Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
 Judul Skripsi : Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek *Brassocattleya* mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) Secara In-Vitro dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh

Pembimbing I : Kholifah Holil, M. Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	5 Januari 2016	Pengajuan Judul Skripsi	1.
2.	19 Januari 2016	Konsultasi BAB I	2.
3.	25 Februari 2016	Revisi BAB I	3.
4.	9 Maret 2016	Konsultasi BAB I, II dan III	4.
5.	18 Juli 2016	Revisi BAB I, II dan III	5.
6.	28 Juli 2016	Seminar Proposal	6.
7.	21 November 2016	Konsultasi BAB IV dan V	7.
8.	5 Januari 2017	Revisi BAB IV dan V	8.
9.	2 Mei 2017	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	9.
10.	4 Juni 2017	Revisi BAB I, II, III, IV dan V	10.
11.	13 Juli 2017	Acc BAB I, II, III, IV dan V	11.

Malang, 13 Juli 2017  
 Mengetahui,  
 Ketua Jurusan Biologi



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
 NIP. 19741018 200312 2 002



**KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERIMAULANA MALIK IBRAHI MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. /Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Atik Billah Naja  
 NIM : 11620070  
 Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
 Judul Skripsi : Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek *Brassocattleya* mount Anderson (*C. Bow Bells* x *Bc. Deesse*) Secara In-Vitro dengan Berbagai Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh  
 Pembimbing II : Umayyatus Syarifah, M.A

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	20 Juli 2016	Konsultasi Agama BAB I, II	1.
2.	25 Juli 2016	Revisi Agama BAB I, II	2.
3.	6 Februari 2017	Konsultasi Agama BAB IV dan V	3.
4.	24 April 2017	Revisi Agama BAB I, II, II, IV dan V	4.
5.	13 Juli 2017	ACC Agama BAB I, II, II, IV dan V	5.

Malang, 13 Juli 2017

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
 NIP. 19741018 200312 2 002

