# BAB III

# METODE PENELITIAN

## 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanggal Januari 2011 – Maret 2011 yang berlokasi di Laboratorium Genetika dan Fisiologi Kultur Jaringan (*Genetic and Physiology Tissue Culture*) Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

## 3.2 Alat dan Bahan

### 3.2.1 Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah: botol kultur, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), *Laminair Air Flow Cabinet* (LAFC), timbangan analitik, mikropipet (1000 ηl), alat sterilisasi (oven, autoklaf, dan penyemprot alkohol (*hand sprayer*), pH meter, lemari pendingin (*freezer*), rak kultur, kertas label, hot plate dan strirrer, kertas tissue, korek, aluminium foil, backerglass (100 mL), dan gelas ukur (100 mL).

### 3.2.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah: stok ½ media MS yang diperoleh dari UPT. Dinas Pertanian Bedali Lawang Malang, 150 ml air kelapa, agar 6-7 gr, gula 30 gr, larutan stok zat pengatur tumbuh (ZPT) *Benzil Amino Purin* (BAP), alkohol 70%, Bahan buffer pH: NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N,

aquadest, dan jenis *Protocorm Like Body* (PLB) *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*, dan *Snowtaeda*) dan *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile* dan *Discolor*) yang diperoleh dari koleksi Handoyo Budi Orchid, Jalan Bondowoso Malang.

## 3.3 Prosedur Kerja

### 3.3.1 Sterilisasi Alat

Disiapkan seluruh alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini, kemudian harus dilakukan sterilisasi seperti pinset, skalpel, petridish, tip mikropipet, dan plastik penutup botol dibungkus dulu dengan *aluminium foil* atau kertas sampul berwarna coklat. Untuk botol –botol kultur yang diperoleh dari lapang, lalu dilakukan pencucian, yaitu: botol- botol kultur direndam dalam bak yang berisi air penuh selama 24 jam, kemudian dilakukan pencucian dengan wipol sampai bersih dan direndam ke dalam air bersih, dan dicuci pada air kran yang mengalir sampai bersih. Botol- botol kultur dan alat-alat kultur yang lain tersebut, selanjutnya dioven sampai kering dengan suhu 50-52 $^{0}$C (±10-15 menit). Setelah itu, alat- alat kultur dipindahkan ke dalam autoklave untuk dilakukan sterilisasi selama 60 menit dengan tekanan 15 atm.

### 3.3.2 Pembuatan Media ½ MS

Media merupakan salah satu tingkat keberhasilan suatu penelitian kultur *in vitro*. Penelitian ini menggunakan ½ MS yang sudah jadi (siap pakai) dan diperoleh dari Dinas Pertanian UPT. Pengembangan Agribisnis dan Tanaman Hortikultura Bedali Lawang Malang. Kemudian, stok media MS dicampur dengan

bahan-bahan media yang lain, seperti agar, aquadest, air kelapa, hormon, dan dipanaskan. Ketika sudah selesai dimasukkan ke dalam botol kultur ± 20 ml.

#### 3.3.2.1 Media Cair

Pada perlakuan hormon BAP (0 mg/l dan 0,5 mg/l), media yang digunakan adalah media cair. Adapun bahan yang digunakan meliputi: gula (30 gr), larutan stok zat pengatur tumbuh (ZPT) *Benzilaminopurin* (BAP), alkohol 70%, Bahan buffer pH: NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N, aquadest (210 mL) dan air kelapa (40 mL) sebagai pelarut (250 mL). Penggunaan media cair yaitu dikarenakan pada dasarnya pertumbuhan kultur cair biasanya lebih cepat dari pada kultur padat walaupun tingkat kontaminasinya lebih tinggi dibandingkan media padat. Penggunaan kultur cair memberikan pengendalian lingkungan tumbuh yang baik, karena kebanyakan sel yang akan dikelilingi oleh mediumnya dan secara morfologi, pertumbuhan sel lebih seragam (Margono, 2003: 16-17).

#### 3.3.2.2 Media Padat

Pada perlakuan hormon BAP (0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; dan 2 mg/l), media yang digunakan adalah media padat. Bahan yang dibutuhkan meliputi: agar (6-7 gr), gula (30 gr), larutan stok zat pengatur tumbuh (ZPT) *Benzil Amino Purin* (BAP), alkohol 70%, Bahan buffer pH: NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N, aquadest (850 mL) dan air kelapa (150 mL) sebagai pelarut (1000 mL).

### 3.3.3 Sterilisasi Media

Media dalam botol yang sudah ditutup dengan aluminium foil, kemudian dimasukkan ke dalam autoklave. Sterilisasi media, yaitu butuh 30 menit dengan

tekanan 15 atm. Media yang sudah dimasukkan ke dalam botol, kemudian tutup dengan plastik dan diikat dengan karet pentil lalu segera dilakukan sterilisasi dalam autoklave untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

### 3.3.4 Sterilisasi Ruang Tanam

Ruang tanam kultur *in vitro* merupakan lokasi yang dapat dijadikan sebagai ruang yang aseptik yaitu bebas dari bakteri. Penyemprotan ruang tanam yaitu *Laminar Air Flow Cabine* (LAFC) dengan menggunakan alkohol 70% sampai rata seluruh ruangan kultur. Selanjutnya ruang tanam disterilisasi dengan sinar UV selama 1 jam sebelum LAFC digunakan, ketika hendak LAFC digunakan, maka sinar UV harus dimatikan dan blower serta lampu dihidupkan. Kemudian setelah seluruh proses penanam selesai, LAFC dimatikan dengan menekan blower dan melepas skakel.

### 3.3.5 Penanaman dan Pemeliharaan PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp.

Alat-alat sterilisasi, dan bunsen diletakkan dalam LAFC untuk PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. Selain itu, disiapkan dalam LAFC alat-alat sterilisasi, alkohol 70%, dan korek. Jika semua sudah selesai, maka penanaman PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. dimulai yaitu dengan cara; diambil bagian derivat proliferasi dari botol aslinya untuk ditanam ke dalam media botol kultur yang sudah diberi perlakuan oleh berbagai konsentrasi hormon. Kemudian dilanjut dengan pemeliharaan PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp.

### 3.4 Analisis Data

1. Pengamatan penelitian secara *Deskriptif kualitatif*, yaitu dengan mengamati proliferasi PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. dengan mengamati morfologi, warna, tekstur, PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. serta pengamatan secara *Deskriptif kuantitatif*, yaitu dengan mengamati ukuran dan persentase (%) tingkat keberhasilan PLB yang tumbuh.

2. Menghitung Persentase (%) terbentuknya PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. yang mengalami proliferasi dalam media ½ MS padat diakhir pengamatan.

3. Rumus untuk menghitung jumlah PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. yang berhasil hidup, tumbuh, dan berkembang (Fischer dan Maurer (1978), dengan mengamati pertumbuhan PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. dihitung dengan rumus sebagai berikut:

   a.  PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. yang terbentuk

$$= \frac{\Sigma \text{ PLB anggrek yang hidup}}{\Sigma \text{ PLB anggrek yang ditanam}}$$

   b. % pertumbuhan PLB *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp.

$$= \frac{\Sigma \text{ PLB anggrek yang hidup}}{\Sigma \text{ PLB anggrek yang ditanam}} \text{ X } 100$$

### 3.5 Teknik Pengambilan Data

Pengambilan data dari penelitian ini dengan mengamati morfologi proliferasi sampel awal pada media ½ MS cair sebagai tahap inisiasi pengaruh

BAP terhadap PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. dengan menggunakan perlakuan BAP 0,5 mg/l dan diamati perubahan yang terjadi setiap harinya selama seminggu. Kemudian, perlakuan 0,5 mg/l pada media cair disubkultur dengan pengujian PLB pada media ½ MS padat untuk mengetahui perubahan dan perkembangan tekstur mofrologi PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. dengan menggunakan perlakuan BAP 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; dan 2 mg/l. Kemudian, data dimasukkan pada tabel seperti berikut ini:

Tabel 3.1 Perlakuan zat pengatur tumbuh BAP pada media padat:

| **Spesies** | **Varietas** | **BAP (mg/l)** | **Hari ke-** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| *Phalaeonopsis* | *Taedasnow* | 0 | | | | | | | |
| | | 0,5 | | | | | | | |
| | | 1 | | | | | | | |
| | | 1,5 | | | | | | | |
| | | 2 | | | | | | | |
| | *Marystripe* | 0 | | | | | | | |
| | | 0,5 | | | | | | | |
| | | 1 | | | | | | | |
| | | 1,5 | | | | | | | |
| | | 2 | | | | | | | |
| *Dendrobium* | *Spectabile* | 0 | | | | | | | |
| | | 0,5 | | | | | | | |
| | | 1 | | | | | | | |
| | | 1,5 | | | | | | | |
| | | 2 | | | | | | | |
| | *Discolor* | 0 | | | | | | | |
| | | 0,5 | | | | | | | |
| | | 1 | | | | | | | |
| | | 1,5 | | | | | | | |
| | | 2 | | | | | | | |

# BAB IV

# HASIL DAN PEMBAHASAN

## 4.1 Pertumbuhan PLB Anggrek *Dendrobium* sp. Pada Media Padat

Untuk mengetahui tingkat proliferasi *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile* dan *Discolor*) ditunjukkan pada tabel 4.1. Sedangkan perubahan warna PLB pada kedua varietas *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile* dan *Discolor*) disajikan pada tabel 4.2 sebagaimana berikut ini:

Tabel 4.1 Data tingkat proliferasi PLB anggrek *Dendrobium* sp (var. *Spectabile* dan *Discolor*) pada media padat dengan penambahan BAP

| Spesies | Varietas | BAP (mg/l) | Hari ke- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| *Dendrobium* sp. | *Spectabile* | 0 | - | - | - | - | - | - | + |
| | | 0,5 | - | + | + | + | + | ++ | ++ |
| | | 1 | - | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | | 1,5 | - | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | 2 | - | - | - | + | + | + | + |
| | *Discolor* | 0 | - | - | - | - | - | - | - |
| | | 0,5 | - | + | + | + | + | + | ++ |
| | | 1 | - | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | | 1,5 | - | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | 2 | - | - | - | - | + | + | + |

Keterangan: - : Belum mengalami proliferasi
+ : Mengalami proliferasi lambat
++ : Mengalami proliferasi yang cepat

Tabel 4.2 Data warna morfologi PLB anggrek *Dendrobium* sp (var. *Spectabile* dan *Discolor*) pada media padat dengan penambahan BAP

| Spesies | Varietas | BAP (mg/l) | Hari ke- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| *Dendrobium* sp. | *Spectabile* | 0 | Hk | Hk | Hk | Hk | Hk | Hk | H |
| | | 0,5 | Ck | Ck | Ck | Ch | Hk | H | H |
| | | 1 | Ck | Ck | Ck | Ch | Hk | H | H |
| | | 1,5 | Ck | Ck | Ch | Ch | Hk | H | H |
| | | 2 | Ck | Ck | Ck | Ch | Hk | H | H |

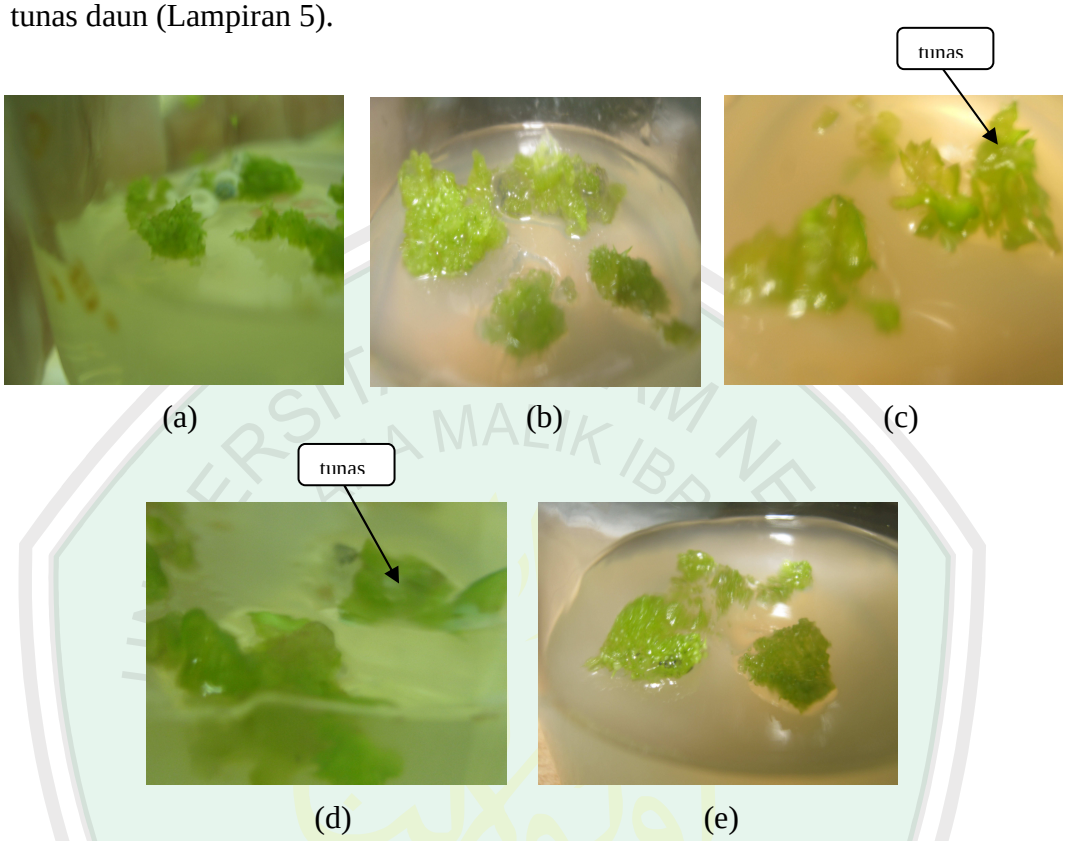
| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Discolor* | 0 | Hk | Hk | Hk | Hk | Hk | Hk | H |
| | | 0,5 | Ck | Ck | Ck | Ch | Hk | H | H |
| | | 1 | Ck | Ck | Hk | Hk | Hk | H | H |
| | | 1,5 | Ck | Ck | Hk | Hk | Hk | H | H |
| | | 2 | Ck | Ck | Ck | Ch | Hk | H | H |

Keterangan: Ck : Coklat kuning
Ch : Coklat hijau
Hk : Hijau kuning
H : Hijau

PLB anggrek *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile*) yang ditanam dalam media padat dengan pemberian BAP 0,5 mg/l, proliferasi PLB mulai terbentuk hari ke-2 dan mengalami peningkatan proliferasi pada hari ke-6 (Tabel 4.1). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-4, hari ke-5 berubah menjadi hijau kuning, dan warna berubah lagi menjadi hijau pada hari ke-6 (Tabel. 4.2). Tekstur dari agak remah menjadi remah sekali pada akhir pengamatan. Ukuran PLB ±0,3 cm berkembang menjadi ±0,7 cm (Lampiran 5).

Untuk perlakuan dengan pemberian BAP 1 mg/l, proliferasi PLB muncul pada hari ke-2 dengan ukuran ±0,5 cm berkembang menjadi ±0,9 cm. Tekstur morfologi PLB tidak remah, berubah menjadi agak remah, dan remah sekali pada akhir pengamatan dan muncul tunas daun dengan ukuran ± 1,2 cm (Lampiran. 5). Sedangkan pada pemberian BAP 1,5 mg/l proliferasi PLB muncul pada hari ke-2 dan meningkat pada hari ke-4, warna morfologi PLB coklat kuning berubah hijau kuning pada hari ke-5 dan berubah lagi menjadi hijau memasuki hari yang ke-6 (Tabel 4.2). Tekstur morfologi PLB agak remah dan remah diakhir pengamatan.

Ukuran 0,9 cm berkembang menjadi 1,8 cm yang diiringi dengan munculnya tunas daun (Lampiran 5).




Gambar 4.1 Perlakuan BAP (a). 0 mg/l (kontrol), (b). 0,5 mg/l, (c) 1 mg/l, (d) 1,5 mg/l, dan (e) 2 mg/l. pada *Dendrobium* sp (var. *Spectabile*) dalam media padat

Keterangan:

(Gambar 4.1) menunjukkan bahwa dengan menggunakan pemberian BAP 1,5 mg/l tingkat proliferasi perubahan morfologi, tekstur, ukuran, dan warna lebih tinggi dibanding dengan perlakuan BAP 1 mg/l dan 0,5 mg/l. Pada perlakuan BAP 2 mg/l proliferasi lambat, namun lebih tinggi dibanding tanpa perlakuan BAP (0) mg/l.

Perlakuan yang terakhir adalah pemberian BAP 2 mg/l, proliferasi PLB mulai muncul pada hari ke-4 dan tidak mengalami perkembangan proliferasi (Tabel 4.1), warna coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-4 dan berubah lagi menjadi coklat hijau pada hari ke-5, pada hari ke-6 warna berubah lagi menjadi hijau (Tabel 4.2). Ukuran PLB 0,02 pada hari pertama berubah

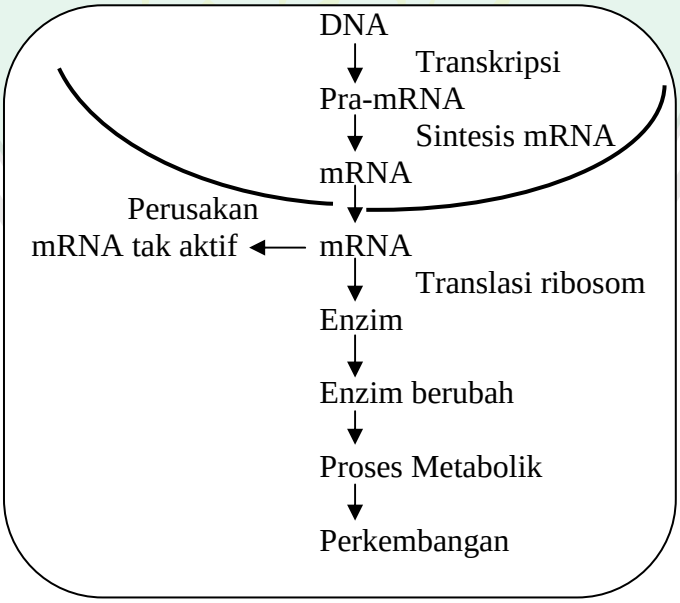
menjadi 0,04 pada hari ke-7 akhir pengamatan (Lampiran 5). Sedangkan BAP 0 mg/l (kontrol) mulai tampak mengalami proliferasi pada hari ke-7 (Tabel 4.1). Warna morfologi PLB hijau kuning dan berubah menjadi hijau pada hari ke-7 (Tabel 4.2). Tekstur tidak remah, dan ukuran ±0,05 cm berubah menjadi ± 0,08 cm pada akhir pengamatan (Lampiran 5).

Pertumbuhan dan perkembangan proliferasi PLB dan diiringi dengan munculnya tunas daun pada gambar 4.1 merupakan sistem kerja salah satu pengaruh BAP yang berperan sebagai zpt dan komponen media *in vitro*, hal ini sesuai dengan apa yang dikemukakan Skoog dan Miller (1962), bahwa regenerasi tunas dan akar *in vitro* melalui proses organogenesis atau morfogenesis kultur sel, organ, dan jaringan dikontrol secara hormonal oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin, yaitu adanya kebergantungan hormon endogen pada hormon eksogen dan hormon eksogen yang bergantung pada media tumbuh (Wattimena, 1992; Ardiana, 2009). Penambahan hormon eksogen akan berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Gunawan, 1998).

Proses mekanisme pengaruh BAP sebagai ZPT yang dapat membantu hormon endogen. Menurut Nursandi dan Santoso (2001), hormon mula-mula bekerja di membran plasma dan bukan di inti sel, proses kehadiran hormon (sebagai isyarat atau sinyal) akan ditanggapi sel sasaran yang peka untuk mengaktifkan protein penerima di membran plasma hingga mampu mengikat

hormon dengan mengaktifkan enzim membran yang berdekatan disebut dengan *phospholipid*-C (PLC).

PLC tersebut kemudian menghidrolisis salah satu gugus phospholipid membran yang jumlahnya tidak banyak disebut dengan *phosphoinositida* (PI) yaitu lipid yang mengandung inositol. PI yang dihidrolisis adalah jenis yang terakhir yaitu *phosphotidilinositol 4,5 biphosphat* ($PIP_2$) dan menghasilkan *diasilgliserol* (DAG) dan *inositol-1,4,5-triphosphat* ($IP_3$)" DAG dan $IP_3$ mempunyai aktifitas lanjutan. DAG berfungsi dalam membran plasma, yaitu mengaktifkan enzim yang disebut *protein kinase* C (PKC) pada membran. $IP_3$ menyebabkan terlepasnya $Ca^{2+}$ yang tersimpan di vakuola, masuk ke sitosol. Enzim ini memerlukan ATP untuk memphosphorilasi beberapa enzim tertentu yang mengatur berbagai tahap metabolisme. Barikut gambaran umum titik-titik dalam alur aktifitas gen yang dipengaruhi hormon atau zat pengatur tumbuh



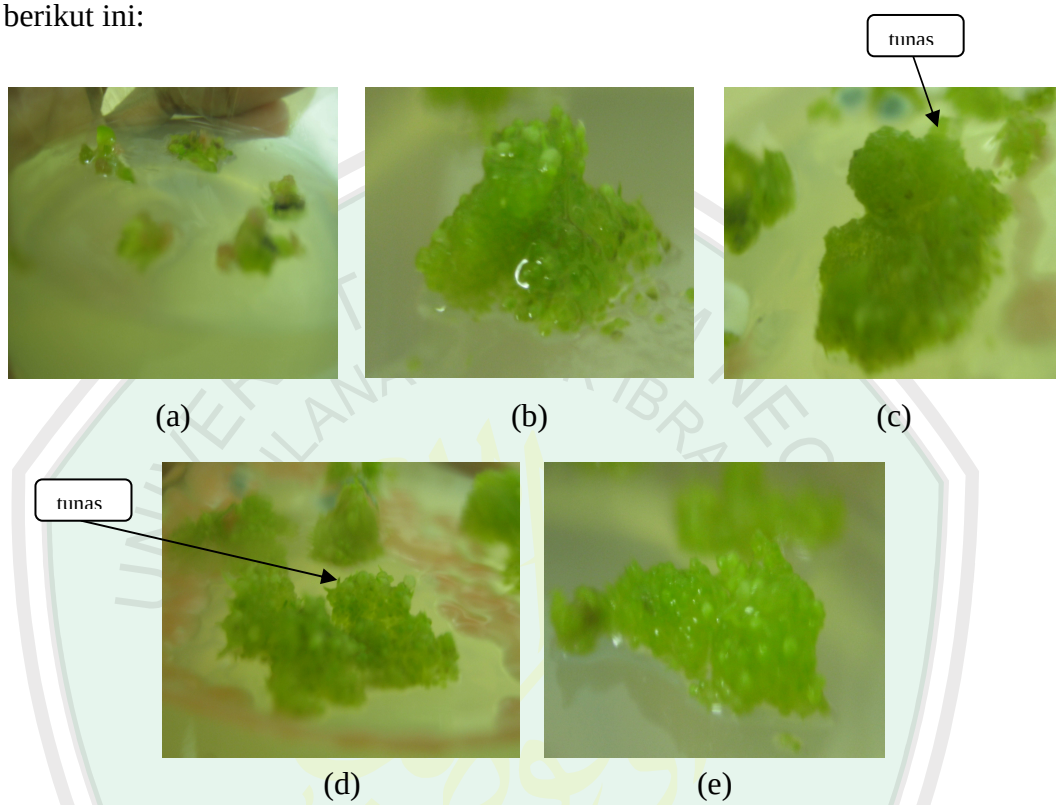

Gambar 4.2 Titik-titik dalam alur aktifitas gen yang dipengaruhi hormon atau zat pengatur tumbuh

*Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium* sp. (var. *Discolor*) pada gambar 4.3 yang ditanam dalam media padat dengan pemberian BAP 0,5 mg/l, proliferasi mulai muncul pada hari ke-2 dan proliferasi mengalami peningkatan pada hari ke-7 (Tabel 4.1). Warna coklat kuning berubah menjadi hijau kuning pada hari ke- 5 dan berubah lagi menjadi hijau memasuki hari ke-6 (Tabel 4.2). Tekstur morfologi PLB agak remah menjadi remah pada akhir pengamatan. Ukuran PLB ±0,3 cm dan berkembang ±0,5 cm.

Pada perlakuan dengan pemberian BAP 1 mg/l, proliferasi muncul pada hari ke-2 dan mengalami peningkatan pada hari ke-5 (Tabel 4.1). Tekstur morfologi PLB agak remah dan remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.3). Warna PLB coklat kuning berubah menjadi hijau kuning pada hari ke-3 dan berubah lagi menjadi hijau memasuki hari ke-6 (Tabel 4.2). Ukuran PLB ±0,2 cm berkembang menjadi 0,5 cm yang diringi dengan tanda munculnya tunas (Gambar 4.3).

Untuk perlakuan BAP 1,5 mg/l, proliferasi mulai muncul pada hari ke-2. Tekstur morfologi PLB agak remah berubah menjadi remah. Warna PLB coklat hijau berubah menjadi hijau kuningpada hari ke-3 dan berubah lagi menjadi hijau pada hari ke-6 (Tabel 4.2). Ukuran 1,3 cm berkembang mencapai 1,7 cm di akhir pengamatan (Lampiran 5) dan diiringi munculnya tunas daun dengan ukuran ± 1,5 cm. Sedangkan pada perlakuan terakhir dengan pemberian BAP 2 mg/l, proliferasi mulai muncul pada hari ke-5 dan tidak mengalami peningkatan proliferasi sampai pada akhir pengamatan (Tabel 4.1). Tekstur agak remah berubah menjadi remah.

Ukuran ±0,5 cm dan berkembang mencapai 0,7 cm (Lampiran 5). Untuk lebih jelasnya, hasil dari semua perlakuan dengan pemberian BAP dapat gambar 4.3 berikut ini:




Gambar 4.3 Perlakuan BAP (a). 0 mg/l (kontrol), (b). 0,5 mg/l, (c) 1 mg/l, (d) 1,5 mg/l, dan (e) 2 mg/l. pada *Dendrobium* sp (var. *Discolor*) dalam media padat

Keterangan:

(Gambar 4.3) menunjukkan bahwa dengan menggunakan pemberian BAP 1,5 mg/l tingkat proliferasi perubahan morfologi, tekstur, ukuran, dan warna lebih tinggi dibanding dengan perlakuan BAP 1 mg/l dan 0,5 mg/l. Pada perlakuan BAP 2 mg/l proliferasi lambat, namun keberhasilan pertumbuhannya lebih tinggi dibanding tanpa perlakuan BAP (0) mg/l.

Dari hasil penelitian ini sejalan dengan pernyataan Matteile dan Foncell *dalam* Herlina (1997), dilaporkan bahwa konsentrasi yang terlalu tinggi akan merusak jaringan pertumbuhan dan pembentukan buku tunas berkurang serta menghambat pembesaran sel. pada media tanpa BAP, hasilnya tidak menunjukkan respon pertumbuhan pada PLB anggrek *Phalaeonopsis* dan *Dendrobium* sebagai

eksplan, karena setiap tanaman membutuhkan hormon eksogen selain hormon endogen. Ketidakcukupan hormon endogen dalam pertumbuhan PLB, sehingga diperlukan hormon eksogen, terutama pada kultur jaringan. Oleh karena itu, hormon eksogen dengan pemberian zat pengatur tumbuh harus sesuai dengan konsentrasinya, karena akan mempengaruhi pertumbuhan PLB sebagai ekplan (Santi dan Kusumo, 1996).

## 4.2 Pertumbuhan PLB Anggrek *Phalaeonopsis* sp. Pada Media Padat

Untuk mengetahui tingkat proliferasi *Phalaeonopsis* sp. (var. *Taedasnow* dan *Marystripe*) ditunjukkan pada tabel 4.3. Sedangkan perubahan warna PLB pada kedua varietas *Phalaeonopsis* sp. (var. *Taedasnow* dan *Marystripe*) disajikan pada tabel 4.4 sebagaimana berikut ini:

Tabel 4.3 Data tingkat proliferasi PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp (var. *Taedasnow* dan *Marystripe*) pada media padat dengan penambahan BAP

| Spesies | Varietas | BAP (mg/l) | Hari ke- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| *Phalaeonopsis* sp. | *Taedasnow* | 0 | - | - | + | + | + | + | + |
| | | 0,5 | - | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | | 1 | - | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | 1,5 | - | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | 2 | - | + | + | + | + | + | ++ |
| | *Marystripe* | 0 | - | - | + | + | + | + | ++ |
| | | 0,5 | - | + | + | + | + | ++ | ++ |
| | | 1 | - | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | | 1,5 | - | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | 2 | - | - | + | + | + | ++ | + |

Keterangan: - : Belum mengalami proliferasi
+ : Mengalami proliferasi lambat
++ : Mengalami proliferasi yang cepat

Tabel 4.4 Data warna morfologi PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp (var. *Taedasnow* dan *Marystripe*) pada media padat dengan penambahan BAP

| Spesies | Varietas | BAP (mg/l) | Hari ke- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| *Phalaeonopsis* sp. | *Taedasnow* | 0 | Ch | Ch | Ch | Ck | Ck | Ck | Hk |
| | | 0,5 | Ck | Ch | Ch | Ch | H | H | Hk |
| | | 1 | Ck | Ch | H | Ch | H | H | Hk |
| | | 1,5 | Ck | Ch | Ch | Ch | H | H | Hk |
| | | 2 | Ck | Ch | H | H | Hk | Hk | Hk |
| | *Marystripe* | 0 | Ch | Ch | Ck | Ck | Ck | Ck | Hk |
| | | 0,5 | Ck | Ch | Ch | Ch | H | H | Hk |
| | | 1 | Ck | Ch | Ch | Ch | H | H | Hk |
| | | 1,5 | Ck | Ch | Ch | Ch | H | H | Hk |
| | | 2 | Ck | Ch | Hk | Hk | Hk | Hk | Hk |

Keterangan: Ck : Coklat kuning
Ch : Coklat hijau
Hk : Hijau kuning
H : Hijau

*Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Taedasnow*) yang ditanam dengan pemberian BAP 0,5 mg/l, proliferasi mulai muncul pada hari ke-2 dan proliferasi mengalami peningkatan pada hari ke-5 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi agak remah berubah menjadi remah sampai pada akhir pengamatan (Gambar 4.4). Warna PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran 0,5 cm berkembang menjadi 0,9 cm dengan tanda mulai muncul tunas dengan ukuran kecil (Lampiran 5).

Pada perlakuan dengan pemberian 1 mg/l, proliferasi mulai muncul pada hari ke-4 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi agak remah berubah menjadi remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.4). Warna coklat kuning berubah menjadi coklat hijau, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi

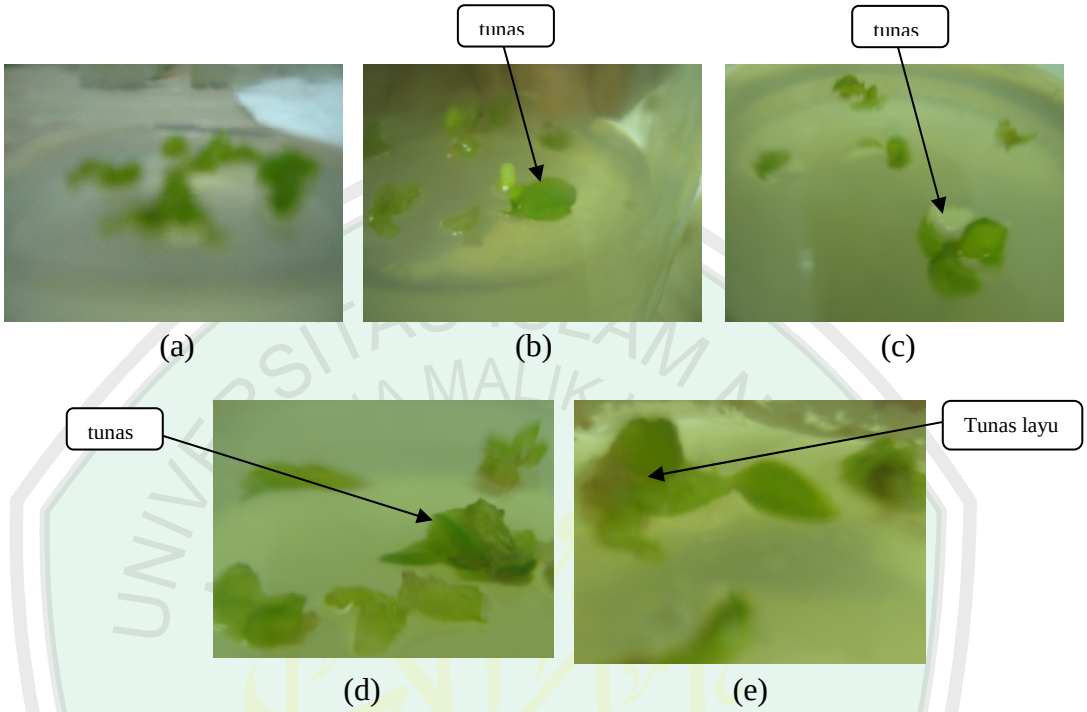
hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran 0,9 cm berubah mencapai 1,2 cm yang diiringi dengan munculnya tunas daun mencapai 1,9 cm (Gambar 4.4).

Sedangkan pada perlakuan dengan pemberian BAP 1,5 mg/l, proliferasi mengalami peningkatan pada hari ke-3 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi agak remah berubah menjadi remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.4). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah lagi menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran 0,3 cm berkembang menjadi 0,9 cm dan tampak muncul tunas daun (Gambar 4.4).

Untuk pemberian BAP 2 mg/l (Gambar 4.4). Proliferasi PLB mengalami peningkatan pada hari ke-2 dan mengalami peningkatan proliferasi pada hari ke-7 (Tabel 4.3). Warna coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke- 3, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-5 sampai akhir pengamatan (Tabel 4.4). Ukuran PLB ±0,2 cm berkembang menjadi ±0,2 cm dengan penampakan tunas layu (Gambar 4.4).

Sedangkan perlakuan terakhir, yaitu PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Taedasnow*) yang ditanam dalam media padat dengan tanpa pemberian BAP 0 mg/l (kontrol) mengalami proliferasi pada hari ke-3 dan tidak mengalami peningkatan proliferasi sampai akhir pengamatan (Tabel 4.3). Warna morfologi PLB coklat hijau berubah menjadi coklat kuning pada hari ke-4 dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Tekstur morfologi PLB tidak remah dan agak remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.4). Ukuran PLB sangat

kecil, yaitu ±0,02 cm dan berkembang menjadi ±0,05 cm pada akhir pengamatan (Lampiran 5).




Gambar 4.4 Perlakuan BAP (a). 0 mg/l (kontrol), (b). 0,5 mg/l, (c) 1 mg/l, (d) 1,5 mg/l, dan (e) 2 mg/l. pada *Phalaeonopsis* sp (var. *Taedasnow*) dalam media padat

Keterangan:

(Gambar 4.4) menunjukkan bahwa dengan menggunakan pemberian BAP 1,5 mg/l tingkat proliferasi perubahan morfologi, tekstur, ukuran, dan warna lebih tinggi dibanding dengan perlakuan BAP 1 mg/l dan 0,5 mg/l. Pada perlakuan BAP 2 mg/l proliferasi lambat, namun keberhasilan pertumbuhannya lebih tinggi dibanding tanpa perlakuan BAP (0) mg/l dan warna kekuningan, sehingga warna hijau hampir hilang.

Perkembangan ini dipengaruhi oleh zpt BAP yang merupakan derivat sitokinin. Sitokinin merupakan hormon tanam yang berkaitan dengan pertumbuhan (pembelahan sel) dan morfogenisis (differensiasi sel) (Gunawan, 1988). Sitokinin berperan dalam merangsang pertumbuhan tunas samping (lateral), meningkatkan klorofil daun, serta memperlambat proses penuaan (senescence) pada daun, buah, dan organ- organ lainnya (Wattimena, 1988).

Untuk PLB Anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dengan pemberian BAP 0,5 mg/l, proliferasi muncul pada hari ke-2 dan meningkat cepat pada hari ke-6 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi PLB agak remah berubah menjadi remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.5). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran PLB ±0,5 cm berubah mencapai ±0,9 cm disertai munculnya tunas-tunas kecil dengan ukuran ± 0,5 cm (Gambar 4.5).

Sedangkan PLB Anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dengan pemberian BAP 1 mg/l, proliferasi muncul pada hari ke-2 dan meningkat pada hari ke-5 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi PLB agak remah berubah menjadi remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.5). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran PLB ±1,2 cm berubah mencapai ±1,8 cm (Lampiran 5), dengan disertai munculnya tunas-tunas kecil dengan ukuran ± 1,2 cm (Gambar 4.5).

Kemudian untuk PLB Anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dengan pemberian BAP 1,5 mg/l, proliferasi muncul pada hari ke-2 dan mengalami peningkatan pada hari ke-4 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi PLB agak remah berubah menjadi remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.5). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-5, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4). Ukuran PLB ±1,9 cm berubah mencapai ±2,2

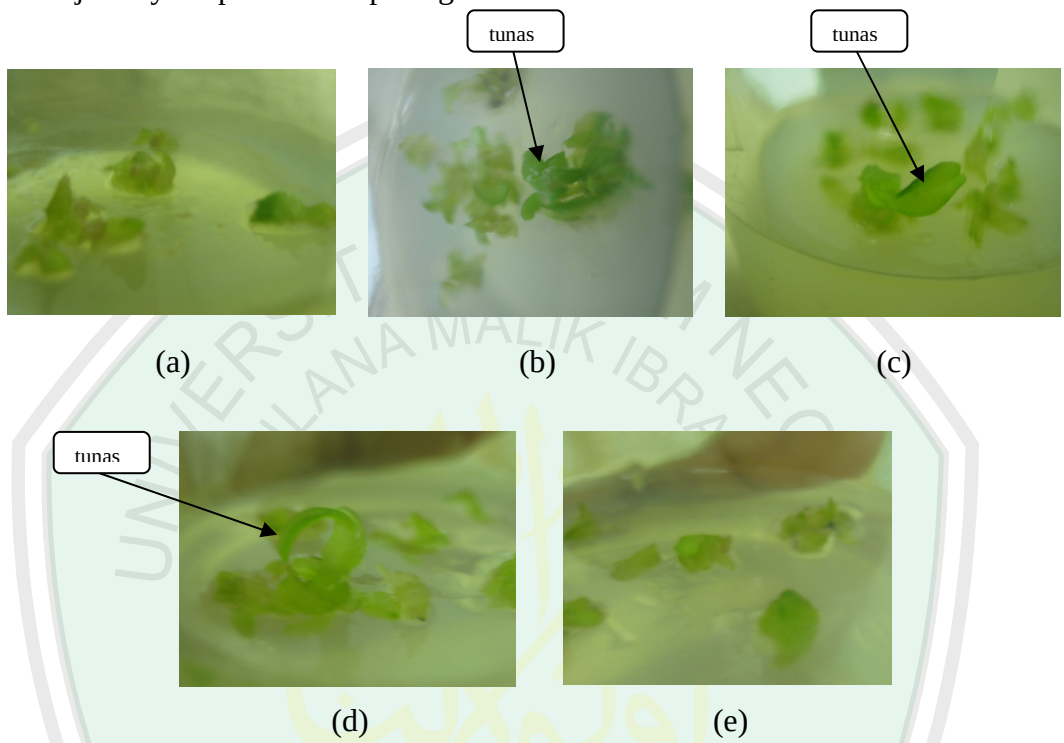
cm (Lampiran 5), dengan disertai munculnya tunas-tunas kecil dengan ukuran ± 1,8 cm (Gambar 4.5).

Kemudian untuk PLB Anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dengan pemberian BAP 2 mg/l, proliferasi muncul pada hari ke-3, mengalami peningkatan pada hari ke-6, dan mengalami penurunan tingkat proliferasi pada hari ke-7 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi PLB tidak remah berubah menjadi agak remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.5). Warna morfologi PLB coklat kuning berubah menjadi coklat hijau pada hari ke-2, kemudian berubah menjadi hijau pada hari ke-3, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-4 sampai akhir pengamatan (Tabel 4.4). Ukuran PLB ±0,4 cm berubah mencapai ±0,9 cm (Gambar 4.5).

Proliferasi PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) pada media padat dengan tanpa pemberian BAP 0 mg/l (kontrol) menunjukkan proliferasi muncul pada hari ke-3 dan mengalami peningkatan pada hari ke-7 (Tabel 4.3). Tekstur morfologi PLB tidak remah berubah menjadi agak remah pada akhir pengamatan (Gambar 4.5). Warna morfologi PLB coklat hijau berubah menjadi coklat kuning pada hari ke-4, dan berubah lagi menjadi hijau kuning pada hari ke-7 (Tabel 4.4).

Jadi perlakuan dengan pemberian BAP 0,5 mg/l; 1mg/l; 1,5 mg/l pada media ½ MS padat dikategorikan telah mengalami organogenesis. Organogenesis terjadi akibat pembentukan jaringan, sel maupun kalus untuk tumbuh menjadi tunas atau tumbuh menjadi tanaman yang sempurna dengan diawali penambahan

hormon pertumbuhan yang disebut dengan zat pengatur tumbuh (Wetter dan Constabel, 1991). Ukuran PLB ±0,02 cm berubah mencapai ±0,05 cm. Untuk lebih jelasnya dapat diamati pada gambar 4.5 berikut ini:



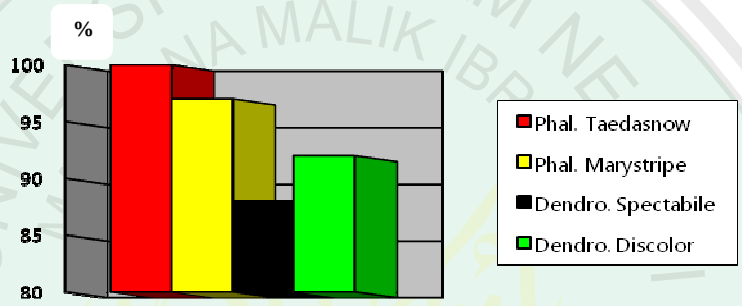

Gambar 4.5 Perlakuan BAP (a). 0 mg/l (kontrol), (b). 0,5 mg/l, (c) 1 mg/l, (d) 1,5 mg/l, dan (e) 2 mg/l. pada *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dalam media padat

Keterangan:

(Gambar 4.5) menunjukkan bahwa dengan menggunakan pemberian BAP 1,5 mg/l tingkat proliferasi perubahan morfologi, tekstur, ukuran, dan warna lebih tinggi dibanding dengan perlakuan BAP 1 mg/l dan 0,5 mg/l. Pada perlakuan BAP 2 mg/l proliferasi lambat dan hampir tidak mengalami proliferasi, serta keberhasilan pertumbuhannya lebih rendah dibanding tanpa perlakuan BAP (0) mg/l.

Namun, pada perlakuan 2 mg/l, dihasilkan sebagaimana yang tampak pada gambar 4.5 bahwa pertumbuhan mengalami hambatan dalam perkembangan tunasnya. Hal tersebut dipengaruhi konsentrasi zpt konsentrasi BAP yang terlalu tinggi, sehingga organogesis terhambat dan pertumbuhan tunasnya tidak terarah. Dalam beberapa literatur telah disebutkan bahwa sitokinin sintetik lainnya adalah

BAP (*6-benzilaminopurin*) dan 2-ip. Sitokinin mempunyai beberapa fungsi, antara lain: Memacu pembelahan sel dalam jaringan meristematik, merangsang diferensiasi sel-sel yang dihasilkan dalam meristem, mendorong pertumbuhan tunas samping dan perluasan daun, menunda penuaan daun, merangsang pembentukan pucuk dan mampu memecah masa istirahat biji (*breaking dormancy*).




Gambar 4.6 Diagram persentase (%) tingkat keberhasilan pertumbuhan PLB anggrek *Phalaeonopsis* dan *Dendrobium* pada media padat

Berdasarkan gambar 4.6 di atas bahwa penanaman PLB pada media padat menunjukkan hasil persentase tingkat keberhasilan pertumbuhan PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp (var. *Snowtaeda*) 100% paling tinggi dibandingkan yang lainnya, yaitu; *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) perkembangan tumbuhnya mencapai 97%, *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile*) mencapai 88%, dan *Dendrobium* sp. (var. *Discolor*) 92% pada media padat.

Pembentukan tunas daun PLB *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) pada media padat mengalami diferensiasi organ. Menurut Manuhara (2007), Fase differensiasi yang terjadi pada organogenesis meliputi: *Fase induksi*, yaitu sel atau

jaringan kompeten dengan tanda pembentukan eksplan menjadi primordia (Schwarz *et al.*, 2005), kemudian fase dimana terjadi proses perkembangan dan differensiasi morfologi atau pembentukan organ (Mattjik, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman dipengaruhi oleh *faktor luar*, yaitu: air dan mineral, kelembaban, suhu, Cahaya. Sedangkan pengaruh *faktor dalam*, yaitu: faktor hereditas, merupakan faktor yang berkaitan dengan keturunan atau gen, dan hormon (Wittimena, 1992).

**4.3 Kajian Keislaman**

*Phalaenopsis* dan *Dendrobium* merupakan jenis anggrek yang banyak digemari masyarakat luas. Oleh karena itu, dicarikan solusinya sebagai langkah alternatif yaitu dengan pengambilan *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Phalaenopsis* dan *Dendrobium*, dan BAP sebagai zat pengatur tumbuh yang diharapkan dapat memicu perkembangan proliferasi dan pertumbuhan PLB untuk memproduksi PLB yang lebih banyak.

Keadaan fisik media akan mempengaruhi pertumbuhan kultur, kecepatan pertumbuhan dan diferensiasinya. Keadaan fisik media ini mempengaruhi pertumbuhan antara lain karena efeknya terhadap osmolaritas larutan dalam media serta ketersediaan oksigen bagi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan. Sehingga mempermudah kalangan umum yang memerlukannya. BAP tersebut dijadikan sebagai penentu arah perkembangan produksi PLB *Phalaenopsis* dan *Dendrobium* yang dalam jumlah banyak, sehingga jika diintegrasikan dengan pandangan islam bahwa penambahan dengan perlakuan zpt BAP ini merupakan suatu langkah

usaha positif manusia sebagai makhluk hidup (*Kholifatul ardhl*) yang diciptakan oleh Allah dalam menjaga kelestarian alam ini seperti kelestarian anggrek *Phalaenopsis* dan *Dendrobium* sebagaimana yang tertera dalam surat Ar-Baqarah ayat 60:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَٰٓئِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي ٱلْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوٓا۟ أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ ٱلدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۖ قَالَ إِنِّيٓ أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya:

*30. "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi." Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui."*