

## **INDUKSI EMBRIOSOMATIK ANGGREK *Vanda tricolor* DENGAN PERLAKUAN 2,4 D DAN BAP**

**Annisa Fiqri Juliarachmi, Dr. Innaka Ageng R, SP.MP, dan Ir. Agung Astuti, M.Si**

Program Studi Agroteknologi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta  
Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

### **ABSTRACT**

*Vanda tricolor* orchid becomes an endemic orchid of Mount Merapi, which grows around the slopes of Mount Merapi. The combination concentration ZPT in vitro culture propagation will affect the growth of the orchid. The aim of the study was To determine the type concentration of ZPT auksin (2,4D) and cytokinin (BAP) suitable for growth of tunas Orchid *Vanda tricolor*. The research was arranged in a Factorial Randomized Design (RAL) 3x3 with 2 factors, the first factor is 2,4 D (0 mg/L, 2 mg/L and 4 mg/L) factors second is Benzyl Amino Purine concentration (0 mg/L, 0.1 mg/L and 0.5 mg/L). The results showed that PLB gave a growth response to the treatment given, although the analysis showed no interaction or no significant difference. The 2.4D 2 mg/l concentration tends to give more results with a greater number of leaf growth (0,77 leaves), a longer plant height of (0,29 mm), a higher number of roots (0,55). For the pro-embryo parameter concentration of 0 mg/l 2,4 D gave a high yield of (1,11 proembryos).

*Keywords* : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, Benzil Amino Purine, Orchid *Vanda tricolor*, In Vitro Culture .

### **INTISARI**

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik Gunung Merapi, yang banyak tumbuh di sekitar lereng Merapi. Kombinasi konsentrasi ZPT pada perbanyak kultur *in vitro* akan mempengaruhi pertumbuhan anggrek. Tujuan Penelitian mengetahui konsentrasi ZPT auksin (2,4D) dan sitokinin (BAP) yang cocok untuk pertumbuhan tunas Anggrek *Vanda tricolor*. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 3x3 dengan 2 faktor, faktor pertama adalah konsentrasi 2,4 D (0 mg/L, 2 mg/L dan 4 mg/L faktor kedua adalah konsentrasi BAP (0 mg/L, 0,1 mg/L dan 0,5 mg/L). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas memberikan respon pertumbuhan terhadap perlakuan yang diberikan, meskipun hasil analisis menunjukkan tidak ada interaksi atau tidak ada beda nyata pada setiap parameter. Pada Konsentrasi 2,4D 2 mg/l cenderung memberikan hasil yang lebih dengan angka pertambahan jumlah daun lebih besar (0,77 helai), tinggi tanaman lebih panjang (0,29 mm), jumlah akar lebih banyak (0,55). Untuk parameter pro-embrio konsentrasi 2,4 D 0 mg/l memberikan hasil tinggi (1,11 embrio).

Kata kunci : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, Benzil Amino Purin, Anggrek *Vanda tricolor*, Kultur *In vitro*

## PENDAHULUAN

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik atau asli Gunung Merapi. Anggrek ini memiliki bunga yang berwarna putih dengan totol-totol berwarna ungu merah. Namun, adanya bencana alam seperti semburan awan panas dan kebakaran hutandi lereng Gunung Merapi serta erupsi yang akibatnya 80% habitat telah hangus dan mengakibatkan keberadaan anggrek ini terancam. Eksploitasi Anggrek *Vanda tricolor* keluar dari habitat aslinya oleh masyarakat untuk dikoleksi dan menjualnya ke luar daerah juga telah mengurangi populasi Anggrek *V. Tricolor* (Metusala, 2006). Permintaan pasar anggrek cenderung meningkat, namun perkembangan produksi anggrek di Indonesia masih relatif lambat disebabkan masih kurang tersedianya bibit bermutu. Metode perbanyakan dengan cara konvensional yang telah dilakukan kelompok tani belum dapat membuahkan hasil dengan meningkatkan jumlah populasi anggrek. Maka perlu adanya teknologi budidaya Anggrek *Vanda tricolor* yang tepat. Salah satu alternatif untuk adalah perbanyakan dengan kultur *in vitro*. Salah satu metode perbanyakan secara *in vitro* adalah embriogenesis somatik. Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan embriogenesis somatik adalah auksin. Auksin yang digunakan 2,4d dan sitokinin BAP.

Penelitian ini akan mencoba menguji pengaruh perlakuan 2,4 D dan BAP pada medium NDM terhadap induksi embriosomatik pertumbuhan Anggrek *Vanda tricolor*.

### METODE PENELITIAN

#### Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur *In Vitro* Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Desember 2018 – Maret 2019.

#### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan adalah eksplan Tunas Anggrek *Vanda tricolor* dari *in vitro*. Medium yang digunakan yaitu medium New Dogashima Medium (NDM). Bahan lain yang digunakan adalah Zat pengatur tumbuh (2,4 D dan BAP), Plant Preservatif Mixture (PPM), arang aktif, Phytigel, sukrosa, alkohol, aluminium foil, kertas payung, karet, plastik wrap, spirtus dan aquades steril. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol kultur, erlenmeyer, petridish, gelas ukur, dissecting kits, pH meter, timbangan analitik, stirer, millipore, pipet tetes, pembagi media, sendok, bunsen, cawan timbang, autoklaf, Laminar Air Flow, Mikroskop.

#### Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode percobaan faktorial yang disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL). Faktor pertama, konsentrasi ZPT 2,4 D yang terdiri dari 3 aras yaitu 0 mg/l (D1), 2 mg/l (D2), 4 mg/l (D3), Faktor kedua, konsentrasi BAP yang terdiri dari 0 mg/l (B1), 0,1 mg/l (B2) dan 0,5 mg/l (B3). Medium yang digunakan NDM, disertai dengan penambahan Arang aktif 0,2 g/l serta PPM (Plant Preservative Mixture) 0,5 ml/l. Jumlah eksplan per botol sebanyak 1 buah eksplan. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3

kali. Setiap ulangan terdiri dari 3 botol. Tunas anggrek yang dibutuhkan sebanyak 81 buah.

### **Cara Penelitian**

#### **1. Sterilisasi**

Sterilisasi dilakukan dengan dua cara, yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi bakar. Sterilisasi basah dilakukan dengan memasukkan alat-alat yang telah dibungkus dengan kertas payung di autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 1 atm selama 1 jam. Sterilisasi basah dilakukan pada alat – alat seperti botol kultur, pinset, scalpel, aluminium foil, petridish, dan erlenmeyer. Selain itu, sterilisasi basah juga dilakukan untuk mensterilkan media yang sudah dibuat dan aquades yang telah disuling.

Sedangkan sterilisasi bakar dilakukan menggunakan spirtus. Sterilisasi ini dilakukan di dalam LAF. Caranya adalah dengan mencelupkan alat terlebih dahulu ke cairan alkohol 70%, kemudian membakar pada bunsen yang terisi larutan siprtus. Strerilisasi bakar dilakukan pada alat – alat seperti pinset dan scalpel yang digunakan saat penanaman eksplan. Sebelum digunakan, LAF juga harus disterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi LAF ini dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% pada seluruh permukaan, kemudian di lap dengan tissu kering, kemudian lampu UV dapat dinyalakan selama 15 menit sebelum LAF digunakan.

#### **2. Pembuatan medium NDM**

Media NDM dibuat sebanyak 1800 ml untuk 9 perlakuan, setiap perlakuan sebanyak 200 ml, masing – masing perlakuan digunakan 10 botol kultur. Setiap botol kultur diisi sebanyak 20 ml medium NDM.

Bahan - bahan yang dibutuhkan untuk 200 ml medium yaitu: media NDM bubuk=0,2g; sukrosa = 6g; Phytigel = 0,5 g; PPM = 0,1 ml; arang aktif 0,04 g; Aquades serta BAP sesuai perlakuan, yaitu 0 (Tanpa BAP); 0,1 mg/l (0,2 ml/200 ml larutan); 0,5 mg/l (1 ml/200 ml larutan); 2,4-D sesuai perlakuan yaitu 0 (tanpa 2,4-D), 2 mg/l (4 ml/200ml larutan), 4 mg/l (8 ml/200ml larutan).

#### **3. Pembuatan medium Perlakuan**

Kebutuhan bahan dihitung sesuai kebutuhan per ulangan. Setiap erlenmeyer diisi dengan larutan sebanyak 200 ml, yang telah berisi media NDM, sukrosa, vitamin, Phytigel, ppm, 2,4 D, BAP, arang aktif dan aquades. Larutan yang telah tercampur kemudian dimasukkan kedalam botol, masing – masing botol berisi 20 ml larutan.

#### **4. Penyiapan Eksplan**

Eksplan Tunas Anggrek *Vanda tricolor* disubkultur ke dalam media NDM 0 dahulu yang berfungsi untuk menghomogenkan eksplan. Setelah inkubasi dalam media NDM selama 2 minggu eksplan Tunas siap digunakan untuk penanaman.

#### **5. Penanaman Eksplan**

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Peralatan tanam yang akan digunakan disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%, termasuk botol media. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara mengambil tunas dari botol semai, kemudian ditanam pada medium kultur

yang telah dipersiapkan menggunakan pinset steril. Setiap satu botol diisi dengan satu buah tunas anggrek. Botol yang sudah ditanami eksplan selanjutnya ditutup dengan aluminium foil, dikencangkan menggunakan karet gelang, dan dilapisi kembali dengan *plastic wrap*.

#### 6. Inkubasi

Botol-botol yang sudah dilabeli dan ditanami segera diletakkan di rak-rak ruang inkubasi. Ruang inkubasi ini dilengkapi lampu neon (TL) dengan kekuatan 40 watt yang dinyalakan selama 24 jam sebagai pengganti sinar matahari. Suhu ruang inkubasi ini diatur menggunakan AC dengan suhu rata – rata 20-28<sup>0</sup>C. Sebelumnya, rak-rak yang berada di ruang inkubasi harus dibersihkan dengan menyemprotkan alkohol 70%.

#### 7. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dari awal penanaman sampai dengan minggu ke-8 setelah tanam.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, dan *Browning* dan Vitrifikasi

Tabel 1. Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap Persentase Eksplan Hidup, Persentase Eksplan Kontaminasi, Persentase Eksplan *Browning*, dan Persentase Eksplan Vitrifikasi Tunas Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 Minggu Setelah Tanam (MST).

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup (%)	Persentase Eksplan Kontaminasi (%)	Persentase Ekplan <i>Browning</i> (%)	Persentase Eksplan Vitrifikasi (%)
2,4D 0 mg/l + BAP 0 mg/l	55,56	0	22,22	22,22
2,4D 0 mg/l + BAP 0,1 mg/l	66,67	0	22,22	11,11
2,4D 0 mg/l + BAP 0,5 mg/l	55,56	0	22,22	22,22
2,4D 2 mg/l + BAP 0 mg/l	55,56	0	22,22	22,22
2,4D 2 mg/l + BAP 0,1 mg/l	44,45	0	33,33	22,22
2,4D 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	100,00	0	0,00	0,00
2,4D 4 mg/l + BAP 0 mg/l	33,33	0	55,56	11,11
2,4D 4 mg/l + BAP 0,1 mg/l	33,34	0	33,33	33,33
2, D 4 mg/l + BAP 0,5 mg/l	33,34	0	33,33	33,33

#### 1. Persentase Eksplan Hidup

Berdasarkan data Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan yang menggunakan konsentrasi 2,4 D tinggi memiliki persentase hidup eksplan rendah. Rendahnya persentase eksplan hidup pada perlakuan tersebut bukan disebabkan oleh kontaminasi namun disebabkan oleh *browning* dan vitrifikasi. Ekplan mengalami *browning* sehingga mengakibatkan pertumbuhan dan perkembangan menjadi terhambat. *Browning* terjadi karena senyawa fenolik yang dikeluarkan oleh eksplan yang bereaksi dengan oksigen sehingga terjadi oksidasi yang mengakibatkan pencoklatan pada permukaan eksplan.

Persentase eksplan hidup dalam penelitian ini tidak ditentukan dari ZPT yang digunakan.

## 2. Persentase Eksplan Terkontaminasi

Hasil data pengamatan Tabel 1 persentase eksplan kontaminasi 0%. Hal ini dikarenakan eksplan yang digunakan merupakan eksplan yang berasal dari kultur steril, sehingga dapat mencegah terjadinya kontaminasi. Sterilisasi medium dan alat yang digunakan juga sudah tepat. PPM didalam medium yang diberikan pada setiap perlakuan membantu meminimalisir terjadinya kontaminasi. Hal ini dikarenakan PPM merupakan salah satu bahan biosida dalam kultur cair yang termasuk golongan Isotiazolon yang dapat menghambat mikroba dan jamur (Sharaf dan Weathers, 2006).

## 3. Persentase Eksplan Browning

Pada Tabel 1 menunjukkan eksplan yang mengalami *browning* terjadi hampir seluruh perlakuan. Eksplan yang menggunakan ZPT 2,4 D tinggi menjadi *browning*. Menurut Trigiano and Gray (2004), 2,4-D tergolong auksin eksogen kuat yang dapat bersifat racun karena dapat menstimulasi produksi gas ethylene. Selain itu, eksplan mengalami pencoklatan atau *browning* diakibatkan oleh kandungan senyawa fenol yang tinggi yang teroksidasi. Pada penelitian ini *browning* terjadi hampir di setiap perlakuan kecuali pada perlakuan 2,4 D 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l.

## 4. Persentase Vitrifikasi

Umumnya vitrifikasi terjadi pada 2-4 minggu setelah eksplan mengalami *browning*. Eksplan yang mengalami vitrifikasi tidak sepenuhnya diawali dengan *browning* pada eksplan. Sebagian kecil eksplan mengalami vitrifikasi secara langsung dimana eksplan yang berwarna hijau akan berubah menjadi putih transparan. Seperti halnya vitrifikasi terjadi pada eksplan yang mengalami *browning*, vitrifikasi yang terjadi secara langsung juga disebabkan oleh kandungan air yang cukup tinggi pada medium. Kandungan fenolik yang tinggi menyebabkan terjadinya *browning* pada eksplan mengakibatkan menurunnya kemampuan eksplan dalam pertumbuhan dan potensial air yang terkandung dalam medium menyebabkan terjadinya vitrifikasi yang ditandai dengan perubahan warna pada eksplan menjadi keabuan.

### B. Pertumbuhan pada Tunas Anggrek *Vanda tricolor*

Tabel 2. Pengaruh 2,4D dan Konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan Tunas Anggrek *Vanda tricolor* (8 MST).

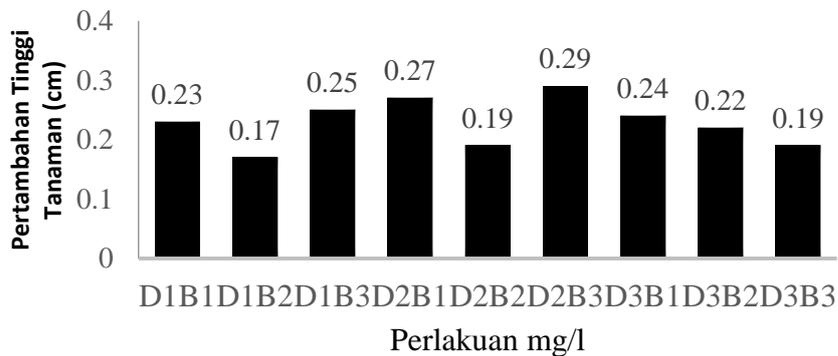
Perlakuan	Pertambahan Tinggi Tanaman (cm)	Pertambahan Jumlah Daun (helai)	Jumlah Akar
<b>Konsentrasi 2,4D</b>			
0 mg/l	0,21a	2,25a	0,22a
2 mg/l	0,25a	2,37a	0,44a
4 mg/l	0,22a	2,29a	0,25a
<b>Konsentrasi BAP</b>			

0 mg/l	0,25a	2,40a	0,40 a
0,1 mg/l	0,19a	2,18a	0,22a
0,5 mg/l	0,24a	2,33a	0,29a
<b>Interaksi</b>	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

- Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata pada uji F  $\alpha = 5\%$ .
- (-) menunjukkan tidak ada interaksi antar perlakuan.

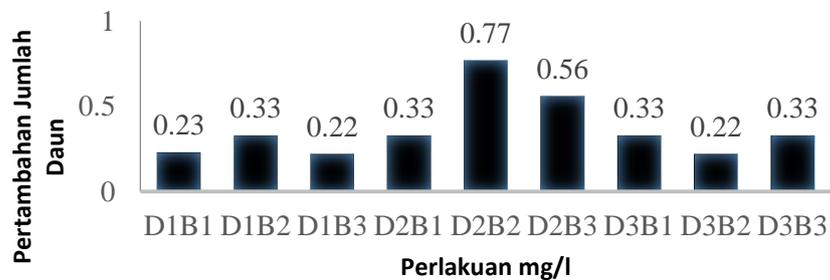
### 1. Pertambahan Tinggi Tanaman



Gambar 1. Induksi Embriosomatik dengan perlakuan 2,4 D dan BAP terhadap tinggi tanaman pada tunas Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 MST

Hasil sidik ragam parameter tinggi tanaman tunas Anggrek *Vanda tricolor* (Lampiran 5a) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara konsentrasi 2,4D dengan BAP terhadap tinggi tanaman tunas sampai dengan minggu ke-8 dan tidak ada beda nyata antar perlakuan 2,4D maupun BAP. Faktor lain selain browning dan vitrifikasi yang menyebabkan tidak terjadinya perkembangan adalah respon dari tanaman *Vanda tricolor* yang lambat sehingga tidak terjadi perkembangan yang signifikan (Rineksane dan Sukarjan, 2015).

### 2. Pertambahan Jumlah Daun



Gambar 2. Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap jumlah daun pada tunas Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 MST

Jumlah daun yang muncul pada eksplan di setiap kombinasi perlakuan bervariasi. Jumlah daun yang bervariasi ini diduga karena adanya hormon endogen yang kadar pada tiap eksplannya tidak sama persis sehingga respon terhadap penambahan zat pengatur tumbuh menjadi bervariasi. Menurut Paramartha (2012) dengan penambahan auksin atau sitokinin dengan konsentrasi tinggi memiliki efek menghambat pertumbuhan jaringan yang dapat disebabkan karena persaingan dengan auksin atau sitokinin endogen untuk mendapatkan tempat sebagai penerima sinyal membran sel sehingga penambahan konsentrasi auksin atau sitokinin dari luar berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan pada sel.

### 3. Warna Daun

Tabel 3. Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap Warna Daun Tunas Anggrek *Vanda tricolor* Minggu-1 dan minggu-8.

Perlakuan	Warna Daun Minggu-1	Skoring Warna Minggu 1	Warna Daun Minggu 8	Skoring Warna Minggu 8
2,4 D 0 mg/l + BAP 0 mg/l	5 G/Y 6/8	+++	5 G/Y 6/8	++++
2,4 D 0 mg/l + BAP 0,1 mg/l	5 G/Y 6/6	+++	5 G/Y 6/6	++++
2,4 D 0 mg/l + BAP 0,5 mg/l	5 G/Y 6/8	+++	5 G/Y 6/8	++++
2,4 D 2 mg/l + BAP 0 mg/l	5 G/Y 6/8	+++	5 G/Y 6/8	++++
2,4 D 2 mg/l + BAP 0,1 mg/l	5 G/Y 5/6	+++	5 G/Y 5/6	++++
2,4 D 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	5 G/Y 5/8	+++	5 G/Y 5/8	++++
2,4 D 4 mg/l + BAP 0 mg/l	5 G/Y 6/6	+++	5 G/Y 6/6	++++
2,4 D 4 mg/l + BAP 0,1 mg/l	5 G/Y 6/6	+++	5 G/Y 6/8	++++
2,4 D 4 mg/l + BAP 0,5 mg/l	5 G/Y 6/6	+++	5 G/Y 6/6	++++

Keterangan :

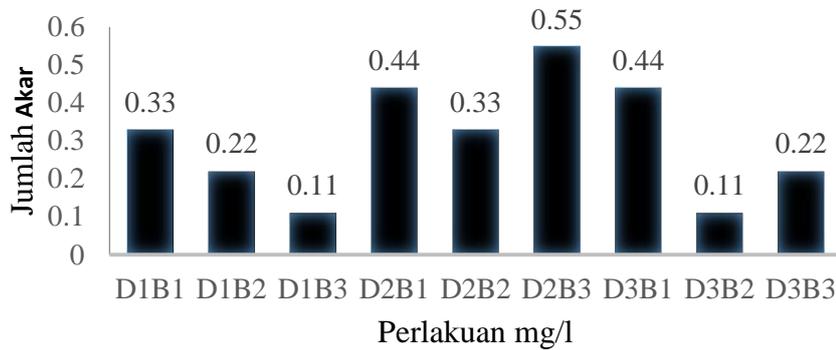
G = Green Kategori Kesegaran Eksplan :

Y = Yellow +++++ = Hijau Tua +++ = Hijau kekuningan

++++ = Hijau Muda + = Hijau keputih-putihan

Tidak terdapat perbedaan warna daun dengan penambahan BAP yang meningkatkan warna hijau. Tidak terjadinya peningkatan warna hijau ini diduga karena penambahan 2,4 D, pada penelitian ini konsentrasi 2,4 D yang digunakan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi BAP, adanya auksin endogen maka sistem kerja BAP dalam pembentukan klorofil menjadi terhambat.

#### 4 Jumlah Akar

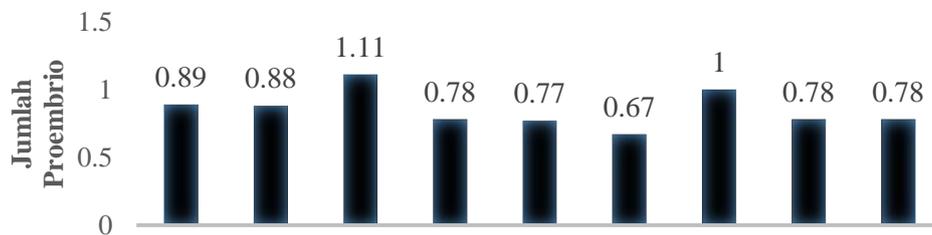


Gambar 3. Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap jumlah akar pada tunas Anggrek *Vanda tricolor*

Pada penambahan BAP dalam berbagai konsentrasi tidak mampu memunculkan akar yang banyak. Hal ini dapat diduga pemberian BAP pada media kultur lebih banyak digunakan untuk multiplikasi tunas daripada untuk pembentukan akar. Hal ini sama dengan penelitian Marlin (2005) pada eksplan jahe, untuk penambahan BAP dalam konsentrasi yang lebih tinggi pada media menyebabkan terhambatnya pembentukan akar.

### C. Pertumbuhan Pro-embrio dan Kalus Anggrek *Vanda tricolor*

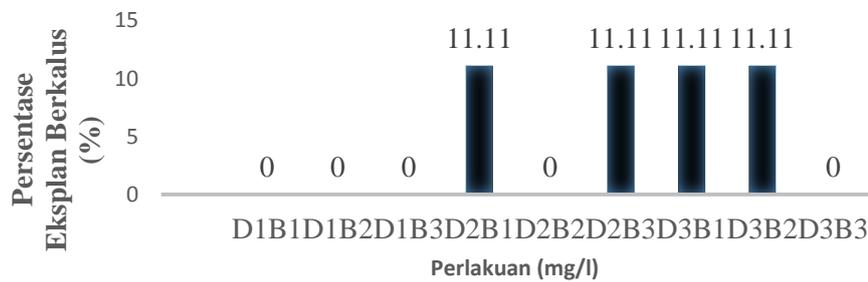
#### 1 Jumlah pro-embrio



Gambar 4. Induksi Embriosomatik dengan perlakuan 2,4 D dan BAP terhadap jumlah pro-embrio pada tunas Anggrek *Vanda tricolor*

Jumlah pro-embrio ini sangat penting diamati karena semakin banyak pro-embrio yang terbentuk maka akan berpeluang mendapatkan calon tunas, calon akar maupun calon embrio. Berdasarkan hasil analisis, menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4D dan konsentrasi BAP tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap semua parameter. Hal ini diduga tunas anggrek *Vanda tricolor* belum merespon zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang ada pada medium. Hal tersebut dikarenakan waktu inkubasi yang pendek (8 minggu) untuk menginduksi tunas. Sejalan dengan penelitian Latip *et al.*, (2010) menyebutkan proliferasi protocorm anggrek *Phalaenopsis gigantea* asal kultur *in vitro* memerlukan waktu 40 – 80 hari (6 – 12 minggu).

## 2 Persentase Eksplan Berkalus (%)



Gambar 1. Pengaruh 2,4D dan BAP terhadap Persentase Eksplan Berkalus pada tunas Anggrek vanda tricolor pada (8 MST).

Penambahan 2,4-D dalam media kultur akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid (Bekti dkk., 2003). Selain *browning*, faktor lain yang menyebabkan tidak terjadinya perkembangan pada kalus adalah respon dari tanaman *V. tricolor* Lindl. varietas *suavis* yang sangat lambat sehingga tidak terjadi perkembangan yang signifikan bahkan beberapa perlakuan hanya menunjukkan respon pembengkakan saja dan belum menunjukkan perkembangan kalus.

### 3. Tekstur Kalus

Tabel 4. Pengaruh perlakuan 2,4D dan BAP terhadap tekstur kalus pada tunas Anggrek *Vanda tricolor* pada (8 MST).

Perlakuan	Tekstur Kalus
2,4 D 0 mg/l + BAP 0 mg/l	Tidak muncul
2,4 D 0 mg/l + BAP 0,1 mg/l	Tidak muncul
2,4 D 0 mg/l + BAP 0,5 mg/l	Tidak muncul
2,4 D 2 mg/l + BAP 0 mg/l	Kompak
2,4 D 2 mg/l + BAP 0,1 mg/l	Tidak muncul
2,4 D 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	Kompak
2,4 D 4 mg/l + BAP 0 mg/l	Kompak
2,4 D 4 mg/l + BAP 0,1 mg/l	Kompak
2,4 D 4 mg/l + BAP 0,5 mg/l	Tidak muncul

Pada Tabel 4 terlihat bahwa semua kalus yang dihasilkan yaitu *nonfriable* atau kompak dan tidak semua perlakuan menghasilkan kalus. Kalus yang kompak mempunyai tekstur yang sulit untuk dipisahkan dan terlihat padat. Kalus yang non embriogenik berwarna kuning kecokelatan, agak pucat, dan lembek berair sehingga sulit dipisahkan (Peterson dan Smith, 1991).

### 4. Pengamatan Mikroskop

Pengamatan mikroskop bertujuan untuk mengetahui perkembangan eksplan yang membentuk kalus dan fase embrio secara detail menggunakan mikroskop. Dengan menggunakan mikroskop eksplan tunas Anggrek *Vanda tricolor* diharapkan akan terlihat pembentukan fase globular, heart, torpedo, dan

kotiledon. Pengamatan mikroskop ini dilakukan pada 4 MST dan 8 MST. Pengamatan mikroskop dilihat pada perbesaran 0,7 dan perbesaran 0,8.

#### KESIMPULAN

1. Konsentrasi 2,4 D 2 mg/l cenderung memberikan angka pertambahan jumlah daun lebih besar yaitu (0,77 helai), tinggi tanaman lebih panjang yaitu (0,29 mm), jumlah akar lebih tinggi yaitu (0,55 akar).
2. Konsentrasi BAP 0 mg/l cenderung memberikan hasil yang tertinggi pada hasil analisis parameter.
3. Konsentrasi 2,4 D 2 mg/l dan BAP 0 mg/l cenderung memberikan perlakuan yang tertinggi pada hasil analisis parameter jumlah daun, tinggi tanaman, jumlah akar.

#### SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi ZPT 2,4D dan BAP yang tepat untuk mencapai tujuan agar menghasilkan embriosomatik yang menghasilkan kalus yang embriogenik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bekti, R., Solichatun, E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*. 1(1) :1693-2242.
- Latip, M.A., R. Murdad, Z.A. Aziz, L.H. Ting, L.M. Govindasamy and R. Ripin. 2010. Effects of N6-Benzyladenine and Thidiazuron on Proliferation of *Phalaenopsis gigantea* Protocorms. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology Biotechnology* 18(1):217-220.
- Marlin. 2005. Regenerasi *In Vitro* Plantlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada Beberapa Taraf Konsentrasi 6-Benzyl Amino Purine (BAP) dan 1-Naphtalene Acetic Acid (NAA). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia* 7(1): 8-14.
- Metusala, D. 2006. Melirik Konservasi Anggrek *Vanda tricolor* L. var. *suavis* di Merapi. <<http://www.anggrek.org/melirik-konservasi-anggrek-vanda-tricolor-di-merapi-2.html>>. Diakses tanggal 01 April 2018.
- Paramartha, AI. Ermavitalini, D. Nurfadilah, S. 2012. Pengaruh Penambahan Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan biji *Dendrobium taurulimun* JJ Smith Secara *In vitro*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 1(1) : 40- 42.
- Peterson G, Smith R. 1991. Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of American and international rice varieties. *Plant Cell Reports*. 10(1): 35-38.
- Rineksane, I. A dan M. Sukarjan. 2015. Regenerasi Anggrek *Vanda tricolor* Pasca Erupsi Merapi Melalui Kultur *in vitro*. Universitas PGRI Yogyakarta. 2017. Hal 378-384.

- Sharaf, E. MA., dan Weathers, P. 2006. "Movement and Containment of Microbial Contamination in The Nutrient Mist Bioreactor". *In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant*. 42(6) : 553-557.
- Trigiano, R. N., dan Gray, J. D. 2000. *Plant Tissue Culture Concept and Laboratory Exercise*. CRC Press, New York. 72-77.

