

**MORFOGENESIS ANGGREK (*Anoectochilus formosanus*)  
SECARA *IN VITRO***

*(Morphogenesis of Anoectochilus formosanus Orchids by in Vitro)*

**L. D. Saputri<sup>1</sup>, S. Isminingsih<sup>1</sup>, A. A. Fatmawaty<sup>1</sup>, F. Rachmawati<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian,  
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa,  
Jl. Raya Jakarta KM.4 Pakupatan, Serang, Banten,  
Telpon 0254-280330, Fax 0254-  
281254**

**<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanaman Hias-Segunung  
(Indonesian Ornamental Crop Research Institute),  
Jl. Raya Ciherang Segunung, Pacet Cianjur 43253,  
PO Box 8 Sindanglaya, Indonesia, e-mail: [liadwisp24@gmail.com](mailto:liadwisp24@gmail.com)**

**ABSTRACT**

*Anoectochilus formosanus* is one species of Orchids, known as a “Jewel Orchids” and have been used as a folk medicine in China and Taiwan. The aim of this study was to examine the response of using different types of explants and combination of growth regulators TDZ and BAP to morphogenesis of *Anoectochilus formosanus* Orchids by in vitro. The results showed that using different types of explants had very significant effect to the percentage of callus and shoot morphogenesis on 12 weeks after planting, the number of adventitious buds, adventitious shoot length, and callus diameter on three weeks until 12 weeks after planting. The best explant to callus morphogenesis was showing on shoot tip explant (50%) and to shoot morphogenesis was showing on axillary buds and internode explant (100%). The best number of adventitious buds was observed in second internode explant with average number of shoots are 7.62 shoots. The best adventitious length was observed in axillary buds explant with average number of shoot length in 1.16 cm, and the best callus diameter was observed in shoot tip explant with average of diameter in 2.2 mm. The combination of plant growth regulator TDZ and BAP had a very significant effect to adventitious length on 10 weeks after planting, and a significant effect to adventitious length on 11 and 12 weeks after planting. The best adventitious length was observed on 0.25 mg L<sup>-1</sup> TDZ + 0.75 mg L<sup>-1</sup> BAP in 1.13 cm per explant on 12 weeks after planting. The best combination to callus and shoot morphogenesis was observed on 0.75 mg L<sup>-1</sup> TDZ + 0.25 mg L<sup>-1</sup> BAP. There was no interaction between used a different types of explant and combination plant growth regulator to morphogenesis *Anoectochilus formosanus* orchids by in vitro.

Keywords: Adventitious buds, Axillary buds, Internode, Morphogenesis explants, Shoot tip, TDZ and BAP.

## PENDAHULUAN

Salah satu spesies anggrek bernilai ekonomi tinggi yang berpotensi sebagai tanaman hias dan memiliki manfaat sebagai obat adalah anggrek *Anoectochilus formosanus*. Jika biasanya anggrek dikenal sebagai tanaman hias bunga, maka tanaman *A. formosanus* berpotensi sebagai tanaman hias daun dikarenakan bentuk daunnya yang lebar, tipis, berwarna hijau gelap atau coklat keunguan dengan tulang daun berbentuk jaring dan berwarna perak (Ket *et al.*, 2004).

Di Asia, *A. formosanus* dikenal sebagai tanaman obat bagi masyarakat dan suplemen diet (Kuan *et al.*, 2011). Anggrek *A. formosanus* telah digunakan untuk mengobati penyakit hipertensi, paru-paru, dan kelainan hati di banyak negara khususnya di China dan Taiwan (Ket *et al.*, 2004). Anggrek ini banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan untuk mengobati beberapa jenis penyakit dikarenakan mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, glikosida sianogenik, tanin, karbohidrat dan terpenoid (Maridass *et al.*, 2008).

Dalam pengobatan tradisional di Taiwan, *A. formosanus* dalam keadaan segar maupun dikeringkan, dapat direbus dan digunakan untuk mengobati luka di dada dan perut, diabetes, nephritis, demam, hipertensi, impoten, liver dan penyakit limpa, pleurodynia, dan dalam keadaan segar digunakan sebagai obat luar luka akibat gigitan ular (Hu, 1971; Kan, 1986; Chiu dan Chang, 1995 dalam Shiau *et al.*, 2002). Selain itu, ekstrak *planlet A. formosanus* berpotensi sebagai bahan baku alami produk kosmetik untuk pemutih dan obat diet (Chang *et al.*, 2010). Berdasarkan hasil penelitian Yang *et al.* (2012), ekstrak encer dari *A. formosanus* efektif untuk kesehatan tulang dan dapat menghambat osteoporosis.

*A. formosanus* termasuk jenis tanaman herbal tahunan sehingga pertumbuhan dan perkembangannya dari perkecambahan benih sampai menjadi tanaman dewasa dan menghasilkan benih yang siap ditanam membutuhkan waktu 2-3 tahun (Tsay, 2002). Oleh karena itu diperlukan metode perbanyakan yang cepat yang mampu menghasilkan

benih dengan jumlah banyak dalam waktu yang lebih singkat.

Salah satu metode perbanyakan *A. formosanus* yang dapat dilakukan adalah dengan metode kultur jaringan. Selain karena waktu yang digunakan lebih singkat, teknik kultur jaringan juga dapat menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya. Keberhasilan teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis eksplan yang ditanam dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan. Interaksi antara jenis eksplan dan ZPT yang digunakan, akan mempengaruhi morfogenesis eksplan yang ditanam. Morfogenesis pada tanaman adalah permulaan karakteristik morfologi tanaman menjadi bentuk tanaman yang seutuhnya dimana terjadi proses pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel individu menjadi organisme utuh yang dapat dipengaruhi oleh faktor genetik maupun lingkungan.

Hasil penelitian Ket *et al.* (2004) eksplan ujung tunas yang ditanam pada media MS dan Hyponex dengan penambahan ZPT Thidiazuron dan BAP dengan konsentrasi 1-2 mgL<sup>-1</sup> menghasilkan

rata-rata 5,1-5,2 tunas baru dalam waktu tiga bulan. Sherif *et al.* (2017) menunjukkan eksplan tunas aksilar muda yang ditanam pada media MS+1,5 mgL<sup>-1</sup>, Thidiazuron menghasilkan rata-rata 4,2 tunas per eksplan, rata-rata panjang tunas 0,6 cm dan induksi tunas 70%. Putri (2018) menggunakan eksplan *internode*, dalam waktu delapan minggu setelah tanam menghasilkan regenerasi eksplan 92,36% dan inisiasi tunas adventif 83,33%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis eksplan tunas pucuk, tunas aksilar, dan *internode* serta kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP juga interaksi di antara keduanya terhadap arah morfogenesis anggrek *Anoectochilus formosanus* secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai bulan Februari 2019 bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi). Bahan tanam (eksplan) yang digunakan adalah *planlet* steril

*Anoectochilus formosanus* hasil perbanyakannya di Laboratorium Kultur Jaringan Balithi.

Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yang diulang sebanyak lima kali. Faktor pertama adalah jenis eksplan yaitu E<sub>1</sub> (tunas pucuk), E<sub>2</sub> (tunas aksilar), E<sub>3</sub> (*internode* pertama), E<sub>4</sub> (*internode* kedua) dan faktor kedua adalah empat kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP yaitu: T<sub>1</sub> (0,25 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,75 mgL<sup>-1</sup> BAP), T<sub>2</sub> (0,50 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,50 mgL<sup>-1</sup> BAP), T<sub>3</sub> (0,75 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,25 mgL<sup>-1</sup> BAP), dan T<sub>4</sub> (1,00 mgL<sup>-1</sup> TDZ).

### ***Pelaksanaan Penelitian***

#### ***Pembuatan Media Tanam***

Media dasar yang digunakan adalah media ½ MS yang dibuat dengan memipet setengah volume dari stok hara makro, hara mikro, Fe-Chellate, dan vitamin. Media dasar ½ MS ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh sesuai konsentrasi perlakuan dan ditambahkan gula sebanyak 20 gL<sup>-1</sup> dan aquadest hingga mencapai volume 1 liter lalu

dihomogenkan dan diukur pH media hingga mencapai 5,8, ditambahkan agar-agar sebanyak 6 gL<sup>-1</sup>. Setelah itu media diautoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C.

#### ***Persiapan Bahan Tanam***

Bahan tanam yang digunakan pada penelitian ini adalah planlet steril *Anoectochilus formosanus* yang berumur kira-kira satu tahun yang ditanam pada media MS + 0,2 mgL<sup>-1</sup> BAP + 0,02 mgL<sup>-1</sup> NAA dengan gula 30 gL<sup>-1</sup> dan agar 6 gL<sup>-1</sup> (Putri, 2018).

#### ***Penanaman (Inokulasi)***

Planlet *A. formosanus* dikeluarkan dalam botol dan diletakan pada petri kemudian diambil bagian tunas pucuk, tunas aksilar, *internode* kesatu, dan *internode* kedua. Bagian tunas pucuk diambil dengan cara membelah tunas aksilar yang tidak dijadikan bahan eksplan menggunakan bantuan pinset dan *scalpel*.

Setelah bahan tanam siap, masing-masing jenis eksplan ditanam pada botol berisi media sesuai perlakuan. Setiap perlakuan terdiri dari satu botol kultur yang diulang

sebanyak lima kali dan tiap botolnya berisi tiga buah eksplan.

### ***Inkubasi Kultur***

Hasil kultur diinkubasi di rak kultur di dalam ruang pemeliharaan dengan suhu 18-20°C yang dilengkapi dengan lampu *fluorescent* dengan penyinaran selama 20 jam per hari sampai dengan 12 minggu setelah kultur/inisiasi.

### ***Pengamatan dan Analisis Data***

Pengamatan dilakukan secara berkala setiap minggu dan pengambilan data dilakukan sesuai dengan rancangan respons yang sudah ditentukan. Selama pengamatan dilakukan juga

pengambilan foto dari setiap satuan percobaan sebagai dokumentasi dalam penelitian.

Hasil pengamatan dilakukan analisis ragam dan perlakuan yang memberikan pengaruh nyata hingga sangat nyata dilakukan uji lanjut menggunakan *Duncan Multiple Range Test* taraf 5% menggunakan software DSAASTAT 1.101.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

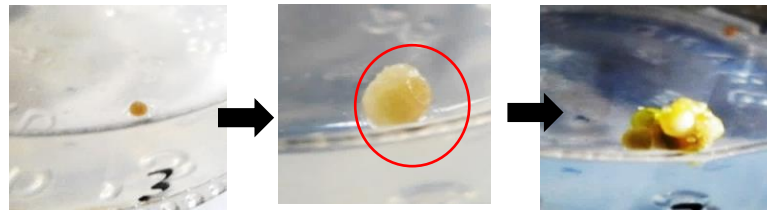
### ***Morfogenesis Kultur***

Hasil analisis keragaman menunjukkan penggunaan jenis eksplan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap morfogenesis kalus dan morfogenesis tunas.

Tabel 1. Pengaruh tunggal jenis eksplan terhadap persentase morfogenesis kultur (%).

| Jenis Eksplan (E)                          | Morfogenesis Kalus<br>.....%..... | Morfogenesis Tunas |
|--|-----------------------------------|--------------------|
| E <sub>1</sub> (Tunas Pucuk)               | 50,00 a                           | 50,00 a            |
| E <sub>2</sub> (Tunas Aksilar)             | 0,00 b                            | 100,00 b           |
| E <sub>3</sub> ( <i>Internode</i> Pertama) | 0,00 b                            | 100,00 b           |
| E <sub>4</sub> ( <i>Internode</i> Kedua)   | 0,00 b                            | 100,00 b           |
| Rata-rata                                  | 12,50                             | 87,50              |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji DMRT taraf 5%



Gambar 1. Morfogenesis kalus pada tunas pucuk



Gambar 2. Morfogenesis tunas pada tunas pucuk



Gambar 3. Morfogenesis tunas pada internode kedua

Berdasarkan Tabel 1, eksplan yang lebih muda mengalami morfogenesis ke arah kalus, sedangkan semakin tua eksplan yang digunakan cenderung bermorfogenesis secara langsung ke arah tunas (*organogenesis*). Tunas pucuk merupakan jenis eksplan yang memiliki umur jaringan paling muda diantara jenis eksplan tunas aksilar dan *internode*.

Selain karena perbedaan umur jaringan, perbedaan respons antara tunas pucuk dengan jenis eksplan yang lain disebabkan karena tunas pucuk mengandung hormon endogen

auksin yang lebih tinggi dari pada jenis eksplan lain yang digunakan dan merangsang pembentukan kalus ketika ditanam pada media yang mengandung sitokinin sehingga terjadi interaksi antara sitokinin pada media tanam dengan hormon endogen auksin yang memicu terjadinya pembelahan sel secara cepat.

Pada penelitian ini, media tanam mengandung TDZ dimana menurut Guo *et al.* (2011) TDZ berpotensi untuk menginduksi atau meningkatkan aktivitas hormon endogen auksin yang dapat memicu pembelahan pada jaringan tanaman.

Kondisi ini yang menyebabkan lebih aktif membelah dibandingkan pada jaringan yang muda sel-selnya dengan jaringan yang lebih tua.

Tabel 2. Pengaruh tunggal kombinasi zat pengatur tumbuh tdz dan bap terhadap persentase morfogenesis kultur (%).

| Kombinasi TDZ dan BAP  | Morfogenesis Kalus | Morfogenesis Tunas |
|--|--------------------|--------------------|
|  | .....%.....        |                    |
| T <sub>1</sub> (0,25 mgL <sup>-1</sup> TDZ + 0,75 mgL <sup>-1</sup> BAP) | 86,67              | 88,33              |
| T <sub>2</sub> (0,50 mgL <sup>-1</sup> TDZ + 0,50 mgL <sup>-1</sup> BAP) | 86,67              | 86,67              |
| T <sub>3</sub> (0,75 mgL <sup>-1</sup> TDZ + 0,25 mgL <sup>-1</sup> BAP) | 90,00              | 90,00              |
| T <sub>4</sub> (1,00 mgL <sup>-1</sup> TDZ)                              | 85,00              | 85,00              |
| Rata-rata  | 87,08              | 87,50              |

Berdasarkan Tabel 2 konsentrasi optimal untuk penggunaan TDZ dan BAP adalah dengan perbandingan konsentrasi 3:1. Pemberian TDZ tunggal dalam konsentrasi tinggi menghambat proses morfogenesis yang optimal pada eksplan, sedangkan konsentrasi TDZ yang lebih rendah dari pada BAP dan konsentrasi TDZ dan BAP yang seimbang belum memberikan hasil yang optimal pada proses morfogenesis eksplan.

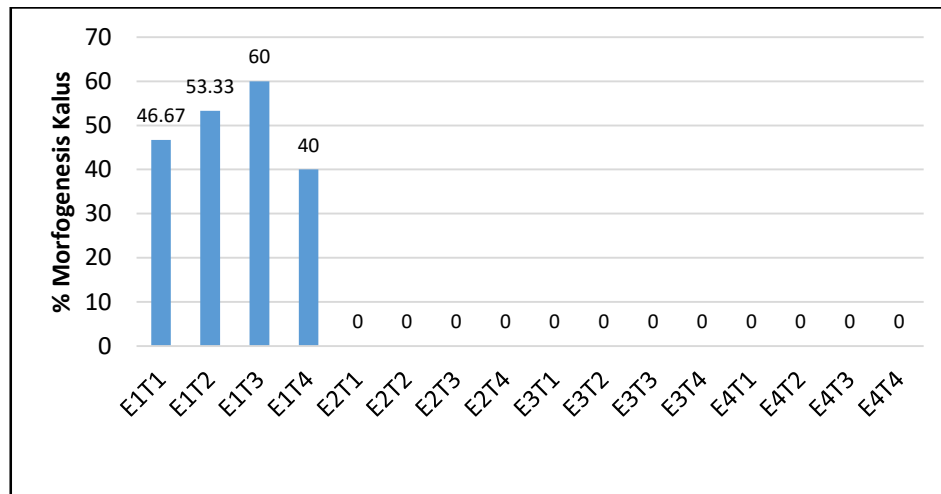
Peningkatan konsentrasi TDZ (0,75 mgL<sup>-1</sup>) yang dikombinasikan dengan BAP pada konsentrasi rendah (0,25 mgL<sup>-1</sup>) memberikan persentase morfogenesis kalus dan tunas yang paling baik. Hasil yang sama juga

dilaporkan oleh Rachmawati *et al.* (2016a) bahwa eksplan tunas pucuk *Dendrobium* Indonesia Raya 'Ina' yang ditanam pada media ½ MS + 1,5 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,50 mgL<sup>-1</sup> BAP menghasilkan kalus embrionik pada 9,3 hari setelah kultur.

Hal tersebut sesuai dengan Lestari (2011) bahwa zat pengatur tumbuh yang dapat merangsang pembentukan tunas umumnya menggunakan golongan sitokinin salah satunya adalah BA (*Benzyl Adenin*) yang mempunyai aktivitas yang lebih kuat dalam memacu penggandaan tunas dikarenakan mempunyai gugus *Benzyl*.

Interaksi antara jenis eksplan dengan kombinasi zat pengatur

tumbuh TDZ dan BAP memberikan pengaruh yang tidak nyata pada morfogensis kalus maupun morfogensis tunas.



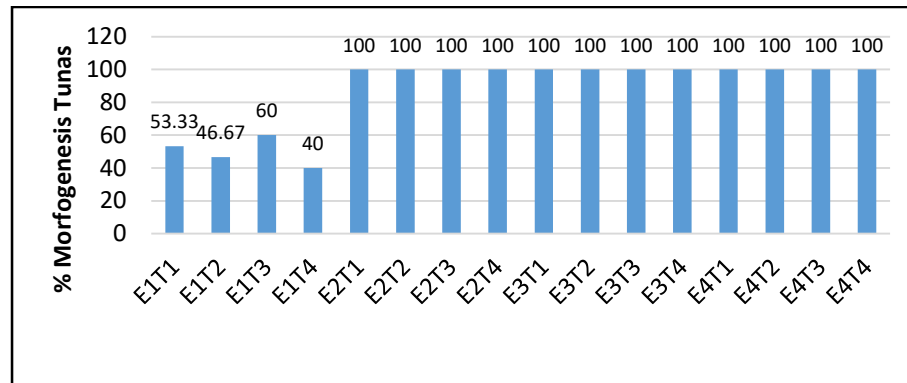
Gambar 1. Pengaruh jenis eksplan dan kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP terhadap persentase morfogensis kalus (%) *Anoectochilus formosanus* secara *in vitro*

Dari Gambar 1 terlihat eksplan yang merespons pembentukan kalus hanya eksplan tunas pucuk (eksplan dengan jaringan paling muda), dan tunas pucuk (E<sub>1</sub>) pada media dengan konsentrasi 0,75 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,25 mgL<sup>-1</sup> BAP (T<sub>3</sub>) memberikan persentase morfogensis kalus yang cenderung lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya.

Kehadiran TDZ dalam konsentrasi tinggi yang dikombinasikan dengan BAP dalam media terbukti merangsang pembentukan kalus pada eksplan

tunas pucuk, menurut Rachmawati *et al.* (2016b) potensi embriogenesis yang tinggi diduga dipengaruhi oleh sinergisme antara TDZ dan BA dimana BA berperan dalam menstimulasi pembelahan dan diferensiasi sel, sedangkan TDZ berperan dalam menstimulasi produksi dan akumulasi sitokinin pada sel-sel meristematik eksplan dan perannya sebagai inhibitor sitokinin oksidase yang mencegah terjadinya degradasi sitokinin tipe adenin.





Gambar 2. Pengaruh jenis eksplan dan kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP terhadap persentase morfogenesis tunas (%) *Anoectochilus formosanus* secara *in vitro*

Dilihat dari Gambar 2, semua eksplan pada semua kombinasi TDZ dan BAP memberikan respons dalam morfogenesis tunas, akan tetapi eksplan dengan jaringan paling muda cenderung mengalami morfogenesis tunas yang paling rendah dibandingkan dengan jenis eksplan lain yang memiliki umur jaringan lebih tua. Eksplan tunas aksilar ( $E_2$ ), *internode* pertama ( $E_3$ ), dan *internode* kedua ( $E_4$ ) 100%

### ***Jumlah Tunas Adventif***

Jenis eksplan memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter jumlah tunas adventif. Semakin tua umur jaringan eksplan maka semakin banyak jumlah tunas adventif yang dihasilkan. Selain itu, terjadinya perbedaan fase awal

mengalami morfogenesis tunas (*organogenesis*).

Dilihat dari kedua Gambar, semakin tinggi konsentrasi TDZ yang diberikan maka akan semakin menghambat morfogenesis eksplan, sedangkan semakin tinggi konsentrasi BAP yang digunakan maka akan semakin membantu mengoptimalkan proses morfogenesis eksplan.

pertumbuhan pada setiap jenis eksplan mempengaruhi jumlah tunas yang dihasilkan. Tunas pucuk mengalami fase pembentukan kalus terlebih dahulu sedangkan eksplan tunas aksilar dan *internode* langsung mengalami pembentukan tunas.

Tabel 3. Pengaruh tunggal jenis eksplan terhadap jumlah tunas adventif (tunas).

| Jenis Eksplan  | Umur Tanaman (MST) |       |        |       |       |       |       |       |                   |       |       | Rata-rata |
|----------------|--------------------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------|-------|-------|-----------|
|                | 2                  | 3     | 4      | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10                | 11    | 12    |           |
| E <sub>1</sub> | 0,00               | 0,15a | 0,33a  | 0,45a | 0,65a | 0,87a | 1,30a | 1,68a | 2,24a             | 2,52a | 3,26a | 1,20      |
| E <sub>2</sub> | 0,00               | 0,50b | 0,90b  | 1,43b | 1,77b | 1,97b | 2,59b | 3,12b | 3,35b             | 3,65b | 3,92b | 1,93      |
| E <sub>3</sub> | 0,00               | 0,65c | 1,10c  | 1,70b | 2,23c | 2,55c | 3,22c | 4,10c | 4,73c             | 5,04c | 5,32c | 2,55      |
| E <sub>4</sub> | 0,00               | 0,61c | 0,95bc | 2,06c | 2,74d | 3,57d | 4,66d | 6,44d | 6,10 <sup>d</sup> | 6,98d | 7,62d | 3,48      |
| Rata-rata      | 0,00               | 0,48  | 0,82   | 1,41  | 1,85  | 2,24  | 2,94  | 3,84  | 4,10              | 4,55  | 5,03  | 2,27      |

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji DMRT taraf 5%.

E<sub>1</sub> (tunas pucuk); E<sub>2</sub> (tunas aksilar); E<sub>3</sub> (*internode* pertama); E<sub>4</sub> (*internode* kedua).

Dilihat dari Tabel 3, jenis eksplan *internode* kedua merupakan jenis eksplan terbaik yang memberikan jumlah tunas sebanyak 7,62 tunas per eksplan selama 12 MST. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2000) bahwa penggunaan *internode* lebih efektif dalam meregenerasi pembentukan tunas adventif pada tanaman *Adenophora trphylla* dan

*Adenophora verticillata* dibandingkan dengan eksplan daun dan nodus.

#### ***Tinggi Tunas Adventif***

Jenis eksplan dan kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP memberikan pengaruh tunggal yang berbeda nyata pada parameter tinggi tunas adventif, akan tetapi interaksi keduanya memberikan pengaruh yang tidak nyata (Tabel 4 dan 5).

Tabel 4. Pengaruh tunggal jenis eksplan terhadap tinggi tunas adventif (cm).

| Jenis Eksplan  | Umur Tanaman (MST) |       |        |       |       |        |       |       |       |        |        | Rata-rata |
|----------------|--------------------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|-----------|
|                | 2                  | 3     | 4      | 5     | 6     | 7      | 8     | 9     | 10    | 11     | 12     |           |
| E <sub>1</sub> | 0,00               | 0,03a | 0,09a  | 0,15a | 0,19a | 0,28a  | 0,31a | 0,37a | 0,41a | 0,43a  | 0,44a  | 0,19      |
| E <sub>2</sub> | 0,01               | 0,24b | 0,51b  | 0,69b | 0,81b | 0,89c  | 0,91b | 0,96b | 1,05c | 1,08c  | 1,16c  | 0,69      |
| E <sub>3</sub> | 0,01               | 0,26b | 0,55c  | 0,71b | 0,80b | 0,84bc | 0,88b | 0,91b | 0,9bc | 1,01bc | 1,06bc | 0,67      |
| E <sub>4</sub> | 0,00255            | 0,27b | 0,51bc | 0,67b | 0,77b | 0,79b  | 0,84b | 0,86b | 0,92b | 0,94b  | 1,00b  | 0,63      |
| Rata-rata      | 0,005              | 0,20  | 0,42   | 0,55  | 0,64  | 0,70   | 0,74  | 0,78  | 0,84  | 0,6    | 0,9    | 0,54      |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji DMRT taraf 5%.

E<sub>1</sub> (tunas pucuk); E<sub>2</sub> (tunas aksilar); E<sub>3</sub> (*internode* pertama); E<sub>4</sub> (*internode* kedua).

Eksplan tunas aksilar memberikan nilai tinggi tunas tertinggi dibandingkan jenis eksplan lainnya dikarenakan jaringan pada eksplan tunas aksilar lebih muda dibandingkan dengan jaringan pada *internode* pertama maupun kedua. Semakin muda jaringan maka semakin aktif pula jaringan tersebut mengalami pembelahan. Meskipun tunas pucuk memiliki jaringan lebih muda dari tunas aksilar, terjadinya fase morfogenesis kalus terlebih dahulu pada tunas pucuk menyebabkan tinggi tunas yang dihasilkan lebih rendah dari pada jenis eksplan lain. Hal tersebut serupa dengan hasil penelitian Sherif *et al.* (2017) yang menggunakan eksplan tunas pucuk dan tunas aksilar dalam propagasi secara *in vitro* tanaman *Anoectochilus elatus* dimana eksplan tunas aksilar memberikan respons yang lebih baik pada inisiasi tunas, jumlah tunas yang dihasilkan, dan tinggi tunas dibandingkan dengan eksplan tunas pucuk.

Tabel 5. Pengaruh tunggal kombinasi zat pengatur tumbuh tdz dan bap terhadap tinggi tunas adventif (cm).

| Kombinasi ZPT  | Umur Tanaman (MST) |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       | Rata-rata |
|----------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-----------|
|                | 2                  | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10    | 11    | 12    |           |
| S              | 0,0025             | 0,18 | 0,42 | 0,58 | 0,66 | 0,78 | 0,77 | 0,80 | 0,92b | 0,98b | 1,03b | 0,59      |
| T <sub>2</sub> | 0,005              | 0,24 | 0,41 | 0,52 | 0,61 | 0,67 | 0,76 | 0,82 | 0,92b | 0,90b | 0,95b | 0,57      |
| T <sub>3</sub> | 0,005              | 0,23 | 0,44 | 0,58 | 0,69 | 0,73 | 0,79 | 0,82 | 0,86b | 0,89b | 0,93b | 0,58      |
| T <sub>4</sub> | 0,005              | 0,14 | 0,39 | 0,52 | 0,59 | 0,62 | 0,62 | 0,65 | 0,66a | 0,70a | 0,74a | 0,47      |
| Rata-rata      | 0,004              | 0,20 | 0,42 | 0,55 | 0,64 | 0,70 | 0,74 | 0,77 | 0,84  | 0,87  | 0,91  | 0,55      |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji DMRT taraf 5%.

T<sub>1</sub> (½ MS + 0,25 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,75 mgL<sup>-1</sup> BAP); T<sub>2</sub> (½ MS + 0,50 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,50 mgL<sup>-1</sup> BAP); T<sub>3</sub> (½ MS + 0,75 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,25 mgL<sup>-1</sup> BAP); T<sub>4</sub> (½ MS + 1,00 mgL<sup>-1</sup> TDZ).

Kombinasi 0,25 mgL<sup>-1</sup> TDZ dengan 0,75 mgL<sup>-1</sup> BAP memberikan pengaruh terbaik pada parameter tinggi tunas adventif. Semakin tinggi

konsentrasi TDZ akan menghambat pertumbuhan tinggi tanaman. Hal tersebut dikarenakan TDZ menginduksi dan mengaktifkan etilen endogen yang memberikan respons terhadap penghambatan pemanjangan batang terutama pada tanaman dikotil (Salisbury dan Ross, 1995).

Thidiazuron termasuk ke dalam kelompok zat pengatur tumbuh sitokinin yang paling aktif diantara zat sitokinin lainnya dalam menstimulasi pembentukan dan perkembangan tunas secara *in vitro* pada berbagai spesies tanaman

(Khawar *et al.*, 2004). TDZ merupakan salah satu sitokinin yang dapat meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas, menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar (Lu, 1993).

#### ***Diameter Kalus***

Kalus merupakan respons dari organogenesis tidak langsung yang umum terjadi pada perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Jenis eksplan memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter diameter kalus dikarenakan hanya eksplan tunas pucuk yang mengalami pembentukan kalus terlebih dahulu.

Tabel 6. Pengaruh tunggal jenis eksplan terhadap diameter kalus (mm).

| Jenis Eksplan  | Umur Tanaman (MST) |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | Rata-rata |
|----------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
|                | 2                  | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |           |
| E <sub>1</sub> | 0,02               | 0,23a | 0,58a | 0,92a | 1,30a | 1,63a | 1,72a | 1,81a | 2,06a | 2,13a | 2,22a | 1,22a     |
| E <sub>2</sub> | 0,00               | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b     |
| E <sub>3</sub> | 0,00               | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b     |
| E <sub>4</sub> | 0,00               | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b | 0,00b     |
| Rata-rata      | 0,005              | 0,06  | 0,14  | 0,23  | 0,32  | 0,41  | 0,43  | 0,45  | 0,52  | 0,53  | 0,55  | 0,31      |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji DMRT taraf 5%. E<sub>1</sub> (tunas pucuk); E<sub>2</sub> (tunas aksilar); E<sub>3</sub> (*internode* pertama); E<sub>4</sub> (*internode* kedua).

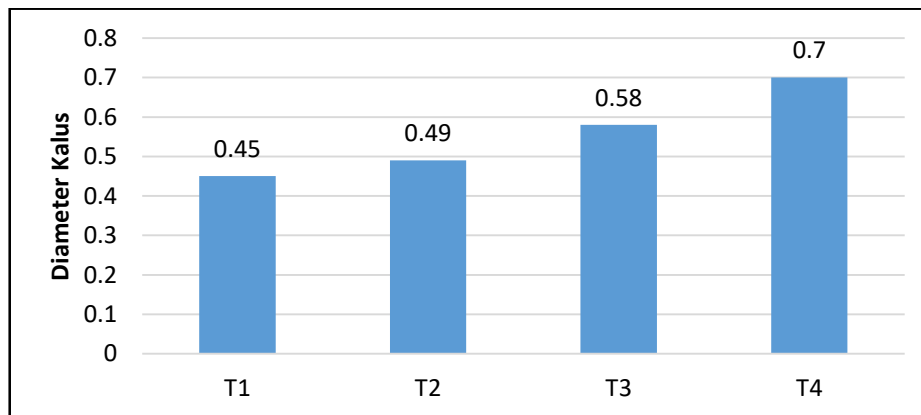
Rendahnya diameter kalus yang dihasilkan diduga karena zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media bukan merupakan zat pengatur tumbuh yang dapat memicu

induksi kalus pada eksplan. Menurut Lestari (2011), zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk memproduksi kalus embrionik adalah zat pengatur

tumbuh golongan auksin kuat seperti 2,4-D, dicamba atau picloram.

Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Putri (2018) yang menggunakan kombinasi media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh

NAA dan BAP pada regenerasi eksplan *internode* tanaman *Anoectochilus formosanus* tidak menghasilkan pembentukan kalus pada semua perlakuan yang digunakan.



Gambar 3. Pengaruh tunggal kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP terhadap diameter kalus (mm) *Anoectochilus formosanus* pada 12 MST secara *In Vitro*.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa media dengan kombinasi 1,00 mgL<sup>-1</sup> TDZ (T4) tanpa penambahan BAP menjadi media yang cenderung lebih baik dalam membantu pertumbuhan dan perkembangan kalus.

### SIMPULAN

Morfogenesis kalus terbaik dihasilkan pada eksplan tunas pucuk,

sedangkan tunas terbaik dihasilkan pada eksplan tunas aksilar. Kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BAP yang memberikan persentase morfogenesis paling optimal baik morfogenesis kalus maupun tunas adalah kombinasi pada konsentrasi 0,75 mgL<sup>-1</sup> TDZ + 0,25 mgL<sup>-1</sup> BAP.

## SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan kondisi inkubasi gelap untuk proses inisiasi dan proliferasi kalus anggrek *Anoectochilus formosanus* secara *in vitro*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan komposisi media yang berbeda untuk pembesaran dan pengakaran anggrek *Anoectochilus formosanus* secara *in vitro*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Balai Penelitian Tanaman Hias yang telah membiayai dan memfasilitasi pelaksanaan kegiatan penelitian ini dan kepada program studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa yang telah mendukung dan memberikan masukan pada penulisan jurnal ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- C.C. Chen., S.J. Chen., A.P. Sagare., dan H.S. Tsay. 2000. Adventitious Shoot Regeneration from Stem Internode Explans of *Adenophora triphylla* (Thunb.) A. DC. (Campanulaceae)-an Important Medicinal Herb. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42: 1-7.
- Chang, M.P., M.S. Jeoung., K.Y. Paek., dan J.W. Choi. 2010. Inhibitory Effect of Jewel Orchid (*Anoectochilus formosanus*) Planlet Extract against Melanogenesis and Lipid Droplet Accumulation. *J. Soc. Cosmet. Scientist Korea.* 36 (2): 145-150.
- Chiu, N.Y., dan K.H. Chang. 1995. *Anoectochilus formosanus* Hayata, in *The Illustrated Medical Plants of Taiwan*. Vol. 4, SMC Publishing Inc., Taipei, Taiwan. 282-283 (in Chinese).
- Guo, B., Abbasi, B.H., Zeb, A., Xu LL., Wei, Y.H. 2011. Thidiazuron: a Multi-Dimensional Plant Growth Regulator. *Afr J Biotech* 10 (45): 8984-9000.
- Hu, S.Y. 1971. The Orchidaceae of China. *Quart. J. Taiwan Mus.* 24: 67-103.
- Kan, W.S. 1986. *Anoectochilus formosanus* Hay. In *Pharmaceutical Botany*. National Research Institute of Chinese Medicine, Taipei, Taiwan. 647. (in Chinese).
- Ket, N.V., E.J. Hahn., S.Y. Park., D. Chakrabarty., dan K.Y. Paek. 2004. Micropropagation of an Endangered Orchid *Anoectochilus formosanus*. *Biologi Plantarium* 48 (3): 339-334.
- Khawar, K.M., C. Sancak., S. Uranbey., dan S. Özcan. 2004. Effect of Thidiazuron on Shoot Regeneration from Different Explants of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) via Organogenesis. *Turk. J. Bot.* 28: 421-426.

- Kuan, Y.C., Wu, T.J., Kuo, C.Y., Hsu, J.C., Chang W.Y., Sheu, F. 2011. Molecular Cloning of a New Immunomodulatory Protein from *Anoectochilus formosanus* which Induces B Cell IgM Secretion through a T-Independent Mechanism. *PLoS ONE* 6 (6): e21004.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman secara Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen* 7 (1): 63-68.
- Lu, C.Y. 1993. The Use of Thidiazuron in Tissue Culture. *In Vitro Cellular & Develpomental Biology*. 29:92-96.
- Maridass, M., M.I. Zahir Hussain., dan G. Raju. 2008. Phytochemical Survey of Orchids in the Tirunelveli Hills of South India. *Ethnobotanical Leaflets* 12: 705-12.
- Putri, Y. A. 2018. Pengaruh Eksplan Internode dan Komposisi Media Terhadap Inisiasi Tunas Adventif Anggrek *Anoectochilus formosanus* secara *In Vitro*. Skripsi Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Serang.
- Rachmawati, F., B. Winarno., N.M.A. Wiendi., N.A. Mattjik., dan A. Purwito. 2016a. Perbanyakan *In Vitro Dendrobium* Indonesia Raya 'Ina' melalui Embriogenesis Somatik Berbasis Sistem Bioreaktor. *J. Agron. Indonesia* 44 (3): 306-314.
- Rachmawati, F., Purwito, A., Wiendi, N.M.A., Mattjik, N.A., dan Winarno, B. 2016b. Pengembangan Teknologi Perbanyakan *Dendrobium* Melalui Embriogenesis Somatik Berbasis Bioreaktor. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Salisbury, B.F., dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. Terjemahan: DR. Lukman dan Sumaryono. Bandung: ITB Bandung. 238-255.
- Sherif, N.A., T.S. Kumar., dan M.V. Rao. 2017. In vitro Propagation and Genetic Stability Assessment of an Endangered Terrestrial Jewel Orchid *Anoectochilus elantus* Lindl. *Indian Journal of Experimental Biology*. 55: 853-863.
- Shiau, Y.J., A.P. Sagare., U.C. Chen., S.R. Yang., dan H.S. Tsay. 2002. Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by Artificial Cross-Pollination and In Vitro Culture of Seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 43: 123-130.
- Tsay, H.S. 2002. Use of Tissue Culture for the Mass Propagation of Pathogen-Free Plants. [http://www.tc.agnet.org/html/area\\_file/library/20110805115956/tb158.pdf](http://www.tc.agnet.org/html/area_file/library/20110805115956/tb158.pdf). Diakses pada Januari 2019.
- Yang, L.C., J.B. Wu, T.J. Lu, dan W.C. Lin. 2012. The Prebiotic Effect of *Anoectochilus formosanus* and Its Consequences on Bone Health. *British Journal of Nutrition* 109: 1779-1788.