

PERTUMBUHAN ANGGREK *Rhynchostylis retusa* PADA MEDIUM KULTUR *In Vitro* DENGAN PENAMBAHAN JUS BUAH PISANG

***Rhynchostylis retusa* GROWTH IN IN-VITRO CULTURE MEDIUM SUPPLEMENTED WITH BANANA JUICE**

Oleh: Afrizal Haris, Dr. Ixora Sartika Mercuriani, M.Si., Biologi, Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta

Email: 13308144014@student.uny.ac.id, ixomerc@uny.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah Mengetahui pengaruh jus buah pisang terhadap pertumbuhan anggrek *Rhynchostylis retusa* (*R. Retusa*), mengetahui konsentrasi jus buah pisang yang optimum untuk meningkatkan pertumbuhan anggrek *R. retusa* dan mengetahui stadium pertumbuhan anggrek *R. retusa* pada medium dengan penambahan jus buah pisang. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu pada tahap perkecambahan biji dan pada tahap pertumbuhan awal tanaman. Pada tahap perkecambahan biji dicobakan variasi medium dengan penambahan berbagai konsentrasi jus buah pisang sebesar 0, 50, 100, 150, 200 gr.l⁻¹. Pada tahap pertumbuhan awal dicobakan variasi medium dengan penambahan berbagai konsentrasi jus buah pisang sebesar 0, 50, 100 gr.l⁻¹. Medium dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah New Phalaenopsis. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan stadia pertumbuhan dan pertumbuhan *R. retusa*. Pertumbuhan yang diamati berupa persentase perkecambahan biji, persentase pertumbuhan daun dan akar. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek teramati sebanyak 6 stadia, berdasar pembentukan protokorm dapat dibagi menjadi dua yaitu fase pertumbuhan awal dan fase pertumbuhan lanjut. Pada tahap perkecambahan biji persentase perkecambahan tertinggi pada medium P0 (tanpa penambahan jus buah pisang) yaitu sebesar 57,67% sedangkan persentase perkecambahan terendah terjadi pada perlakuan P200 (penambahan 200 gr.l⁻¹ jus buah pisang) yaitu sebesar 35,18 %. Pada tahap pertumbuhan awal tanaman, protokorm dengan daun dan akar tertinggi pada medium P0 yaitu berturut-turut sebesar 73,33 %, 16,66 % sedangkan pertumbuhan terendah pada medium P100 yaitu berturut-turut 38,89 %, 0 %.

Kata kunci: *In vitro*, jus buah pisang, *Rhynchostylis retusa*

Abstract

The aims of this research is to know the effect of banana juice on growth *Rhynchostylis retusa* (*R. Retusa*), the optimum concentration of banana juice for *R. retusa* and the growth stadium of *R. retusa* on medium supplemented with the addition of banana juice. This research was conducted in two steps, which are seed germination and early growth plant. For seed germination, the seeds are sown on medium supplemented with various concentration of banana juice at 0, 50, 100, 150, 200 gr.l⁻¹. For early plant growth, the protocorms are planted on medium by addition of various concentrations of banana juice at 0, 50, 100 gr.l⁻¹. Observation on growth until 8 week for percentage of germinated seed and growth stages. Observation on percentage of leafy and rooted protocorm until 4 week. The results showed the growth and development of orchid seeds observed was 6 stadium, based on the formation of protocorm can be divided into two which are initial growth phase and the advanced growth phase. The highest seed germination was yielded on P0 medium (57.67%) while the lowest percentage of germination was yielded on P200 medium (35.18%). In early plant growth, the highest percentage of leafy protocorm on medium P0 (73.33 %). The highest percentage of rooted protocorm on medium P0 (16.66 %). While the lowest growth was on P100 medium, was 38.89% for percentage of leafy protocorm and 0% for percentage of rooted protocorm.

Keywords: *In vitro*, banana juice, *Rhynchostylis retusa*

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan salah satu tanaman dengan permintaan pasar yang tinggi dan cenderung terus meningkat (Departemen pertanian, 2005: 1). Hal tersebut terkait manfaat anggrek yang beragam yaitu sebagai tanaman hias, bahan baku obat (Chauhan 1999: 42) hingga bahan baku kosmetik (Teoh, 2016: 634). Salah satu anggrek dari *tribe* vanda yang populer sebagai tanaman dekorasi adalah anggrek *Rhynchostylis retusa* (*R. retusa*). Anggrek yang memiliki julukan “ekor rubah” ini banyak ditemukan di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Masyarakat di kawasan Asia Tenggara umumnya hanya memanfaatkan anggrek *R. retusa* sebagai tanaman dekorasi saja. Berbeda dengan masyarakat di Asia Selatan, terutama India, yang juga memanfaatkan anggrek tersebut sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam penyakit (Teoh, 2016: 633-634).

Diperkirakan kebutuhan anggrek ekor rubah sebagai bahan baku obat akan terus meningkat. Hal tersebut terkait dengan kecenderungan peningkatan penggunaan obat herbal di beberapa negara, terutama di kawasan Asia (Murdopo, 2014: 6). Proyeksi kebutuhan anggrek di masa depan tersebut, perlu didukung dengan pengembangan perbanyakan bibit anggrek *R. retusa* agar kebutuhan pasar terpenuhi namun kelestarian anggrek tersebut di alam tetap terjaga. Pengembangan tersebut membutuhkan teknik yang optimum untuk menangani kendala perbanyakan bibit anggrek secara konvensional. Disamping setiap biji setiap anggrek memiliki tingkat viabilitas yang berbeda, salah satu kendala utama yaitu kondisi internal biji anggrek yang

tidak memiliki endosperm (Kalimuthu, *et al.*, 2007: 1171). Keadaan tersebut mengharuskan biji anggrek bersimbiosis dengan mikoriza. Melalui proses yang kompleks, mikoriza tersebut akan menyediakan dan menyalurkan nutrisi bagi biji anggrek untuk berkecambah (Tibbs, 2008: 24). Seiring perkembangan zaman dan majunya ilmu pengetahuan, kini telah ditemukan kondisi artifisial untuk mengecambahkan biji anggrek yaitu dengan metode kultur *in vitro*. Metode kultur *in vitro* (kultur kalus) juga berpotensi menjadi sarana untuk memanfaatkan anggrek sebagai bahan baku obat dengan memanen metabolit sekunder saat tanaman anggrek berwujud kalus. Menurut Hendaryono (1994 : 33) metabolit sekunder (alkaloid, steroid dan terpenoid) yang dipanen dalam kalus lebih tinggi kuantitasnya dibanding dalam tumbuhan yang ditanam secara konvensional.

Metode kultur *in vitro* telah lama digunakan sebagai sarana budidaya anggrek. Namun, diperlukan inovasi lebih lanjut agar teknik kultur *in vitro* dapat menjadi lebih efektif dan efisien. Salah satu upaya tersebut adalah melakukan optimasi medium dengan penambahan bahan organik. Penambahan bahan organik dalam medium akan menimbulkan dampak pada eksplan karena bahan organik mengandung zat-zat tertentu seperti nutrisi dan senyawa organik lain. Nutrisi yang terkandung dalam pisang raja sereh diantaranya adalah protein ($1,20 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), lemak ($0,20 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), karbohidrat ($31,10 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), kalsium ($7 \text{ mg. } 100\text{g}^{-1}$), zat besi ($0,3 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$), vitamin A ($112 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$), dan vitamin C ($4 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$). Selain itu menurut Direktorat Jenderal Bina Reproduksi Holtikultura, pisang

raja sereh juga mengandung fosfor yang jumlahnya lebih tinggi dibanding dengan jenis pisang lain (ambon, raja, uli, mas) yaitu sebesar $29 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (Pazil, 2009 : 2). Keberadaan fosfor (P) sangat penting untuk pertumbuhan dan fekunditas tanaman. Dalam tanaman fosfor merupakan komponen integral dari molekul genetik, metabolik, struktural dan regulator, yang banyak di antaranya tidak dapat digantikan oleh unsur lain (White & John, 2008: 51). Selain nutrisi, buah pisang juga mengandung senyawa organik lain yaitu hormon auksin dan giberelin (Arditti dan Ernts, 1993: 516). Hormon auksin dan giberelin merupakan hormon yang mempunyai peran penting sepanjang perkecambahan dan pertumbuhan protokorm (Yeung, 2017: 6). Jus buah pisang merupakan tambahan medium yang umum digunakan dalam kultur *in vitro*. Namun penambahan jus buah pisang raja sereh pada medium kultur anggrek *R. retusa* belum pernah dilaporkan.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu faktor yang dilakukan dalam 2 tahap penelitian.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 4 bulan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri

Yogyakarta dari 24 Oktober 2016 sampai dengan 18 Februari 2017.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi jus buah pisang, variable terikat adalah pertumbuhan dan variable terkontrol suhu konstan 25°C dan pencahayaan dengan lampu TL.

Prosedur

Sterilisasi dilakukan pada seluruh peralatan yang digunakan dengan menggunakan autoklaf (T: 121°C ; t: 30 menit). Pembuatan jus buah pisang dilakukan dengan memblender pisang 50 gr pada air 100 ml. Perhitungan pengambilan volume jus buah pisang yang akan digunakan untuk setiap perlakuan adalah:

$$V1.M1=V2.M2$$

Keterangan :

V1 = Volume jus buah pisang yang diperlukan untuk membuat 100 ml medium

V2 = Volume larutan medium yang akan dibuat (1.000 ml).

M1 = Konsentrasi dari jus buah pisang larutan stok ($0,5 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$).

M2 = Konsentrasi jus buah pisang sesuai perlakuan ($50 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$, $100 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$, $150 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$, $200 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$).

Sehingga untuk perlakuan P0 ($0 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$), P50 ($50 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$), P100 ($100 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$), P150 ($150 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$), P200 ($200 \text{ gr} \cdot \text{l}^{-1}$) berturut-turut adalah 0, 10, 20, 30, 40 ml. Medium yang digunakan adalah medium NP instan. Pada medium tahap

perkecambahan biji agar yang ditambahkan sebanyak 6,5 gr.1000ml⁻¹ sedangkan pada medium pertumbuhan awal tanaman agar yang ditambahkan sebanyak 7 gr.1000ml⁻¹.

Pada tahap perkecambahan biji, penaburan biji angrek dilakukan secara aseptik didalam *Laminar Air Flow* (LAF). Buah angrek sebelumnya dibersihkan menggunakan sabun dan disikat. Kemudian buah angrek dicelupkan ke dalam alkohol 95% hingga tenggelam dan dilewatkan di atas nyala api lampu bunsen sebanyak 3 kali. Setelah terbakar, segera memadamkan api pada buah angrek lalu meletakkan pada cawan petri. Buah dibelah kemudian biji dikeluarkan dan diambil secukupnya untuk ditabur diatas medium.

Protokorm angrek yang digunakan pada tahap pertumbuhan awal tanaman adalah protokorm stadium 6 yang ditumbuhkan pada tahap perkecambahan biji dalam medium P0 berumur 8 minggu setelah tanam (mst). Pemindahan protokorm ke dalam botol kultur medium pertumbuhan awal tanaman dilakukan secara aseptik di dalam LAF.

Pengamatan dan Teknik Pengumpulan Data

Pengamatan terhadap pertumbuhan biji angrek dilakukan seminggu sekali menggunakan mikroskop stereo nikon model C-DSD230 hingga 8 MST. Pengamatan ini dilakukan dengan mengambil foto dengan menggunakan kamera *optic lab*. Hasil foto kemudian diamati dengan mengklasifikasikan pertumbuhan biji dan menghitung dengan menggunakan *counter*.

Teknik Analisis Data

Data hasil pengamatan kultur biji angrek *R. retusa* dengan kelompok kontrol yaitu medium tanpa penambahan jus buah pisang dan kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi jus buah pisang dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif kuantitatif.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

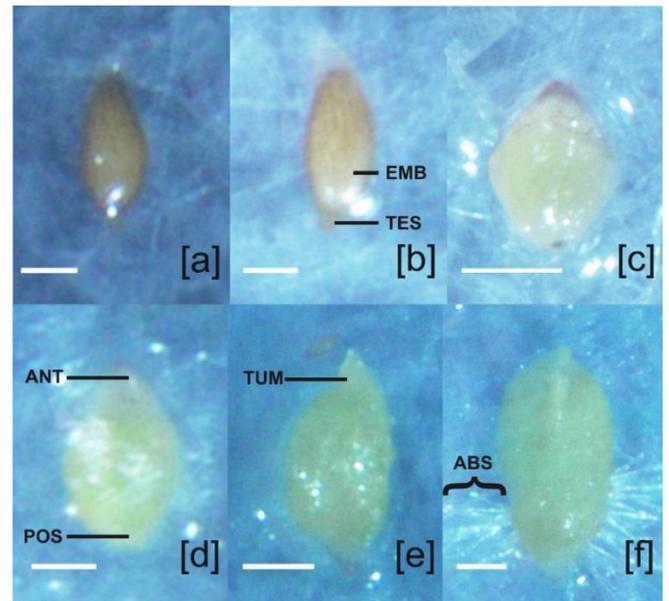
Stadium Pertumbuhan *R. Retusa* Pada Tahap Perkecambahan Biji

Pertumbuhan biji *R. retusa* pada tahap perkecambahan biji hingga 8 minggu setelah tanam (mst) teridentifikasi sebanyak 6 stadium (Gambar 6). Berdasarkan ukuran stadium dan pembentukan protokorm maka stadium pertumbuhan tersebut dapat di kelompokkan kembali menjadi 2 fase yaitu; 1) Fase pertumbuhan awal (stadium 1-4) 2) Fase pertumbuhan lanjut (stadium 5-6).

Pada stadium 1 tampak embrio diselubungi oleh testa (Gambar 6). Embrio mulai berkembang pada stadium 2 hingga memenuhi testa. Hal tersebut di tandai dengan warna testa yang tampak lebih pucat dan bentuk yang semakin oval. Perubahan warna tersebut mengindikasikan bahwa testa mengalami dorongan kuat akibat desakan oleh embrio yang terus mengalami peningkatan ukuran. Pertambahan ukuran embrio memenuhi testa juga mengakibatkan bentuk biji menjadi oval (Knudson, 1993 : 4). Pertambahan ukuran embrio pada biji terjadi akibat pembelahan sel (Sinha, 2004 : 447) setelah embrio mendapatkan nutrisi dari medium. Nutrisi tersebut dapat masuk melalui testa karena struktur testa memungkinkan terjadinya difusi. Penelitian yang dilakukan oleh

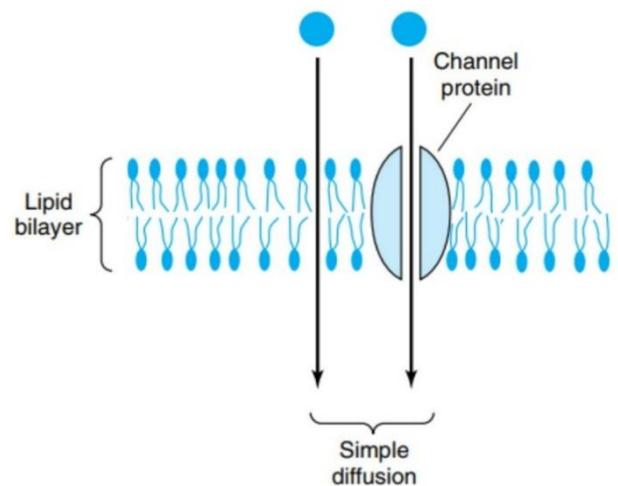
Carlson pada 1940 telah menunjukkan bahwa dinding testa tidak mengandung kutin (Arditti, 1967 : 4). Kutin bersifat lipofilik (Schreiber, 2005 : 1071) sehingga tidak adanya kutin memungkinkan testa dapat melakukan difusi terhadap zat nutrisi yang lebih banyak macamnya. Disamping itu, testa hanya terdiri atas 1 lapisan sel (Gallo *et al.*, (2014 : 68) sehingga keberadaannya tidak mempersulit untuk menyalurkan nutrisi dari luar ke dalam biji secara difusi. Menurut Roberts (1986 : 47), difusi didefinisikan sebagai pergerakan partikel (misalnya molekul atau ion) dari suatu tempat berkonsentrasi yang relatif tinggi ke tempat berkonsentrasi yang lebih rendah (Gambar 7). Pergerakan partikel secara spontan tersebut, menurut Mohr & Shopfer (1995 : 69), didorong oleh gradien konsentrasi (potensial kimia). Pada stadium 2 belum terlihat adanya perubahan warna hijau. Hal tersebut menunjukkan belum adanya klorofil pada sel-sel embrio yang berkembang. Sesuai dengan pengamatan Arditti (1967 : 5) bahwa pada awal pembengkakan embrio tidak ditemukan klorofil.

Pertumbuhan terus terjadi hingga terbentuk bangun seperti bola kecil. Menurut Knudson (1922 :4) terbentuknya bangun tersebut akibat pembesaran embrio kearah melintang. Pembesaran embrio mengakibatkan testa terus terdesak Pada stadium 3. Pada stadium tersebut, klorofil mulai disintetis sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi kehijauan. Arditti dan Ernest (1993 : 682) memaparkan bahwa, pada protokorm anggrek, sintesis klorofil ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau. Selain itu,



sisi posterior dan anteriornya mulai tampak pada stadium ini.

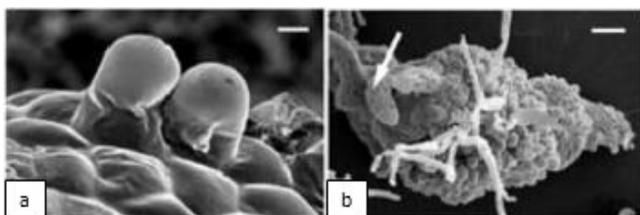
Gambar 6. Stadium perkembangan biji anggrek *R. Retusa*. [a] stadium 1; [b] stadium 2; [c] stadium 3; [d] stadium 4; [e] stadium 5; [f] stadium 6; TES: testa; EMB: embrio; ABS: *absorbing hairs*; ANT: anterior; POS: posterior. bar skala : a-b: 40µm; c-d: 80µm; e-f: 160 µm



Gambar 7. Ilustrasi difusi (Murray, dkk.,2003 : 544)

Peningkatan ukuran terus terjadi hingga testa pecah pada stadium 4. Pecahnya testa terjadi karena pembengkakan sudah melampaui batas elastisitas membran sel yang menyusun testa.

Menurut Case (1932 : 86) pecahnya suatu material terjadi jauh setelah material tersebut melampaui batas elastisitasnya. Setelah testa pecah terjadi perubahan warna protokorm menjadi hijau sepenuhnya. Sisi posterior dan anterior terlihat sangat jelas pada stadium 5. Sisi posterior terlihat lebih besar dan membulat sedangkan sisi anterior terlihat meruncing. Perbedaan bentuk tersebut terjadi akibat sel-sel penyusunnya. Pada daerah posterior terdiri dari sel-sel yang besar, kadang-kadang bervakuola, sedangkan daerah anterior terdiri dari sel-sel yang lebih kecil dan lebih padat yang pada akhirnya akan berkembang menjadi meristem apikal (Arditti, 1967: 4, Knudson, 1922 : 4). Pada stadium ini mulai terlihat titik *foliaceus* pertama yang ditandai dengan adanya bagian yang runcing pada anterior. Knudson (1922 : 4) menjelaskan bahwa struktur berbentuk pada bagian atas yang ditandai dengan lekukan akan berkembang menjadi daun pertama. Protokorm tersebut terus mengalami peningkatan ukuran yang kemudian tumbuh alat bantu penyerapan zat (*absorbing hairs*) pada stadium 6. *Absorbing hairs* tersebut tumbuh di sekitar daerah posterior dan akan mengalami pemanjangan. Sesuai dengan pernyataan Knudson (1922 : 4) bahwa *absorbing hair* tumbuh dari bagian epidermis posterior yang menurut Chang, *et al.*, (2005 : 71) terusun atas satu sel yang dapat tumbuh memanjang (gambar



8).

Gambar 8. *Absorbing Hair*. [a] *Absorbing Hair* yang berasal dari satu sel permukaan (bar : 15 μm); [b] Pemanjangan *absorbing hairs* (bar = 150 μm) (Chang, dkk., 2005 : 72)

Pertumbuhan *R. retusa* pada Tahap Perkecambahan Biji

Secara keseluruhan data menunjukkan tingkat viabilitas biji angrek *R. Retusa* pada tahap perkecambahan biji relatif rendah. Hal tersebut ditunjukkan dengan rata-rata perkecambahan pada medium NP tanpa penambahan jus buah pisang (P0) yaitu sebesar 57,67% (tabel 1). Viabilitas tinggi umumnya ditunjukkan dengan persentase perkecambahan mendekati 100% seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Yusnita dan Handayani (2011 : 72) yang menunjukkan persentase perkecambahan *Phalaenopsis* hibrida sebesar 85,5% pada medium growthmore dan Ixora (2009: 362) yang menunjukkan persentase perkecambahan *Phalaenopsis amabilis* sebesar 77,19% pada medium NP.

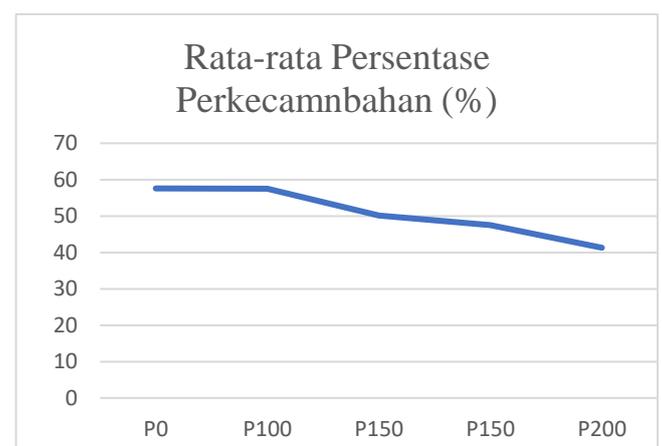
Rendahnya tingkat viabilitas angrek *R. Retusa* diakibatkan oleh berbagai macam faktor yaitu jenis tanaman, cara penyimpanan biji dan proses sterilisasi. Penelitian menunjukkan bahwa biji angrek memiliki tingkat viabilitas yang berbeda tiap jenisnya (Arditti, 1967 : 5). Kemampuan daya hidup biji angrek juga sangat bervariasi tergantung keadaan biji pada saat dipanen dan kondisi penyimpanannya. Menurut Huynh dan Coates (1999: 6), viabilitas benih menurun seiring dengan berjalannya waktu. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian lain yang

dilaporkan Ramsay & Stewart (Huynh dan Coates. 1999: 7), pada penelitian tersebut memperlihatkan perkecambahan yang lebih rendah untuk biji yang disimpan dibandingkan dengan biji yang masih segar. Menurut Pritchard (1989: 27) biji mengalami kehilangan germinabilitas yang berimplikasi pada viabilitas bila disimpan di dalam kulkas tanpa dehidrasi sebelumnya. Terkait dengan hal tersebut Pritchard (1989: 28) menunjukkan pentingnya kelembaban benih dalam ukuran tertentu dan penyimpanan dalam suhu yang berbeda pada setiap spesies. Pengamatan serupa dilakukan Villiers & Edcumbe (Pritchard, 1989: 28) dengan *Lactuca sativa* dalam hal akumulasi kerusakan sel, pada tingkat hidrasi yang lebih tinggi terjadi peningkatan penurunan efisiensi proses perbaikan biokimia. Robert (Pritchard, 1989: 28) menjelaskan bahwa ada banyak bukti yang menunjukkan terjadinya perubahan fisiologis, kerusakan kromosom dan mutasi genetik selama penyimpanan biji secara tradisional. Disamping itu, proses sterilisasi juga dapat memengaruhi perkecambahan biji. Seterilisasi dengan melewati buah di atas nyala api jika terlalu lama menurut Hill & Johnstone (1985: 53) dapat menurunkan kualitas benih karena adanya termosensitivitas benih. Hal tersebut sangat dipengaruhi oleh karakteristik kadar air benih, intensitas pemanasan, lama pemanasan, dan retensi panas terhadap massa benih. Penelitian yang dilakukan oleh Johnson dan Kane (2012: 174) menunjukkan bahwa interaksi suhu dan sistem penginderaan cahaya dapat memengaruhi perkecambahan biji anggrek *Bletia purpurea*. Penggunaan alkohol saat sterilisasi juga dapat

mempengaruhi kelembaban biji karena menurut Annane, *et al.* (2012) & Sleigh, *et al.*, (1990) alkohol memiliki kemampuan untuk mendehidrasi (Kurniati, 2008: 14). Menurut Ingram dan Bartels (1996 : 378) defisit air akibat dehidrasi dapat merusak sel tumbuhan. Meskipun sterilisasi buah anggrek menggunakan alkohol dan nyala api merupakan metode yang efektif digunakan pada jenis anggrek lain. Namun metode sterilisasi tersebut patut disesuaikan untuk mensterilisasi buah *R. retusa* yang notabene memiliki ukuran kecil dan daging buah yang tipis. Dengan kondisi morfologi tersebut, *R. retusa* lebih rentang terhadap masuknya alkohol ke dalam buah hingga mengenai biji jika merendam terlalu lama dan rusaknya biji akibat terlalu lama terpapar suhu panas.

Tabel 1. Rata-rata persentase perkecambahan biji anggrek *R. retusa* pada perkecambahan biji pada 8 MST

Perlakuan	Berkecambah (%)	Belum Berkecambah (%)
P0	57,67 ± 2.34 ^a	42.33 ± 2.51 ^a
P50	56,67 ± 4.78 ^a	43.33 ± 4.78 ^a
P100	47,08 ± 6.61 ^{ab}	52.92 ± 6.61 ^{ab}
P150	47,81 ± 5.98 ^{ab}	52.19 ± 5.91 ^{ab}
P200	35,18 ± 12,70 ^b	64.82 ± 12.25 ^b



Gambar 9. Grafik rata-rata Persentase Perkecambahan *R. retusa* (%)

Hasil pengamatan pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa perkecambahan *R. retusa* berhasil membentuk protokorm dengan persentase yang menurun seiring peningkatan konsentrasi jus buah pisang (Gambar 9). Perkecambahan biji anggrek tercepat pada perlakuan P0 (tanpa penambahan jus buah pisang) yaitu setelah 2 MST. Demikian pula dengan pertumbuhan biji menjadi protocorm terbanyak juga pada perlakuan P0 (tanpa penambahan jus buah pisang) yaitu pada 8 MST sebanyak 2,5% (tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata persentase pertumbuhan biji anggrek *R. retusa* tahap perkecambahan biji pada 8 MST; Fase pertumbuhan awal : stadium 1-4; Fase pertumbuhan lanjut : stadium 5-6

Perlakuan	Belum Tumbuh (%)	Fase Pertumbuhan Awal (%)	Fase Pertumbuhan Lanjut (%)
P0	42.33 ± 2.51 ^a	54.85 ± 1.91 ^a	2.5 ± 0.99 ^a
P50	43.33 ± 4.78 ^a	55.21 ± 4.77 ^{ab}	1.45 ± 0.66 ^{ab}
P100	52.92 ± 6.61 ^{ab}	46.16 ± 6.89 ^{ab}	0.92 ± 0.31 ^{bc}
P150	52.19 ± 5.91 ^{ab}	47.38 ± 6.01 ^b	0.43 ± 0.23 ^{bc}
P200	64.82 ± 12.25 ^b	35.18 ± 12.70 ^b	0 ± 0 ^c

Respon *R. retusa* terhadap penambahan jus buah pisang menunjukkan perkecambahan dan pertumbuhan yang lambat. Semakin tinggi konsentrasi penambahan jus buah pisang semakin berkurang persentase perkecambahan biji *R. retusa* dan semakin lambat pertumbuhannya. Penambahan jus buah pisang raja sereh pada

medium pertumbuhan anggrek *R. retusa* ternyata tidak mampu meningkatkan pertumbuhan embrio tetapi justru menurunkan/menghambat pertumbuhan. Selain nutrisi dan hormon, pisang raja sereh juga mengandung senyawa fitokimia lain salah satunya adalah senyawa fenolik. Penelitian komposisi fitokimia yang dilakukan oleh Obigaeli, *et al.*, (2016: 56) menunjukkan bahwa, kandungan senyawa fenolik buah pisang matang dari group genom AAB lebih besar dibandingkan jenis pisang dari group genom ABB dan AAA. Menurut Parker (2009 : 334), senyawa fenolik lebih ampuh dalam menjaga biji tetap dorman. Hal ini terkait oleh potensi aleopati yang dimiliki senyawa fenolik (Barghathi & Asoyri (2007 : 10). Menurut Inácio *et al.* (2013 : 133), Senyawa fenolik mengurangi perkecambahan pada biji *Palicourea rigida* dengan menghambat aktivitas peroksidase yang berperan dalam netralisasi oksigen reaktif dan oksidasi fenolat lainnya, proses tersebut penting untuk berkecambah. Penelitian yang dilakukan EL-Barghathi & Asoyri (2007 : 10) menunjukkan bahwa fenol dengan konsentrasi 30 mg/l dapat menurunkan pembelahan mitosis akibat dari peningkatan presentase mutase pada tahap metafase dan anafase pembelahan sel bawang sedangkan, pemberian konsentrasi 1000 mg/l akan menghentikan pembelahan sel yang di duga karena kematian embrio.

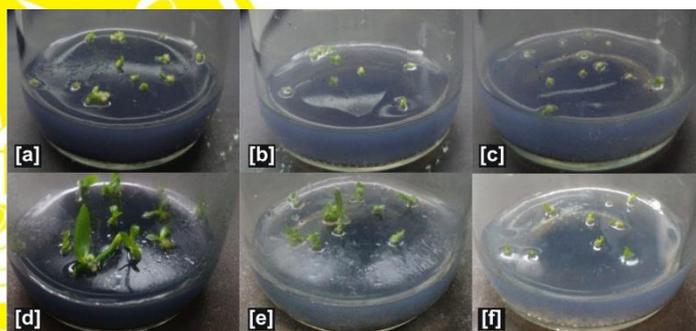
Selain kandungan fenol, rendahnya pesentase perkecambahan diduga karena keberadaan hormon ABA yang terkandung dalam jus buah pisang. Keberadaan hormon ABA dalam buah sudah terdeteksi pada beberapa penelitian.

Menurut Lohani, (2004: 119), hormon ABA dirilis selama pematangan buah klimaterik untuk meregulasi pelunakan dengan mendegradasi penyusun dinding sel, terutama dalam proses pelarutan pektin. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wei Hu, *et al.* (2017 : 1) melalui analisis transkripsi menunjukkan bahwa gen-gen yang berfungsi sebagai persinyalan ABA, *PYL-PP2C-SnRK2*, terlibat dalam pengembangan buah dan pemasakan buah pisang. Nambara, dkk. (yeung, 2017 : 14) melaporkan bahwa ABA memiliki peranan penting dalam dormansi biji. Menurut Lee (2015 : 408-409) perkecambahan biji anggrek sangat sensitif terhadap peningkatan kecil tingkat ABA yang mungkin cukup untuk menekan/menghentikan pembelahan sel dalam histodiferensiasi dan mitosis yang menyebabkan dormansi. Penelitian yang dilakukan oleh Gilles (2009 : 108) pada *Medicago truncatula* menunjukkan bahwa ABA menghambat sangat kuat terhadap proses perkecambahan. Hal tersebut dibuktikan dengan terhambatnya ekspresi *α-expansins*, *pectin-esterase*, *xylogucan-endotransglycosidase*, *cellulose synthase*, dan *extensins*. Gen-gen tersebut diekspresikan dengan jumlah yang besar pada proses perkecambahan yang berperan dalam biosintesis dinding sel.

Pertumbuhan *R. retusa* Pada Tahap Awal Pertumbuhan Tanaman

Pertumbuhan protokorm *R. retusa* diamati dengan mendata protokorm yang telah tumbuh daun dan akar. Pada 1 mst (Gambar 10) protokorm pada pertumbuhan lanjut mengalami penambahan *absorbing hairs*. Pertumbuhan

dilanjutkan dengan munculnya daun, lalu diikuti oleh pertumbuhan akar yang umumnya muncul setelah protokorm memiliki 2 daun. Kemudian protokorm, yang telah memiliki daun dan akar, akan mengalami penambahan ukuran. Hasil pengamatan pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa kecenderungan pertumbuhan protokorm *R. retusa* sudah terlihat sejak 1 mst dengan pertumbuhan protokorm terbaik pada medium P0 (medium tanpa penambahan jus buah pisang atau hormon). Pertumbuhan daun tercepat pada protokorm di dalam medium P0, dibanding dengan perlakuan lain, yaitu pada 1 mst. Penambahan jus buah pisang dan hormon BAP menghambat



pertumbuhan protokorm *R. retusa*. Semakin tinggi konsentrasi jus buah pisang, semakin lama protokorm tumbuh daun dan akar.

Gambar 10. Pertumbuhan protokorm anggrek *R. retusa* pada tahap pertumbuhan awal tanaman. a-c : 1 mst . d-f : 4 mst. a,d : P0; b, e : P50; c, f : P100

Tabel 3. Persentase pertumbuhan protokorm anggrek *R. retusa* pada tahap pertumbuhan awal tanaman pada 4 mst

Perlakuan	Protokorm memiliki daun (%)	Protokorm memiliki akar (%)	Keterangan
P0	73,33 ± 5,77	16,66 ± 5,77	
P50	54,44 ± 10,18	13,33 ± 5,77	
P100	38,89 ± 12,61	0 ± 0	Daun kecil

			kekuningan
--	--	--	------------

Setelah protokorm dipindahkan tanamkan (*overplanting*) umumnya pertumbuhan daun terjadi lebih dahulu sebelum pertumbuhan akar. Sebagian ilmuwan mendefinisikan organ *foliaceus* pertama yang tumbuh tersebut sebagai kotiledon dan ada pula yang mendefinisikan sebagai daun. Namun mengacu pada Gallo *et al.* (2016 : 71) organ tersebut didefinisikan sebagai daun pertama dengan dasar pendapat Batygina dkk. yang menyatakan bahwa organ daun dari sebagian besar anggrek muncul selama perkembangan *post-seminal*, yaitu pada tahap protokorm (Gallo : 2016 : 71). Umumnya daun tumbuh satu hingga dua kemudian mengalami pemanjangan dan diikuti oleh perkembangan akar. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan hal demikian, di daerah meristematik akan muncul dua hingga tiga daun kemudian terjadi pemanjangan daun (Knudson, 1922: 4). Segera setelah daun miniatur pertama tumbuh akan disusul dengan tumbuhnya akar pertama (Arditti, 1967: 5; Gallo, 2016: 71), menghasilkan miniatur tanaman yang berkembang perlahan (Arditti, 1967: 5). Akar tumbuh pada bagian posterior protokorm atau di daerah bawah daun. Menurut Knudson (1922 : 4). Akar pertama bisa tumbuh dari protokorm atau dari batang bawah daun kedua atau ketiga.

Semakin tinggi konsentrasi jus buah pisang semakin sedikit daun dan akar yang tumbuh. Semakin tinggi konsentrasi jus buah pisang juga memperlambat pertumbuhan daun dan akar. Hal tersebut diduga terkait dengan

hormon ABA dan senyawa fenolik yang terkandung dalam buah pisang raja serih (group AAB). Menurut Davies (2004 : 8) Penerapan hormon secara eksogen dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Widiastoety (2003 : 4) melaporkan bahwa keberadaan hormon ABA dapat menghambat pertumbuhan anggrek *Dendrobium*. Disamping itu, Senyawa fenolik dikenal memiliki sifat aleopati (Asoyri, 2007 : 10). Menurut Li, (2010 : 8939-8942) ada beberapa mekanisme aleopati senyawa fenolik yaitu 1) Meningkatkan permeabilitas membran sel dan menghambat penyerapan nutrisi; 2) Menghambat pembelahan sel, pemanjangan dan merubah ultra-struktur sel; 3) Menurunkan kadar klorofil dan tingkat fotosintesis; 4) Merubah aktivitas dan fungsi beberapa enzim tertentu. 5) Mengurangi atau menonaktifkan aktivitas fisiologi hormon tanaman; dan 6) Menghambat sintesis protein.

Warna plantet terlihat kekuningan pada P100 hal tersebut diduga terkait kemampuan senyawa fenolik dalam menurunkan kadar klorofil. Seperti yang dilaporkan oleh Patterson (Li, 2010 : 8941) bahwa pemberian senyawa fenolik sebesar 10-30 μ mol/L dapat menurunkan produk fotosintesis dan kandungan klorofil tanaman *Glycine max*.

Penelitian lain tentang penambahan pisang di dalam medium kultur *in vitro* menunjukkan pengaruh yang berbeda. Seperti yang dilaporkan Maslukhah (2008 : 41) bahwa penambahan ekstrak buah pisang raja bulu (grup AAB) tidak mendukung pertumbuhan tunas pisang secara *in vitro*. Sedangkan penelitian

Garvita dan Handini (2011 : 9) menunjukkan bahwa pemberian pisang ambon (grup AAA) sebanyak 15 g.L⁻¹ pada medium meningkatkan Jumlah daun dan tunas dan pemberian sebanyak 20 g.L⁻¹ meningkatkan jumlah akar pada anggrek *Phalaenopsis fuscata*. Menurut Hasanah (2014 : 167) penambahan bubur pisang ambon (grup AAA) pada medium berdampak positif terhadap pertumbuhan *Dendrobium Kelemense*. Hasil lain dilaporkan oleh Utami *et al* (2015 : 409), dimana hanya ada sedikit pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan pembentukan akar dan pengembangan tunas *Dendrobium lasianthera* dalam medium VW yang ditambahkan pisang. Perbedaan pengaruh tersebut terkait dengan jenis pisang yang digunakan sebagai suplemen dan tanaman yang diujicobakan. Efek penghambatan pertumbuhan oleh senyawa inhibitor yang terkandung dalam jus buah pisang raja sereh menunjukkan potensi sebagai bahan tambahan untuk medium induksi pembungaan pada kultur *in vitro* anggrek. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Konstenyuk, *et al.* (1999 : 1) pembungaan dini (*early flowering*) dapat diinduksi dengan menghambat pertumbuhan anggrek pada awal penanamannya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Terjadi penurunan persentase perkecambahan biji *R. retusa* seiring dengan bertambahnya konsentrasi jus buah pisang raja sereh (grup AAB) yang ditambahkan pada medium kultur. Persentase perkecambahan biji tertinggi pada

medium P0 (57,67 %), sedangkan persentase perkecambahan terendah terjadi pada perlakuan P200 (35,18 %). Pada tahap pertumbuhan awal tanaman, penambahan jus buah pisang raja sereh juga terbukti menurunkan pertumbuhan.

Pertumbuhan tertinggi terjadi pada medium P0, sedangkan pertumbuhan terendah terjadi pada medium P100.

2. Tidak ditemukan konsentrasi jus buah pisang yang optimum untuk meningkatkan pertumbuhan anggrek *R. retusa*.
3. Pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek yang teramati sebanyak 6 stadium, berdasar pembentukan protokorm dapat dibagi menjadi dua yaitu fase pertumbuhan awal dan fase pertumbuhan lanjut.

Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai optimasi konsentrasi jus buah pisang raja sereh pada konsentrasi di bawah 50 g.L⁻¹.
2. Penambahan bahan organik dalam medium perlu diawali dengan pengujian senyawa inhibitor, bahan organik yang baik untuk ditambahkan dalam medium adalah yang mengandung nutrisi tinggi dan senyawa inhibitor rendah.
3. Pemberian jus pisang raja sereh (grup AAB) pada medium pertumbuhan kultur *in vitro* tidak direkomendasikan untuk eksplan dengan kandungan fenol yang tinggi.
4. Penambahan jus buah pisang raja sereh (grup AAB) digunakan sebagai pengganti ABA

dalam penghambatan pertumbuhan awal tanaman untuk tujuan induksi pembungaan, namun perlu pengujian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. & R. Ernst. 1993. *Micropropagation of orchids*. New York John Wiley & Sons Inc.
- Arditti, Joseph. 1967. Factor affecting the germination of orchids seeds. *The botanical review*, volume. 33 No.1: 1-97
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek Dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta: Departemen Pertanian
- Case, John.1932.*the strength of materials second edition*. London : edward arnold & CO.
- Chang, Chen, et al. 2005. *Protocorm or rhizome? The morphology of seed germination in Cymbidium dayanum Reichb. Botanical Bulletin of Academia Sinica, Vol. 46 halaman: 71-74*
- Chauhan, Narain Singh. 1999. *Medicinal And Aromatic Plants Of Himachal Pradesh*. New Delhi: Indus Publishing
- Christine Gimeno-Gillesa, Eric Lelievre, Laure Viaua, Mustafa Malik-Ghulama, Claudie Ricoulta, Andreas Niebel, Nathalie Leducc, Anis M. Limamia. 2009. ABA-Mediated Inhibition of Germination Is Related to the Inhibition of Genes Encoding Cell-Wall Biosynthetic and Architecture: Modifying Enzymes and Structural Proteins in *Medicago truncatula* Embryo Axis. *Molecular Plant, Volume 2, Number 1: 108–119*
- Davies, Peter J. 2004. *Plant Hormones : Biosynthesis, signal transduction, Action! 3rd edition*. Dordrecht:Kluwer Academic Publishers
- El-Barghathi, M, & H. Asoyri. 2007. Effect of Phenol, Naphthol and Gibberellic Acid on Seed Germination of *Allium Cepa* L. (Onion). *Journal of Science and Its Applications Vol. 1, No. 1: 6-13*
- Gallo, Fabiana R., dkk.2016.Seed structure and in vitro seedling development of certain Laeliinae species (Orchidaceae).*Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87: 68–73
- Garvita, Raden Vitri & Elizabeth Handini.2011.Pengaruh Penambahan Berbagai Kadar Pisang Dan Ubi Jalar Pada Pertumbuhan Kultur Tiga Jenis Phalaenopsis. *Buletin Kebun Raya Vol. 14 No. 2: 9-18*
- Hasanah, Uhwatul, dkk. 2014.Pemanfaatan Pupuk Daun, Air Kelapa dan Bubur Pisang sebagai Komponen Medium Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Dendrobium.Kelemense Biosaintifika*, 6 (2): 161-168
- Hill, M.J. & C.R. Johnstone. 1985. Heat damage and drying effects on seed quality. *Producing Herbage Seeds, Grassland Research and Practice Series 2, 53-57*
- Huynh, Tien & Fiona Coates. 1999. Propagation And Seed Viability Of The Endangered Orchid *Prasophyllum Correctum* D.L. Jones (Gaping Leek-Orchid). *Final Report To The Australian Flora Foundation. Project 97/98-14: 1-9*
- Inácio, Marielle C. et al. 2013. Phenolic Compounds Influence Seed Dormancy of *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae), a Medicinal Plant of the Brazilian Savannah. *American Journal of Plant Sciences*, 4: 129-133
- Ingram, J dan D. Bartels. 1996. The Molecular Basis Of Dehydration Tolerance In Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:377–403
- Johnson, Timothy R. And Michael E. Kane. 2012. Effects Of Temperature And Light On Germination And Early Seedling Development Of The Pine Pink Orchid (*Bletia Purpurea*). *Plant Species Biology*. 27, 174–179
- Knudson, lewis. 1922. Nonsymbiotic Germination of Orchid Seeds. *Botanical Gazette, Vol. 73, No. 1: 1-25*
- Kostenyuk, I., B.J. Oh, I.S. So. 1999. Induction of early flowering in *Cymbidium niveo-marginatum* Mak in vitro. *Plant Cell Reports*, 19: 1–5

- Kurniati R. 2008. Perbedaan Desinfeksi Antara Povidon Iodine Dan Alkohol 70 % Dengan Alkohol 70 % Terhadap Hasil Kultur Darah Septikemia. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Umum, Universitas Diponegoro
- Lee, Yong-I, dkk. 2015. Dynamic distribution and the role of abscisic acid during seed development of a lady's slipper orchid, *Cypripedium formosanum*. *Annals of Botany*, 116: 403–411
- Li, Zhao-Hui, Qiang Wang, Xiao Ruan, Cun-De Pan dan De-An Jiang. 2010. Phenolics and Plant Allelopathy. *Molecules* 2010, 15, 8933-8952
- Lohani, Seemi, Prabodh K.Trivedi, Pravendra Nath.2004.Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. *Postharvest Biology and Technology*. Volume 31, Issue 2, Pages 119-126. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521403001558>. Di akses pada 1/25/2018 06.18 WIB
- Maslukhah, Ummi. 2008. Ekstrak Pisang Sebagai Suplemen Medi Ms Dalam Media Kultur Tunas Pisang Rajabulu (*Musa Paradisiaca* L. Aab Group) In Vitro. *Skripsi*. Departemen Agronomi Dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
- Mercuriani, Ixora Sartika dan Endang semiarti. 2009. Peningkatan Kecepatan Pertumbuhan Dan Perkembangan Embrio Anggrek Bulan Alam *Phalaenopsis Amabilis* (L.) Blume Pada Medium Diperkaya Dengan Ekstrak Tomat Dan Likopen. *Prosiding*. Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Mohr, Hans & Peter Schopfer.1995 *.Plant Physiology*. Berlin : Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Murdopo. (september 2014). menyibak potensi pasar obat herbal tradisional. *warta ekspor kementerian perdagangan* 3-6
- Obigaeli, Ogbonna A, Izundu A. I., Okoye Nkechi Helen, Ikeyi Adachukwu Pauline. 2016. Phytochemical Compositions of Fruits of Three Musa Species at Three Stages of Development. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences Volume 11, Issue 3 Ver. IV (May - Jun.2016): 48-59*
- Parker, Rick. 2009. *Plant & soil science: fundamentals & Application*. New York : Delmar Cengage Learning, Inc.
- Pazil, Siti Nurhidayah Bt. 2009. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daging Pisang Raja (*Musa Aab 'Pisang Raja'*) Dengan Vitamin A, Vitamin C, Dan Katekin Melalui Penghitungan Bilangan Peroksida. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Pritchard, H. W. 1989. *Modern Methods in Orchid Conservation-The Role of Physiology, Ecology and Managemnt*. Cambridge : Cambridge University Press
- Roberts, M. B. V.1986.*Biology a functional approach fourth edition*.Haryana : Replika press Pvt. Ltd.,
- Schreiber, Lukas. 2005. Polar Paths Of Diffusion Across Plant Cuticles: New Evidence For An Old Hypothesis. *Annals Of Botany* 95: 1069–1073
- Sinha, Rajiv Kumar. 2004. *Modern Plant Physiology*. Pangbourne : Alpha Science International Ltd.
- Teoh, Eng Soon. 2016. *Medicinal Orchids Of Asia*. Swisterland: Springer International Publishing
- Utami, Edy Setiti Wida, Sucipto Hariyanto, Yosephine Sri Wulan Manuhara.2017.In vitro propagation of the endangered medicinal orchid, *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm through mature seed culture.*Asian Pac J Trop Biomed*, 7(5): 406–410

- Wei Hu, et al. 2017. The core regulatory network of the abscisic acid pathway in banana: genome-wide identification and expression analyses during development, ripening, and abiotic stress. *BMC Plant Biology*, 17: 145: 1-16
- White, Philip J. & John P. Hammond. 2008. *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*. Dordrecht: Springer
- Widiastoety, D., & Purbadi. 2003. Pengaruh Bubur Ubikayu dan Ubijalar terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Dendrobium*. *J. Hort*, 13(1): 1-6
- Yeung, Edward C. 2017. A perspective on orchid seed and protocorm development. *Botanical Studies* 58: 33: 1-14
- Yusnita & Yivista Handayani. 2011. Pengecambahan Biji Dan Pertumbuhan Seedling *Phalaenopsis* Hibrida In Vitro Pada Dua Media Dasar Dengan Atau Tanpa Arang Aktif. *Jurnal Agrotropika* 16(2): 70-75

