

Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. pada Medium Pupuk Organik Cair Secara *In Vitro*

Growth and Development of *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. Embryo on Liquid Organic Fertilizer

¹Yusnaeni Yusuf*, ²Ari Indianto

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Makassar

²Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

email: yusnaeniy@gmail.com

Abstract: The field of agriculture which is currently rapid development in Indonesia is an ornamental plant. Orchid is an ornamental plant that has economic value with various forms, colors and fragrances. Orchid seed cultured in vitro on suitable media will produce orchid seedlings in large numbers but in short time. The purpose of this study was to determine the growth phase of orchid embryo and to determine an effective concentration of liquid organic fertilizer (LOF) that influence the growth and development of orchid embryo *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. To determine the embryonic phase is done by sowing of orchid embryo on VW medium which added coconut water 150 ml/L. The growth phase observation was conducted for 2 months. Explant that was used is embryo phase 5 which is planted in treatment medium. The treatment medium used was POC Fertile, medium with various concentrations (1, 1, 2, 2.5, 3, 3.5 ml / L) added coconut water 150 ml / L. VW and Agar media were used as controls. Each treatment consisted of 3 replications. Parameters were observed in 2 months for morphological characters (number and length of root; number and length of leaves, and number of shoots). Quantitative data were analyzed with Analyze of Variance (ANOVA) a statistical test using Duncan Multiple Range Test (DMRT) at 5%. The results showed that the orchid embryo in phase 5 treatment of POC Fertile 2 gave a significantly different effect on leaf length and root length with values of 3861.6 and 16.897.

Keywords: Liquid Organic Fertilizer, In vitro germination of orchids, Embrio

1. Pendahuluan

Anggrek merupakan tanaman hias berbunga yang bernilai ekonomi dengan berbagai ragam bentuk, warna serta aroma. Dari 20.000 spesies anggrek di dunia (Tsai *et al*, 2008), Indonesia memiliki sekitar 5000 spesies anggrek (Irawati, 2002). Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada tengah merintis pengembangan persilangan jenis-jenis anggrek alam Indonesia. Salah satu usaha yang berhasil adalah persilangan anggrek alam jenis *Vanda limbata* yang bisa dijumpai di Nusa Tenggara dengan *Vanda tricolor* dari lereng Gunung Merapi. Karakter-karakter unggul yang dimiliki kedua bunga tersebut yakni memiliki aroma yang khas dengan perhiasan bunga yang tebal sehingga bunga tidak cepat layu. Pengembangan hasil persilangan kedua anggrek alam ini dapat menjadi peluang usaha yang menguntungkan di sektor tanaman hias dan mengurangi kebutuhan masyarakat terhadap anggrek indukan sehingga dapat menjaga kelestarian anggrek alam. Karena alasan tersebut dibutuhkan penelitian untuk memperoleh medium alternatif untuk kultur *in vitro*, salah satunya dengan menggunakan pupuk organik cair yang murah dan mudah diperoleh di pasaran.

2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Alat-alat penelitian yang digunakan terdiri atas *Laminar air Flow* (ESCO), autoklaf (Tomy ES-215), timbangan analitik (Mettler Toledo), *hot plate magnetic stirrer* (Benchmark), pH meter (Mi 151), *micropipet* (Socorex), mikroskop inverted (Nikon Diaphot 300), optilab, kamera digital *Canon Power Shoot A 4000 IS 16* megapixel 8 x *optical zoom*, dan alat gelas. Bahan yang digunakan meliputi, Bahan

tanaman, buah *Vanda* hibrida (*Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis*) berumur ± 7 bulan setelah polinasi. Bahan kimia yang digunakan untuk media VW yang ditambah air kelapa (150 mL) dan ekstrak pisang (150 gr), POC Fertile berbagai konsentrasi, larutan HCl, larutan KOH, serta bahan lain meliputi etanol 70% dan 96%, *plastic seal*, kertas label, kertas saring, kertas *Samson*, aquades steril, aluminium foil, dan selotip.

a) Prosedur Kerja

Prosedur kerja ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Tahap penelitian ini meliputi:

- Penentuan umur embrio anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl
Sterilisasi buah dan penaburan biji anggrek pada medium VW. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium perkecambahan, medium perlakuan dan medium subkultur. Medium Perkecambahan berupa medium VW yang ditambahkan dengan ekstrak pisang. Pembuatan medium dimulai dengan menimbang bahan-bahan yang digunakan dan melarutkannya satu persatu. Bahan-bahan yang terdiri dari makronutrien dilarutkan dalam Erlenmeyer yang telah berisi aquades sebanyak kurang lebih 250 ml. Setelah semua makronutrien larut, kemudian ditambahkan dengan mikronutrien, besi, sukrosa, air kelapa 150 ml/L dan ekstrak pisang yang dilarutkan satu-persatu. Kemudian volume dicukupkan hingga 1000 ml dengan menambahkan aquades. Kemudian tingkat keasaman medium diatur dengan menambahkan larutan KOH 1 N atau HCl 1 N sampai diperoleh pH larutan 5,8 yang diukur dengan menggunakan pH meter. Penanaman pada medium VW dilakukan selama 4 bulan.
- Pemindahan dan transfer protokorm berumur 9 MSP (minggu Setelah Penaburan) yang telah terbentuk daun pertama pada medium pupuk organik cair (POC). Pemindahan protokorm tanaman anggrek dilakukan menggunakan kriteria fase pertumbuhan protokorm anggrek umur 9 minggu setelah penaburan (MSP) sesuai kriteria pertumbuhan protokorm anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl (Yusuf, 2015). Protokorm ini sudah memiliki daun pertama. Medium perlakuan yang digunakan adalah medium POC Fertile, dengan beragam konsentrasi (1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L) medium ini sebagai perlakuan, sedangkan medium VW dan medium agar sebagai kontrol. Medium POC dibuat dengan menambahkan POC sesuai konsentrasi perlakuan (1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 ml/L) yang dilarutkan ke dalam gelas kimia berisi aquades 100 ml aquades kemudian ditambahkan air kelapa 150 ml/L dan sukrosa. Untuk medium VW sebagai medium kontrol. Distribusi medium pupuk organik cair dan medium VW kontrol ke cawan petri dilakukan secara aseptis dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Penanaman pada medium perlakuan dilakukan hingga 2 bulan (8 minggu pengamatan).
- Pengamatan pertumbuhan;
Analisis morfologis dilakukan dengan mengamati perubahan morfologi tanaman selama 2 bulan pada medium perlakuan dalam cawan petri. Pengamatan morfologi mengenai jumlah akar, panjang akar, jumlah daun, panjang daun, dan jumlah tunas selama 2 bulan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan opti Lab kemudian dilakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.
- Analisis data. Parameter pertumbuhan yang diamati antara lain karakter morfologis (jumlah dan panjang akar, jumlah dan panjang daun serta jumlah tunas). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data kemudian dianalisis

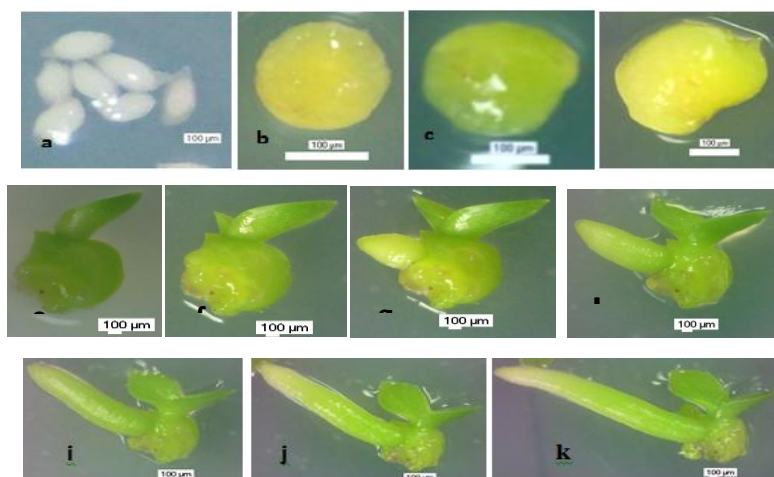
dengan ANOVA dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 1. Komposisi Medium pupuk organik cair (tertera pada label kemasan) yang digunakan sebagai media pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. dan Medium Vacin-Went (VW).

UNSUR (ELEMENT)	MEDIUM	
	FERTILE	MEDIA VACIN-WENT (VW)
N	13.86%	Unsur Hara Makro
SENYAWA N	-	1. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 200 mg/L
	-	2. KNO_3 525 mg/L
	-	3. KH_2PO_4 250 mg/L
	-	4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 250 mg/L
P_2O_5	8%	5. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 500 mg/L
K_2O	14%	
S	-	Unsur hara Mikro
Si	-	1. $\text{Fe}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3$ 28 mg/L
Cl	-	2. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 7.5 mg/L
SO_4	-	Sukrosa 9 g/L
NaCl	-	Zat Pekat :
Ca	-	Bioagar 8 g/L
B	-	Air Kelapa 150 ml/L
Zn	-	pH 5.6-5.8
BAHAN ORGANIK	40%	

3. Hasil Penelitian

Buah anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. yang berasal dari buah yang telah berumur ± 7 bulan kemudian ditabur pada medium VW yang ditambahkan air kelapa. Perkembangan morfologi biji anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dilakukan setiap minggu selama 4 bulan untuk melihat perubahan morfologinya.



Gambar 1: a. Fase *Swollen* embrio (Fase 1), ditandai dengan pecahnya testa dan pembengkakan pada embrio. b. embrio berumur 4 minggu setelah penaburan (MSP) berbentuk bangunan bulat seperti tuber berwarna kuning kehijauan (Fase 2). c. Embrio berumur 5 MSP, berbentuk bulat, protokorm berwarna hijau (Fase 3). d. embrio berumur 7 MSP berwarna hijau muncul tonjolan pertama pada bagian apikal (Fase 4). e. Fase 5 : embrio umur 9 MSP telah terbentuk daun pertama dengan satu tonjolan calon akar. f.

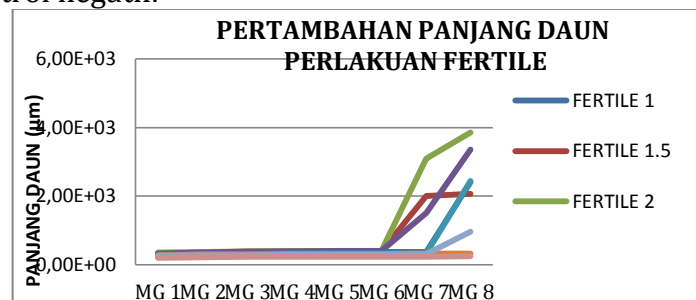
Fase 6: embrio umur 14 MSP memiliki dua daun dengan satu tonjolan calon akar (Fase 6). g. planlet berumur 15 MSP. h. planlet berumur 16 MSP. i-k. Embrio membentuk planlet sempurna. Bar: 100 μm .

Penambahan POC Fertile memberikan pengaruh yang terhadap karakter morfologi (Tabel 2) pada fase 5 dari *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl.

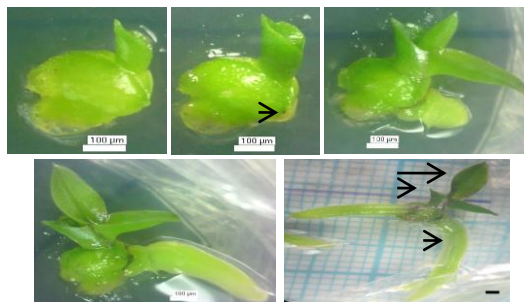
Tabel 2. Rata-rata panjang daun dan panjang akar protokorm anggrek pada media Fertile hingga umur 8 MST.

PERLAKUAN	DATA MORFOLOGI			
	PANJANG DAUN (μm)	PANJANG AKAR (μm)	JUMLAH DAUN	JUMLAH AKAR
FERTILE 1	2415.9 c	11220 cd	3.00 cd	1.33 ab
FERTILE 1.5	2071.1 bc	11675 cd	3.33 d	2.00 b
FERTILE 2	3861.6 d	16897 d	3.33 d	2.00 b
FERTILE 2.5	3365.5 cd	12639 cd	3.00 cd	1.33 ab
FERTILE 3	2441.2 c	8336.9 bc	3.00 cd	1.33 ab
FERTILE 3.5	325.62 a	989.62 a	3.00 cd	1.00 a
VW (Kontrol Positif)	959.83 ab	5001.5 ab	3.00 cd	1.33 ab
AG (Kontrol Negatif)	237.77 a	329.53 a	1.00 a	1.00 a

Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada taraf uji 5 % sampel diambil dari 3 ulangan. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.



Gambar 3. Pertambahan panjang akar dari pengamatan 1 MST hingga pengamatan 8 MST anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. protokorm fase 5 pada perlakuan POC Fertile. Keterangan: VW: sebagai kontrol positif dan AG: medium agar tanpa sukrosa sebagai kontrol negatif.



Gambar 4. Proses pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek fase satu daun hingga pengamatan minggu ke-8 setelah perlakuan pupuk Fertile konsentrasi 2 ml/L. a. Awal tanam, b. Minggu ke-2, c. Minggu ke-4, d. Minggu ke-6 e. Minggu ke-8. Bar: 100 μm : a-d, 1 mm: e.



Gambar 5. a. Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada medium VW minggu ke-8 b. Anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada medium agar minggu ke-8 c. Morfologi tanaman anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. pada protokorm fase 5 setelah perlakuan pupuk Fertile konsentrasi 2 ml/L pada minggu ke-8. keterangan ah: *Absorbing Hair*. ta: Tonjolan akar. L1: daun pertama, L3: daun ketiga, R1: akar pertama Bar: 100 µm: a-b, 1 mm: c.

4. Pembahasan

Perkembangan morfologi embrio anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dilakukan setiap minggu selama 4 bulan untuk melihat perubahan morfologinya. Hal ini dapat dilakukan untuk memperoleh fase pertumbuhan protokorm yang dilaporkan oleh Yusuf (2015). Adapun tahap perkembangan embrio anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. yakni : Fase *Swollen* embrio (Fase 1), ditandai dengan pecahnya testa dan pembengkakan pada embrio. b. embrio berumur 4 minggu setelah penaburan (MSP) berbentuk bangunan bulat seperti tuber berwarna kuning kehijauan (Fase 2). c. Embrio berumur 5 MSP, berbentuk bulat, protokorm berwarna hijau (Fase 3). d. embrio berumur 7 MSP berwarna hijau muncul tonjolan pertama pada bagian apikal (Fase 4). e. Fase 5 : embrio umur 9 MSP telah terbentuk daun pertama dengan satu tonjolan calon akar. f. Fase 6: embrio umur 14 MSP memiliki dua daun dengan satu tonjolan calon akar (Fase 6) (Gambar 1).

Protokorm yang digunakan adalah protokorm berumur 9 MSP. Pada fase ini tonjolan pertama muncul pada minggu ke-7, daun pertama terus mengalami perkembangan diikuti munculnya tonjolan kedua yang berhadapan dengan daun pertama pada minggu ke-9. Ciri ini sesuai dengan penelitian Yusuf (2015) yang menggolongkan protokorm ini sebagai protokorm Fase 5 dari proses pertumbuhan dan perkembangan embrio *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. Setelah proses imbibisi, terjadi peningkatan aktivitas enzim dan respirasi sel sehingga dihasilkan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan embrio. Embrio selanjutnya terus tumbuh dan akhirnya akan merobek testa dan berkembang menjadi protokorm. Protokorm kemudian terus berkembang dan membentuk tonjolan yang merupakan primordia daun. Pada perkembangan protokorm anggrek terjadi perubahan warna, yakni warna kuning menjadi hijau. Sehingga terdapat fase ketika protokorm berwarna kuning dan fase selanjutnya protokorm berwarna hijau. Diduga perubahan ini karena terjadi pembentukan klorofil. Menurut Arditti (1967), perkecambahan embrio anggrek dapat diikuti pembentukan klorofil pada embrio maupun tidak terbentuk klorofil. Protokorm adalah bentukan bulat yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan anggrek Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan (Yong *et al*, 2009) bahwa air kelapa mengandung ion anorganik, asam amino, enzim, vitamin, hormone pertumbuhan dan asam organik. Air kelapa juga dilaporkan merupakan *inducer* proliferasi dan diferensiasi sel pada beberapa *Orchidaceae*, air kelapa meningkatkan proliferasi protokorm *Cymbidium* (Kusumoto, 1980). Temjensangba and Deb (2005),

Perkembangan morfologi biji anggrek *V. limbata* Blume x *V. tricolor* Lindl. dilakukan setiap minggu selama 4 bulan untuk melihat perubahan morfologinya. Hal ini dapat dilakukan untuk memperoleh fase pertumbuhan protokorm yang dilaporkan oleh Tuo (2014). Biji anggrek merupakan biji yang susunannya terdiri atas embrio yang diselubungi testa tanpa endosperm. Perkecambahan biji anggrek dapat dioptimalkan melalui teknik *in vitro*. Perlakuan POC Fertile 1, Fertile 2, Fertile 2.5, dan Fertile 3 dapat

memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap panjang daun dibandingkan dengan medium VW. Hal ini dibuktikan dengan perlakuan POC Fertile 2 yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada parameter karakter morfologi (Tabel 2) dibandingkan VW (Gambar 2, 3, 4 dan 5). Hal ini disebabkan karena POC Fertile mengandung nitrogen yang lebih tinggi yaitu 13.86%, unsur K dalam bentuk K_2O 14% dan unsure P dalam bentuk P_2O_5 sebesar 8 % (Tabel 1). Menurut Lakitan (1993), nitrogen merupakan salah satu unsur makro yang paling banyak dibutuhkan di dalam jaringan tumbuhan. Nitrogen berperan untuk merangsang pertumbuhan secara keseluruhan dan meningkatkan kandungan protein serta pertumbuhan daun. Unsur N sebagai komponen protein dan enzim sehingga nitrogen berperan dalam proses sintesis dan transpor energi dalam sel.

5. Kesimpulan

Pengaruh medium POC terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio anggrek menunjukkan respon yang berbeda-beda pada setiap fase pertumbuhan. Pada fase 5 perlakuan POC Fertile 2 memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap panjang daun dan panjang akar dengan nilai masing-masing 3861.6 dan 16.897.

Referensi

- Arditti, J. 1967. Factor affecting the germination of orchid seeds. *Botanical Review*. 33:1-97.
- Irawati. 2002. Konservasi Anggrek Spesies di Indonesia. *Prosiding Seminar Anggrek Indonesia*. Yogyakarta.
- Kusumoto, Mamoru. 1980. Effect of Coconut Milk, agar, and sucrose concentration and media pH on the proliferation of *Cymbidium* plb cultured *in vitro*. *Japan Soc. Hort Sci*. 48(4): 503-509.
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Raja Grafindi Persada. Jakarta.
- Temjensangba, and C. R. Deb. 2005. Regeneration and Mass Multiplication of *Arachnis labrosa* (Lindl. ex Paxt.) Reichb: A rare and Threatened Orchid. *Curr. Sci*. 88(12): 1966-1969.
- Tsai, W.C., Hsiao, Y.Y., Pan, Z.N., Hsu, C.C., Chen, W.H., and Chen, H. H. 2008. Molecular Biology of Orchid Flowers; With Emphasis on *Phalaenopsis*. *Advances in Botanical Research* Vol. 47. Incorporating Advances in Plant Pathology.
- Tuo, Mustika. 2014. Pengembangan Anggrek *Vanda* Hibrida (*Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl.) dengan perlakuan kolkisin secara *In vitro*. *Tesis*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasi).
- Yong, J.W.H., Ge L. Ng YF., and Tan SN. 2009. The chemical and biological properties of coconut water (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules*. 14: 5144-5164.
- Yusuf, Yusnaeni. 2015. Pemanfaatan Pupuk Organik Cair untuk Memacu Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Anggrek *Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. secara *In vitro*. *Tesis*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasi).