



PENGARUH *BENZYLAMINOPURINE* (BAP) DAN *NAPHTALENEACETIC ACID* (NAA) TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS SECARA LANGSUNG PADA NODUS ANGGREK *Phalaenopsis* sp. SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh

**Miftahatusy-syifa' Setyaji
NIM 121510501103**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



PENGARUH *BENZYLAMINOPURINE* (BAP) DAN *NAPHTALENEACETIC ACID* (NAA) TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS SECARA LANGSUNG PADA NODUS ANGGREK *Phalaenopsis* sp. SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan memperoleh gelar Sarjana Pertanian

Oleh

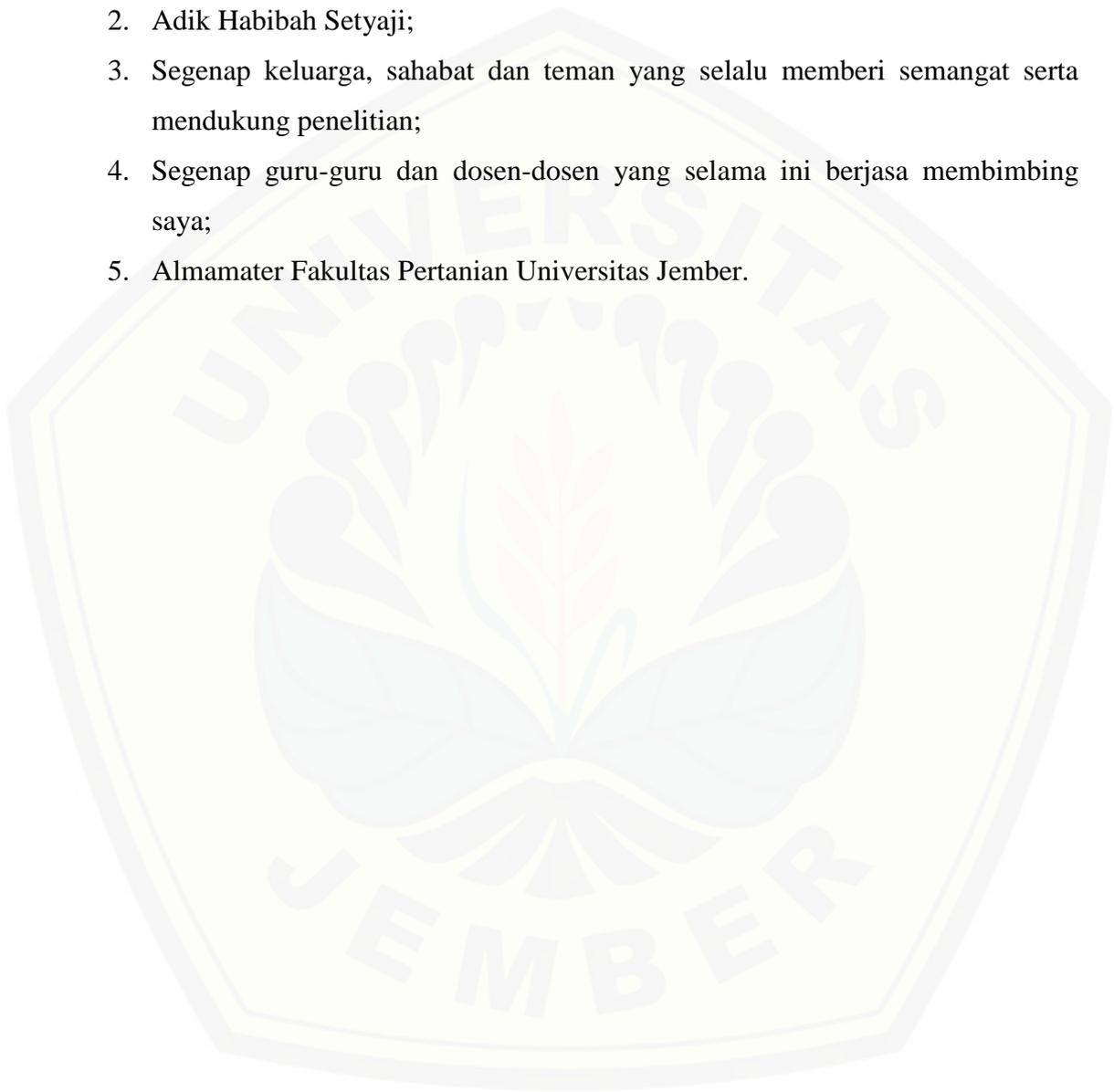
Miftahatusy-syifa' Setyaji
NIM 121510501103

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Juwariyah dan Bapak Setyaji Rahmat;
2. Adik Habibah Setyaji;
3. Segenap keluarga, sahabat dan teman yang selalu memberi semangat serta mendukung penelitian;
4. Segenap guru-guru dan dosen-dosen yang selama ini berjasa membimbing saya;
5. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.



MOTTO

“... Tetapi boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu,
dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu.

Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(QS. Al-Baqarah ; 216)

“Mahasuci Allah yang menguasai (segala) kerajaan, dan Dia Mahakuasa atas
segala sesuatu. (1) Yang menciptakan mati dan hidup, untuk menguji kamu,
siapa di antara kamu yang lebih baik amalnya. Dan Dia Mahaperkasa,

Maha Pengampun. (2)”

(QS. Al-Mulk : 1-2)

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Miftahatusy-syifa' Setyaji

NIM : 121510501103

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Benzylaminopurine (BAP) dan Naphtaleneacetic Acid (NAA) terhadap Multiplikasi Tunas secara Langsung pada Nodus Anggrek *Phalaenopsis* sp. secara *In Vitro*”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 8 Maret 2017

Yang menyatakan,

Miftahatusy-syifa' Setyaji
NIM 121510501103

SKRIPSI

PENGARUH *BENZYLAMINOPURINE* (BAP) DAN *NAPHTALENEACETIC ACID* (NAA) TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS SECARA LANGSUNG PADA NODUS ANGGREK *Phalaenopsis* sp. SECARA *IN VITRO*

Oleh

Miftahatusy-syifa' Setyaji
NIM 121510501103

Pembimbing:

Pembimbing Utama : Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.

NIP. 196504261994031001

Pembimbing Anggota : Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D.

NIP. 196408141995121001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengaruh *Benzylaminopurine (BAP)* Dan *Naphtaleneacetic Acid (NAA)* terhadap Multiplikasi Tunas secara Langsung pada Nodus Angrek *Phalaenopsis sp.* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada :**

Hari, tanggal : 8 Maret 2017

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.
NIP. 196504261994031001

Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D.
NIP. 196408141995121001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP. 196410191990021002

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS.
NIP. 196003171983032001

Mengesahkan

Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D.
NIP. 196005061987021001

RINGKASAN

Pengaruh *Benzylaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic acid* (NAA) terhadap Multiplikasi Tunas Secara Langsung pada Nodus Anggrek *Phalaenopsis* sp. secara *In Vitro*. Miftahatusy-syifa' Setyaji, 121510501103; 2017; 35 halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Phalaenopsis sp. menjadi salah satu jenis anggrek yang cukup diminati di pasar bunga dunia karena memiliki bentuk bunga lebar dan warna yang indah sebagai *compot (community pot)* maupun bunga potong. Perkembangbiakan *Phalaenopsis* sp. secara alami dengan generatif dan vegetatif masih memiliki kelemahan, yaitu tanaman yang dihasilkan masih rendah dan membutuhkan waktu yang relatif lama. Multiplikasi tunas secara langsung merupakan salah satu teknik perbanyakan secara kultur jaringan yang dapat menjadi solusi perbanyakan *Phalaenopsis* sp. Multiplikasi tunas secara langsung dipengaruhi oleh perbedaan nutrisi dan zat pengatur tumbuhan yang diberikan, seperti *Benzilaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic Acid* (NAA) serta macam eksplan, seperti nodus tangkai bunga.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP dan NAA dalam media yang memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada Maret-Desember 2016. Penelitian ini menggunakan eksplan nodus dari tangkai bunga dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor dengan 9 kombinasi perlakuan dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah BAP terdiri atas 0 mg/L (B0), 1 mg/L (B1) dan 2 mg/L (B2), dan faktor kedua adalah NAA terdiri atas 0 mg/L (N0), 0,5 mg/L (N1) dan 1 mg/L (N2). Variabel pengamatan yang digunakan adalah waktu terbentuknya tunas, formasi regenerasi tunas yang tumbuh, jumlah tunas dan jumlah daun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan konsentrasi BAP 2 mg/L dan NAA 0,5 mg/L (B2N1) membentuk tunas cenderung lebih cepat. Konsentrasi BAP 1 mg/L (B1N0), membentuk tunas cenderung lebih banyak. Konsentrasi NAA cenderung tidak

memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek
Phalaenopsis sp.



SUMMARY

The Effect of Benzylaminopurine (BAP) and Naphtaleneacetic acid (NAA) on Direct Shoot Multiplication of *Phalaenopsis* sp. Orchid Nodes Through In Vitro Propagation. Miftahatusy-syifa' Setyaji, 121510501103; 2017; 35 pages; Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember.

Phalaenopsis sp. is one of species of orchid that is quite attractive in the world flower market because it has a wide flower shapes and beautiful colors as compot (community pot) as well as cut flowers. The natural propagation of *Phalaenopsis* sp. with generative and vegetative still has one drawback, such as the low production of seedling and requires a relatively long time. Direct shoot multiplication is one of tissue culture propagation techniques that can be made a solution to the multiplication of *Phalaenopsis* sp. Direct shoot multiplication affected by the difference of nutrients and plant growth regulator, such as *Benzilaminopurine* (BAP) and *Naphtaleneacetic Acid* (NAA) and kind of explant, such as nodes of flower stalk.

The purpose of this research is to discover concentration between BAP and NAA in the media which affected direct shoot multiplication at the node of *Phalaenopsis* sp. The research conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jember on March to December 2016. The research used a nodal explants from the flower stalk and random complete design (RCD) factorial consists of two factors with 9 combination treatments and 3 replications. The first factor is BAP consists of 0 mg/L (B0), 1 mg/L (B1) and 2 mg/L (B2), and the second factor is NAA consists of 0 mg/L (N0), 0,5 mg/L (N1) and 1 mg/L (N2). The variable observations are the time of buds formation, the formation of shoots regenerated, the number of shoots and the number of leaves. The results showed that the combination of 2 mg/L BAP and 0,5 mg/L NAA (B2N1) are forming buds tend to be the fastest. 1 mg/L BAP (B1N0) is most likely to form buds. NAA concentration does not affect the direct shoot multiplication at the node *Phalaenopsis* sp.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Benzylaminopurine (BAP) dan Naphtaleneacetic Acid (NAA) terhadap Multiplikasi Tunas secara Langsung pada Nodus Anggrek *Phalaenopsis* sp. secara *In Vitro*”**. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
2. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dukungan, serta nasihat sehingga penelitian ini dapat terlaksana dan terselesaikan dengan baik.
3. Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, ilmu, serta nasihat sehingga penelitian ini dapat terlaksana dan terselesaikan dengan baik.
4. Dr. Ir. Miswar, M.Si., dan Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penelitian ini.
5. Orang tua tercinta, Setyaji Rahmat dan Juwariyah, adik tersayang Habibah Setyaji, Mbah Tini, Mbah Rosyid serta anggota keluarga lainnya yang tidak dapat disebutkan semuanya, terima kasih atas doa yang tiada pernah berhenti, nasihat, kasih sayang, dukungan semangat, moral, materi, dan segala hal yang telah diberikan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Keluarga Lab. Kultur Jaringan (Sarah, Lintang, Mbak Lela, Mas Khozin, Amir, Tisa, Haris, Mas Ridwan, Mas Hendy), Agroteknologi 2012 (Widya, Lia, Mega, Silvi, Umi), KPU, ast. Tekben, KKN35, d[^]nasa, Farin, dan lainnya yang telah menjadi rekan seperjuangan dan dukungan semangat hingga akhir studi.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Jember, Maret 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Karakteristik <i>Phalaenopsis</i> sp.	4
2.2 Teknik Kultur Jaringan	5
2.4 Zat Pengatur Tumbuh	7
2.5 Hipotesis	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Tempat dan Waktu.....	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Rancangan Percobaan.....	10
3.4 Pelaksanaan Percobaan.....	11
3.4.1 Persiapan Media dan Suplemen	11

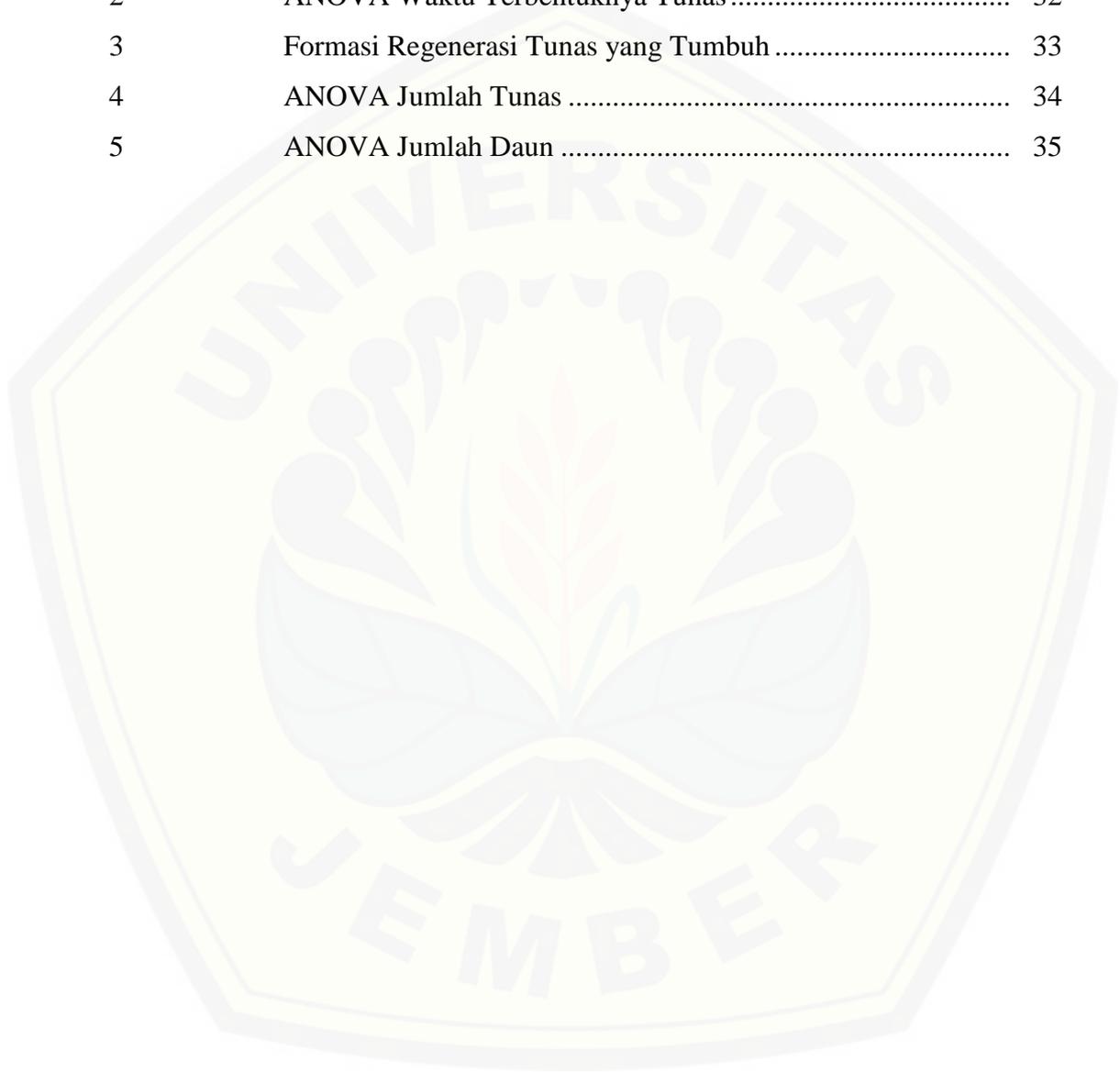
3.4.2	Persiapan Eksplan	11
3.4.3	Penanaman Eksplan	12
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1	Kondisi Umum Percobaan	14
4.2	Hasil	16
4.2.1	Waktu Terbentuknya Tunas	16
4.2.2	Formasi Regenerasi Tunas yang Tumbuh	17
4.2.3	Jumlah Tunas	18
4.2.4	Jumlah Daun	18
4.2.5	Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Nodus <i>Phalaenopsis</i> sp. pada ZPT Berbeda	19
4.3	Pembahasan	22
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	28
5.1	Kesimpulan	28
5.2	Saran	28
DAFTAR PUSTAKA		29
LAMPIRAN		31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Hal
3.1	Bahan tanam yang digunakan, a) Tanaman <i>Phalaenopsis</i> sp.; b) Nodus yang digunakan.....	11
4.1	Eksplan yang mengalami kematian akibat sterilisasi 1 pada hari ke 7	15
4.2	Eksplan yang mengalami kontaminasi akibat sterilisasi 2; a) Kontaminasi oleh bakteri hari ke 4; b) Kontaminasi oleh jamur hari ke 7.....	15
4.3	Eksplan hasil sterilisasi 3 yang tidak terkontaminasi hari ke 14...	16
4.4	Rata-rata waktu terbentuknya tunas	16
4.5	Pengaruh media perlakuan terhadap regenerasi <i>dormant bud</i> <i>Phalaenopsis</i> sp. setelah 98 HST	17
4.6	Rata-rata jumlah tunas yang terbentuk pada 98 HST	18
4.7	Rata-rata jumlah daun yang terbentuk pada 98 HST.....	18
4.8	Pertumbuhan dan perkembangan eksplan nodus <i>Phalaenopsis</i> sp. mulai 30 HST hingga 90 HST pada perlakuan BAP 0 mg/L dan tiga macam konsentrasi NAA (0 mg/L, 0,5 mg/L dan 1 mg/L)	19
4.9	Pertumbuhan dan perkembangan eksplan nodus <i>Phalaenopsis</i> sp. mulai 30 HST hingga 90 HST pada perlakuan BAP 1 mg/L dan tiga macam konsentrasi NAA (0 mg/L, 0,5 mg/L dan 1 mg/L)	20
4.10	Pertumbuhan dan perkembangan eksplan nodus <i>Phalaenopsis</i> sp. mulai 30 HST hingga 90 HST pada perlakuan BAP 2 mg/L dan tiga macam konsentrasi NAA (0 mg/L, 0,5 mg/L dan 1 mg/L)	21
4.11	Perbandingan pertumbuhan dan perkembangan eksplan nodus <i>Phalaenopsis</i> sp. pada 90 HST dengan kombinasi perlakuan BAP dan NAA	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Hal
1	Komposisi MS (Murashige dan Skoog)	31
2	ANOVA Waktu Terbentuknya Tunas	32
3	Formasi Regenerasi Tunas yang Tumbuh	33
4	ANOVA Jumlah Tunas	34
5	ANOVA Jumlah Daun	35



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anggrek tumbuh sebagai tanaman hias dan bernilai lebih sebagai bunga potong. Tidak hanya karena keindahannya yang eksotis, tetapi juga karena masa berbunganya yang bertahan lama. Transaksi anggrek saat ini tidak hanya sebagai hobi melainkan sudah berubah menjadi suatu industri berskala internasional (Chugh *et al.*, 2009). *Phalaenopsis sp.* menjadi salah satu jenis anggrek yang cukup diminati di pasar bunga dunia karena memiliki bentuk bunga lebar dan warna yang indah sebagai *community pot* maupun bunga potong.

Produktivitas anggrek nasional mengalami penurunan sebesar 1,57% dari tahun 2014 sebanyak 13,39 tangkai/m² menjadi 13,18 tangkai/m² pada tahun 2015 (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Hortikultura, 2016). Namun, dibandingkan dengan produktivitas anggrek dari negara tetangga, seperti Thailand memiliki rata-rata 10-12 tangkai/tanaman, produktivitas nasional memiliki rata-rata yang kecil, yaitu sekitar 3-4 tangkai/tanaman (Hilman *et al.*, 2012). Rendahnya produktivitas anggrek nasional dapat disebabkan belum berkembangnya teknik budidaya anggrek yang tepat.

Perkembangbiakan *Phalaenopsis sp.* secara alami adalah menggunakan biji dan terkadang secara vegetatif, yaitu keiki yang tumbuh dari *dormant bud* di tangkai bunga. Siklus hidup *Phalaenopsis sp.* termasuk lama, yaitu sekitar 2 hingga 3 tahun baik secara generatif maupun vegetatif karena membutuhkan munculnya tangkai bunga dan bunga. Hal tersebut menjadi salah satu kendala dalam upaya budidaya *Phalaenopsis sp.* (Roxana and Bala, 2012). Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian (2005), menyatakan bahwa penyediaan varietas unggulan spesifik lokasi yang diimbangi dengan perbanyakan benih *mericlonal* untuk mendapatkan tanaman seragam dalam waktu relatif cepat merupakan salah satu faktor penting program pengembangan tanaman anggrek. Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan yang dapat menjadi solusi atas kebutuhan bahan tanam anggrek yang seragam dalam jumlah banyak dan waktu relatif lebih cepat. Menurut Zulkarnain

(2011), salah satu teknik kultur jaringan yang bisa digunakan untuk mengatasi permasalahan budidaya anggrek adalah multiplikasi tunas secara langsung, yaitu menumbuhkan tunas dari eksplan secara langsung tanpa melalui pembentukan kalus. Dengan demikian dapat memperoleh planlet lebih cepat dibanding perbanyakan melalui tahapan kalus terlebih dahulu.

Kosir *et al.* (2004), menyatakan bahwa faktor yang memengaruhi regenerasi secara langsung adalah eksplan yang digunakan dan perbedaan nutrisi serta zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diberikan. Chugh *et al.* (2009), menyatakan bahwa teknik perbanyakan menggunakan *dormant bud* pada nodus bunga anggrek terbukti memaksimalkan perbanyakan *Phalaenopsis* sp. yang memiliki sifat monopodial dan umumnya sulit diperbanyak secara vegetatif, yaitu dari satu tangkai hanya tumbuh 2-3 keiki/tunas, sedangkan secara *in vitro* dapat diperoleh 4-8 tunas/nodus.

Perbandingan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibanding auksin sesuai untuk perbanyakan tunas. Fithriyandini *et al.* (2015), menyatakan bahwa setiap peningkatan konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) menunjukkan kecenderungan waktu lebih cepat pada kemunculan PLB, tunas dan daun, serta mengambil peran penting bagi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Kosir *et al.* (2004), menyatakan bahwa beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Naphtalenacetic acid* (NAA) menghambat induksi dan regenerasi, tetapi kombinasi antara NAA dan BAP mampu menstimulasi pertumbuhan tunas, yaitu BAP 2 ppm dan NAA 0,5 ppm mampu menghasilkan 8,35 tunas/nodus. Penelitian Roxana and Bala (2012) menunjukkan bahwa penambahan BAP 2 ppm dan NAA 1,5 ppm mampu menghasilkan 4-5 tunas/nodus. Berdasarkan penelitian yang telah ada maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan BAP dan NAA terhadap multiplikasi tunas secara langsung nodus anggrek *Phalaenopsis* sp. pada media MS. Selain itu juga untuk menentukan kombinasi konsentrasi yang paling tepat antara BAP dan NAA terhadap multiplikasi tunas secara langsung nodus anggrek *Phalaenopsis* sp. pada media MS.

1.2 Rumusan Masalah

Phalaenopsis sp. merupakan salah satu komoditas tanaman hias yang populer di pasar dunia. Akan tetapi, kendala dalam perbanyakan secara generatif maupun vegetatif membutuhkan waktu yang relatif lama. Perbanyakan melalui regenerasi tunas secara langsung pada bagian vegetatif, yaitu nodus tangkai bunga dapat menjadi salah satu solusi mengatasi permasalahan sehingga tanaman yang dihasilkan seragam dan relatif lebih cepat. Selain itu penambahan ZPT untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah yang lebih banyak. Penambahan ZPT, yaitu BAP dan NAA diharapkan mampu meningkatkan pembentukan tunas *Phalaenopsis* sp. Berdasarkan pemaparan tersebut maka diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kombinasi antara konsentrasi ZPT *Benzylaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.?
2. Bagaimana konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.?
3. Bagaimana konsentrasi *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada anggrek *Phalaenopsis* sp.?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.
2. Mengetahui konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.
3. Mengetahui konsentrasi *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai referensi multiplikasi tunas secara langsung untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik *Phalaenopsis* sp.

Chugh *et al.* (2009), menyatakan bahwa pada dasarnya anggrek tumbuh sebagai tanaman hias dan bernilai lebih sebagai bunga potong tidak hanya karena keindahannya yang eksotis tetapi juga karena masa berbunganya yang bertahan lama. Beberapa anggrek juga berperan sebagai bahan obat tradisional. *Phalaenopsis* sp. merupakan salah satu anggrek keindahan bunga yang lebar seperti sayap kupu-kupu dengan berbagai warna yang cantik dan menarik. Transaksi anggrek saat ini tidak hanya sebagai hobi melainkan sudah berubah menjadi suatu industri. Eksportir terbesar anggrek pot adalah Taiwan dan Thailand, dengan importir terbesar adalah Amerika Serikat dengan *Phalaenopsis* sp. sebagai salah satu jenis yang populer.

Menurut GBIF Backbone Taxonomy (2017), struktur hierarki anggrek *Phalaenopsis* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Filum : Trachrophyta
Kelas : Lilipsida
Orde : Asparagales
Family : Orchidacea
Genus : Phalaenopsis

Anggrek termasuk dalam keluarga tanaman bunga yang memiliki banyak jenis. *Phalaenopsis* sp. atau anggrek bulan merupakan salah satu jenis anggrek yang secara resmi dinobatkan sebagai bunga nasional “Puspa Pesona” sejak tanggal 5 Juni 1990. *Phalaenopsis* sp. tergolong tanaman jenis epifit, yaitu menempel pada pohon yang ditandai dengan karakter pertumbuhannya menempel pada kulit pohon. Seluruh bagian tumbuhan (akar, batang, daun) mengapung di udara. Akar *Phalaenopsis* sp. dibedakan menjadi akar lekat dan akar udara. Batang *Phalaenopsis* sp. kadang tidak terlihat karena tertutup oleh pelepah daun. Bentuk batang ramping tidak berumbi. Bentuk daun lanset atau bundar panjang berukuran 20-30cm dengan lebar antara 3-12 cm. Jumlah bunga bervariasi antara

3-25 kuntum bahkan lebih. Memiliki ciri khas, yaitu memiliki tiga sepal daun (*calyx*), tiga petal daun mahkota (*corolla*) dan gymnostenium (putik dan benang sari menyatu). Salah satu petal daun mahkota beradaptasi menjadi bentuk seperti lidah atau biasa disebut *labellum*. Selain itu *Phalaenopsis* sp. juga termasuk anggrek monopodial, yaitu mempunyai batang utama dengan pertumbuhan tidak terbatas. Tangkai bunga keluar diantara dua ketiak daun (Andiani, 2008).

Phalaenopsis sp. berbunga pada usia dewasa, sekitar 1,5 hingga 3 tahun (munculnya bunga pertama). Tangkai bunga tumbuh dari aksel daun, biasanya memiliki 3-6 nodus dengan *dormant bud* dan 3-25 atau lebih kuntum bunga. Perkembangbiakan *Phalaenopsis* sp. secara alami adalah menggunakan biji dan terkadang secara vegetatif, yaitu keiki yang tumbuh dari *dormant bud* di tangkai bunga. Siklus hidup *Phalaenopsis* sp. termasuk lama, yaitu sekitar 2 hingga 3 tahun baik secara generatif maupun vegetatif karena membutuhkan munculnya tangkai bunga dan bunga. Hal tersebut menjadi salah satu kendala dalam upaya memperoleh *Phalaenopsis* sp. hibrida (Roxana and Bala, 2012).

2.2 Teknik Kultur Jaringan

Teknik kultur jaringan berasal dari dua kata utama, yaitu kultur yang artinya budidaya dan jaringan yang artinya sekelompok sel yang mempunyai fungsi sama. Dengan demikian kultur jaringan dapat diartikan sebagai suatu teknik membudidayakan jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya. Kultur jaringan berdasarkan atas teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden, yaitu sel mempunyai kemampuan autonom, bahkan kemampuan totipotensi. Totipotensi merupakan kemampuan setiap sel tanaman yang apabila diletakkan pada media yang sesuai mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Andiani, 2008).

Kultur jaringan merupakan cara pembiakan vegetatif yang cepat dan secara genetik sifat-sifat tanaman anak yang dihasilkan akan sama atau identik dengan induknya. Kultur jaringan adalah suatu teknik untuk mengisolasi bagian suatu tanaman, kemudian menumbuhkannya pada media dalam kondisi aseptik di laboratorium sehingga bagian tanaman tersebut memperbanyak diri dan

beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap. Teknik ini juga dikenal sebagai perbanyakan *in vitro* karena bagian tanaman ditumbuhkan dalam tabung gelas atau plastik transparan. Teknik kultur jaringan perlu mendapatkan perhatian dalam hal komposisi media kultur dan zat pengatur tumbuh yang tepat serta sumber eksplan yang digunakan untuk menghasilkan plantlet di samping faktor lainnya, yaitu cahaya, suhu dan kelembaban (Fitri *et al.*, 2012).

Zulkarnain (2011), menyatakan bahwa manfaat utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan klon atau perbanyakan massal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Selain itu juga memiliki manfaat khusus, yaitu memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional dan produksi tanaman sepanjang tahun. Hal tersebut menjadi alasan pemilihan kultur jaringan sebagai upaya perbanyakan anggrek, khususnya *Phalaenopsis* sp. yang sulit diperbanyak secara vegetatif.

2.3 Multiplikasi Tunas secara Langsung

Winarto (2014), menyatakan bahwa perbanyakan tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan melalui metode pembentukan tunas aksilar yang dapat menggunakan tunas pucuk (kultur tunas atau meristem) dan tunas lateral (kultur nodus). Metode tersebut akan menghasilkan tanaman baru yang identik dengan induknya (*true-to-type*) dengan persentase sangat tinggi. Menurut Zulkarnain (2011), multiplikasi tunas secara langsung, yaitu teknologi kultur jaringan yang menumbuhkan tunas dari eksplan secara langsung tanpa melalui pembentukan kalus. Dengan demikian dapat memperoleh plantlet lebih cepat dibanding perbanyakan melalui tahapan kalus terlebih dahulu. Kosir *et al.* (2004) menyatakan bahwa regenerasi secara langsung tanpa pembentukan kalus terlebih dahulu mampu menurunkan potensi variasi somaklonal pada tanaman yang dihasilkan.

Kosir *et al.* (2004), menyatakan bahwa nodus tangkai bunga *Phalaenopsis* sp. telah terbukti lebih efisien dan lebih cepat memunculkan tunas dengan memanfaatkan *dormant bud* pada nodus. Sesuai dengan pendapat Chugh *et al.* (2009), bahwa teknik perbanyakan menggunakan *dormant bud* pada nodus bunga

anggrek terbukti memaksimalkan perbanyak *Phalaenopsis* sp. yang memiliki sifat monopodial dan umumnya sulit diperbanyak secara vegetatif. Selain itu George *et al.* (2008), menyatakan bahwa perbanyak tunas melalui kultur nodus memiliki kelebihan bebas virus karena planlet yang dihasilkan berasal dari meristem *dormant bud*.

Memacu pertumbuhan tunas lateral merupakan hal yang penting dalam kultur tunas, tetapi secara alami, tanaman memiliki sifat dominasi apikal, yaitu tunas apikal yang tumbuh memanjang sedangkan tunas-tunas lateral dihambat pertumbuhannya. Dominasi apikal ini penting untuk dihilangkan atau dikurangi agar tunas-tunas lateral dapat tumbuh, seperti dengan menambahkan sitokinin pada media untuk memacu pertumbuhan tunas lateral dan memotong bagian pucuknya (George *et al.*, 2008).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Keberhasilan kultur jaringan tidak hanya dipengaruhi oleh pemilihan eksplan yang paling tepat, tetapi juga dipengaruhi penggunaan kombinasi ZPT dan/atau komposisi nutrisi media yang paling tepat. ZPT terbagi dalam beberapa golongan, sitokinin dan auksin merupakan ZPT yang berperan penting dalam merangsang pertumbuhan tunas. Sitokinin terbagi menjadi substansi pertumbuhan dan pengatur pertumbuhan. Sitokinin menghasilkan berbagai efek bila diaplikasikan pada tanaman. Efek sitokinin yang paling nyata dapat dilihat pada kultur jaringan dimana sitokinin, sering digunakan bersama auksin, untuk merangsang pembelahan sel dan menentukan morfogenesis. Penambahan sitokinin pada media kultur tunas mampu mengatasi dominasi apikal dan mengaktifkan tunas lateral dari keadaan dorman (George *et al.*, 2008).

Zulkarnain (2011) menyatakan bahwa sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Peran auksin dan sitokinin sangat nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ. Pemberian sitokinin pada media kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa dalam

sitokinin dapat meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk dan morfogenesis pucuk. Sitokinin yang paling banyak digunakan adalah kinetin, benziladenin (BA atau BAP) dan zeatin.

Auksin adalah sekelompok senyawa yang dicirikan oleh kemampuannya dalam mendukung terjadinya perpanjangan sel (*cell elongation*) pada pucuk, dengan struktur kimia dicirikan oleh adanya *Indole Ring*. Auksin membantu dalam pembentukan perakaran dan meningkatkan pembentukan bunga. Diduga auksin bekerja mengontrol pembesaran sel dengan suatu pelepasan dinding sel sehingga menambah perluasan dinding sel. Auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah *indole-3-acetic acid* (IAA), *-naphthalenacetis acid* (-NAA) dan 2,4-D (Zulkarnain, 2011).

Salisbury dan Ross (1995), menyatakan bahwa pergerakan auksin pada batang, arahnya lebih sering basipetal (mencari dasar), tanpa menghiraukan dasar tersebut berada pada posisi normal atau terbalik. Selain itu, auksin juga bergerak secara akropetal (mencari apeks) yang biasanya terjadi pada pengangkutan auksin di akar. Geroge *et al.* (2008), menyatakan bahwa pergerakan polar auksin merupakan kekuatan yang memengaruhi dominasi apikal. Wilkins (1992), menyatakan bahwa jumlah auksin yang dibutuhkan untuk pemuluran batang lebih kecil daripada yang dibutuhkan untuk penghambatan tunas. Tunas-tunas lateral ditemukan tidak memproduksi auksin jika terkena hambatan, tetapi di tanaman yang telah dipotong mampu memproduksi auksin dalam jumlah banyak.

Novak *et al.* (2014), menyatakan bahwa auksin dan sitokinin bekerja secara antagonis dalam pembentukan tunas, tetapi penambahan sitokinin dan auksin dengan perbandingan konsentrasi yang sesuai mampu menumbuhkan tunas pada kultur nodus, biasanya sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Menurut Geroge *et al.* (2008), pembelahan sel diatur bersama oleh aktivitas dari auksin dan sitokinin, yang masing-masing mempengaruhi fase yang berbeda dari siklus sel. Auksin berpengaruh pada replikasi DNA, sedangkan sitokinin berperan mengontrol atas peristiwa mitosis. Divisi sel yang normal memerlukan sinkron antara fase sintesis dan pembelahan sel, menunjukkan bahwa tingkat auksin dan sitokinin dalam kultur sangat perlu diperhatikan kesesuaian konsentrasinya.

Setiap peningkatan BAP menunjukkan kecenderungan waktu lebih cepat pada kemunculan PLB, tunas dan daun pada media $\frac{1}{2}$ MS. Peningkatan konsentrasi BAP juga mengambil peran penting bagi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Semakin tinggi ketersediaan sitokinin akan memacu eksplan untuk lebih cepat tumbuh dan berkembang menjadi planlet (Fithriyandini *et al.*, 2015). Park *et al.* (2002) menyatakan bahwa nodus yang di kultur pada medium MS dengan penambahan BAP 2 ppm dan NAA 0,1 ppm mampu membentuk 10-13 plb. Kosir *et al.* (2004) menyatakan bahwa beberapa penelitian menunjukkan bahwa NAA menghambat induksi dan regenerasi, tetapi kombinasi antara NAA dan BAP mampu menstimulasi pertumbuhan tunas. Pada media yang diberi penambahan BAP 2 ppm dan NAA 0,5 ppm mampu menghasilkan 8,35 tunas/nodus. Sementara Roxana *and* Bala (2012) menyatakan bahwa nodus yang dikultur pada media MS dengan penambahan BAP 2 ppm dan NAA 1,5 ppm mampu menghasilkan 4-5 tunas sehat/nodus.

2.5 Hipotesis

1. Kombinasi konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.
2. Konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.
3. Konsentrasi *Naphtaleneacetic acid* (NAA) memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Waktu pelaksanaan bulan Maret hingga Desember tahun 2016.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat dan bahan yang umum digunakan dalam penelitian kultur jaringan. Bahan yang digunakan meliputi eksplan nodus anggrek *Phalaenopsis* sp., Murashige dan Skoog (MS) basal, aquades, alkohol 70%, spiritus, sukrosa, zat pengatur tumbuh (ZPT) *Benzylaminopurine* (BAP) dan *Naphtaleneacetic Acid* (NAA). Alat yang digunakan meliputi adalah botol kultur, *plastic wrap*, *petridish*, *scalpel*, pinset, *handsprayer*, gelas ukur, *beaker glass*, pipet, spatula, timbangan, *stirer*, oven, autoklaf dan *laminair air flow* (LAF).

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dan diulang sebanyak 3 kali. Adapun perlakuan dari masing-masing faktor adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi *Benzylaminopurine* (BAP) terdiri atas 4 taraf, yaitu:
 - B1 : Konsentrasi 0 ppm
 - B2 : Konsentrasi 1 ppm
 - B3 : Konsentrasi 2 ppm
 - B4 : Konsentrasi 3 ppm
2. Konsentrasi *Naphtaleticacid* (NAA) terdiri atas 3 taraf, yaitu:
 - N1 : Konsentrasi 0 ppm
 - N2 : Konsentrasi 0,5 ppm
 - N3 : Konsentrasi 1 ppm

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA).

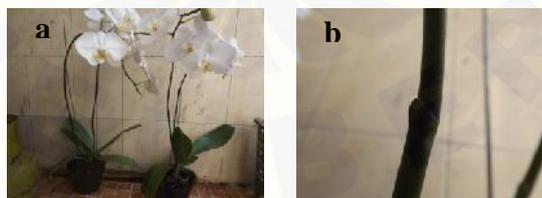
3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Persiapan Media dan Suplemen

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS basal (lampiran 1). Media pematat yang digunakan adalah agar sebanyak 8g/l. Media MS dibuat di dalam *beaker glass* yang ditambahkan sukrosa 30g/l dan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Keasamaan medium diatur sesuai anjuran batas pH, yaitu pada 5,8-6,2 dengan menggunakan pH meter. Media ditambahkan agar kemudian dididihkan dan dituang ke dalam botol kultur. Media yang telah berada di dalam botol kultur diberi label sesuai dengan perlakuan kemudian di sterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 17,5 psi selama 30 menit. Media dalam botol kultur yang telah disterilisasi didiamkan selama 3 hari untuk melihat adanya kontaminasi atau tidak. Media yang tidak terkontaminasi siap digunakan sebagai media tanam eksplan anggrek *Phalaenopsis* sp.

3.4.2 Persiapan Eksplan

Tanaman *Phalaenopsis* sp. yang digunakan diperoleh dari *nursery* POLTEK Jember dengan kriteria tanaman dalam fase berbunga awal, berusia 2 tahun dengan 3 atau lebih bunga telah membuka. *Phalaenopsis* sp. yang digunakan sebagai eksplan adalah *Phalaenopsis* sp. yang bunganya berwarna putih dengan lidah berwarna kuning (Gambar 3.1). Tangkai bunga yang digunakan adalah tangkai bunga dengan ruas berkisar 5 ruas.



Gambar 3.1 Bahan tanam yang digunakan, a) Tanaman *Phalaenopsis* sp.; b) Nodus yang digunakan

Sterilisasi dilakukan di luar dan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*) untuk meminimalisasi terjadinya kontaminasi yang terbawa eksplan. Tangkai bunga dipotong 3 cm dari pangkal tangkai dan dicuci dengan deterjen/tween-20, kemudian dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Tangkai bunga disemprot

alkohol 70% kemudian diusap dengan tisu hingga kering saat sebelum dan setelah dicuci deterjen.

Eksplan dibawa ke LAF untuk sterilisasi tahap selanjutnya. Eksplan berupa potongan nodus yang dipotong 1-2 cm di bagian bawah dan atas *dormant bud*. Eksplan digojog dalam larutan Na-hipoklorit 1,05% dengan cara mengambil bayclin sebanyak 25 ml ditambah aquades hingga 100 ml yang ditambahkan 7 tetes tween-20 selama 3 menit. Setelah penggojogan seludang nodus yang menutupi *dormant bud* dibuang. Eksplan digojog alkohol 70% selama 50 detik. Eksplan digojog dalam larutan Na-hipoklorit 1,05% selama 3 menit, diulang sebanyak 2 kali. Eksplan digojog dengan aquades steril hingga bersih selama 1 menit tiap selesai digojog dengan Na-hipoklorit 1,05%. Eksplan dipotong lebih kecil sekitar 0,5-1 cm di bagian bawah dan atas *dormant bud* untuk menghilangkan bagian yang kontak langsung dengan bahan sterilisasi dengan bagian bawah dipotong miring guna memudahkan saat menanam. Eksplan digojog alkohol 70% selama 30 deik. Eksplan direndam dalam larutan air steril yang telah ditetesi iodine pekat selama 3 menit. Eksplan selanjutnya ditiriskan dalam petri steril yang berisi tisu steril.

3.4.3 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF secara aseptik. Nodus yang digunakan telah disterilisasi terlebih dahulu pada persiapan eksplan. Eksplan nodus anggrek *Phalaenopsis* sp. dipotong tepat pada bagian nodus dengan mata tunas dorman di dalam LAF. Menanam satu eksplan ke dalam satu media tanam sesuai perlakuan dan sejumlah ulangan yang ada. Penanaman dilakukan dengan menyesuaikan orientasi nodus, yaitu nodus bagian bawah tetap ditanam ke arah bawah, pun sebaliknya. Ada 9 perlakuan dan 3 ulangan sehingga dibutuhkan 27 eksplan nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.

3.4.4 Pemeliharaan

Memelihara tunas yang telah ditanam dalam botol kultur dengan ditempatkan pada rak kultur dalam ruangan dengan suhu 18°-21° C, dan intensitas cahaya 1500-1600 lux. Ruangan dimanipulasi dengan cara menggunakan AC dan

cahaya lampu neon. Menyemprot botol kultur dengan alkohol 70% untuk meminimalisasi terjadinya kontaminasi. Melakukan subkultur setiap 4-5 minggu sekali agar nutrisi yang dibutuhkan eksplan tetap tersedia serta meminimalisasi terjadinya *browning* akibat fenol yang dikeluarkan oleh eksplan.

3.4.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dalam penelitian ini meliputi:

1. Waktu terbentuknya tunas

Pengamatan waktu terbentuknya tunas dihitung apabila eksplan sudah membentuk tunas yang memiliki satu atau dua calon daun dengan lamina yang jelas (Wijayani *et al.*, 2007).

2. Formasi regenerasi tunas yang tumbuh

Formasi regenerasi tunas yang tumbuh dari nodus dibedakan menjadi regenerasi vegetatif dan regenerasi generatif yang dilakukan sejak tunas pertama tumbuh.

3. Jumlah tunas

Jumlah tunas yang terbentuk dihitung pada akhir pengamatan, yaitu pada 98 hari setelah tanam (HST).

4. Jumlah daun

Menghitung daun yang membuka sempurna pada akhir pengamatan, yaitu pada 98 hari setelah tanam (HST).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kombinasi perlakuan konsentrasi BAP 2 mg/L dan NAA 0,5 mg/L (B2N1) membentuk tunas cenderung lebih cepat.
2. Konsentrasi BAP 1 mg/L (B1N0), membentuk tunas cenderung lebih banyak.
3. Konsentrasi NAA cenderung tidak memengaruhi multiplikasi tunas secara langsung pada nodus anggrek *Phalaenopsis* sp.

5.2 Saran

1. Sebaiknya melakukan pemotongan nodus anggrek *Phalaenopsis* sp. tidak terlalu panjang dari *dormant bud* agar bagian atas eksplan tidak *browning*.
2. Ekplan nodus dari lapang memiliki tingkat kontaminasi lebih besar sehingga membutuhkan ketelitian dalam pemilihan eksplan dan metode sterilisasi untuk meminimalisasi terjadinya kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andiani, Y. 2008. *Usaha Pembibitan Anggrek dalam Botol (Teknik In Vitro)*. Yogyakarta : Pustaka Baru Press.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta : Departemen Pertanian.
- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Hortikultura. 2016. Produksi Anggrek Menurut Provinsi, Tahun 2011-2015. www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti. Diakses pada 17 Januari 2017.
- Balilashaki, K., R. Naderi, S. Kalantari and A. Soorni. 2014^a. Micropropagation of *Phalaenopsis amabilis* cv. Cool 'Breeze' with Using of Flower Stalk Nodes and Leaves of Sterile Obtained from Node Culture. *Farming and Allied Sciences*, 3 (7) : 823-829.
- Balilashaki, K., R. Naderi, S. Kalantari and M. Vahendi. 2014^b. Efficient In Vitro Culture Protocols for Propagating *Phalaenopsis* 'Cool Breeze'. *Plant Tissue Cult. & Biotech*, 24 (2) : 191-203
- Balilashaki, K., M. Vahedi and R. Karimi. 2015. In Vitro Direct Reperation from Node and Leaf Explants of *Phalaenopsis* cv. 'Surabaya'. *Plant Tissue Cult. & Biotech*, 25 (2) : 193-205.
- Chugh, S., S. Guha and I.U. Rao. 2009. Micropropagation of Orchids : A Review on the Potential of Differet Explants. *Scientia Horticulture*, 122 : 507-520.
- Fithriyandini, A., M.D. Maghfoer dan T. Wardiyati. 2015. Pengaruh Media Dasar dan 6-Benzylaminopurine (BAP) terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Nodus Tangkai Bunga Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*). *Produksi Tanaman*, 3 (1) : 43 – 49.
- Fitri, M. S., Z. Thomy, and E. Harnelly. 2012. In Vitro Effect of Combined Indole Butyric Acid (IBA) and Benzil Amino Purine (BAP) on the Planlet Growth of *Jatropha curcas* L. *Natural Budidaya*, 12 (1) : 27-30.
- GBIF Backbone Taxonomy. 2017. Taxonomy Details for *Phalaenopsis amabilis*. <http://arctos.database.museum/m/name/Phalaenopsis%20amabilis>. Diakses pada 17 Januari 2017.
- George, E.F., M.A. Hall and G.J. Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Dordrecht : Springer.

- Hilman, Y., M.P. Yufdy dan S. Rianaati. 2012. Kebijakan Penelitian dan Pengembangan Anggrek Mendukung Peningkatan Ekspor. *Prosiding Seminar Nasional Anggrek 2012*.
- Kosir, P., S. Skof and Z. Luthar. 2004. Direct Shoot Regeneration From Nodes of *Phalaenopsis* Orchids. *Acta Agriculture Slovenia*, 82 (2) : 232 – 242.
- Novak, S.D., L.J. Luna and R.N. Gamage. 2014. Role of Auxin in Orchid Development. *Plant Signaling & Behavior*, 9 (10) : 1-8.
- Park, S.Y., Murthy, H.N. and Paek, K.Y. 2002. Rapid Propagation of *Phalaenopsis* from Floral Stalk-Derived Leaves. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant*, 38 : 168–172.
- Petrasek, J. and J. Friml. 2009. Auxin Transport Routes in Plant Development. *Development*, 136.
- Roxana, D. and Bala, M. 2012. Preliminary Results on Influence of Growth Hormones on the In Vitro Regeneration of *Phalaenopsis* Flower Stalks. *Hort. For. Biotech.*, 16 (4) : 24-27.
- Salisbury, F. B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. Diterjemahkan oleh : D.R. Lukman dan Sumaryono. Bandung : Penerbit ITB.
- Semiarti, E., A. Purwanto, and A. Indrianto. 2014. In Vitro Culture of Orchids: the Roles of Clas-1 *KNOX* Gene in Shoot Development. *Biological Researches*, 20 : 18-27.
- Wijayani, Y., Solichatun dan W. Musyantini. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm Like Body* Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*, 4 (2) : 33-40.
- Wilkins, M.B. 1992. *Fisiologi Tanaman*. Diterjemahkan oleh: M.M. Sutejo dan A.G. Kartasapoetra. Jakarta : Bumi Aksara.
- Winarto, B. 2014. *Seri Teknologi Perbanyakan Tanaman Hias Secara In Vitro*. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura.
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta : Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi MS (Murashige dan Skoog)

Komposisi media MS dapat dilihat sebagai berikut :

Stok	Senyawa	Per liter stok	Pemakaian	
			Stok	Per liter medium
A	NH ₄ NO ₃	82,5 g	20 ml	1.650 mg
B	KNO ₃	95 g	20 ml	1.900 mg
C	KH ₂ PO ₄	34 g	5 ml	170 mg
	H ₃ BO ₃	1,24 g		6,2 mg
	KI	0,166 g		0,83 mg
	Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,05 g		0,25 mg
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,005 g		0,025 mg
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88 g	5 ml	440 mg
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74 g	5 ml	370 mg
	MnSO ₄ .4H ₂ O	4,46 g		22,3 mg
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,72 g		8,6 mg
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005 g		0,025 mg
F	Na ₂ .EDTA	7,46 g	5 ml	37,3 mg
	FeSO ₄ .7H ₂ O	5,56 g		27,8 mg
	<i>Myo</i> -inositol	10 g	10 ml	100 mg
	Glisin	0,2 g		2 mg
	Niasin	0,05 g		0,5 mg
	Piridoksin-HCl	0,05 g		0,5 mg
	Tiamin-HCl	0,01 g		0,1 mg
	Sukrosa			30 g
	Agar			8 g

Sumber : Zulkarnain (2011)

Lampiran 2. ANOVA Waktu Terbentuknya Tunas

Variabel : Waktu terbentuknya tunas

Perlakuan	1	2	3	Rata-Rata
B0N0	100	100	100	100
B0N1	100	100	100	100
B0N2	100	100	100	100
B1N0	69	100	69	79
B1N1	68	100	100	89
B1N2	100	77	100	92
B2N0	74	100	63	79
B2N1	100	42	57	66
B2N2	61	48	100	70
Total	285	167	189	

Anova

SK	db	JK	KT	F-	F-tabel		
				hitung	5%	F-tabel 1%	
perlakuan	8	4157.33	519.67	1.65	2.51	3.71	ns
B	2	3620.67	1810.33	5.74	3.55	6.01	*
N	2	20.22	10.11	0.03	3.55	6.01	ns
BXN	4	516.44	129.11	0.41	2.93	4.58	ns
Galat	18	5675.33	315.30				
Total	26	9832.67					

cv 20.59%

Uji Lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ)

q (5%:18;3)	3.61				
sd (p3)	8.37				
BNJ	30.21				
		B0	B1	B2	
Perlakuan		100	87	71.67	notasi
B0	100	0			a
B1	87	13	0		a
B2	71.67	28.33	15.33	0	a

Lampiran 3. Formasi Regenerasi Tunas yang Tumbuh dan ANOVA Jumlah Tunas

Variabel : Formasi regenerasi tunas yang tumbuh

Perlakuan	Regenerasi vegetatif	Regenerasi generatif	<i>Protocorm like bodies (PLB)</i>
B0N0	0	0	0
B0N1	0	0	0
B0N2	0	0	0
B1N0	14	0	5
B1N1	2	0	5
B1N2	1	0	3
B2N0	7	0	8
B2N1	3	0	2
B2N2	9	0	0
Total	36	0	23

Lampiran 4. ANOVA Jumlah Tunas

Variabel : Jumlah tunas

Perlakuan	1	2	3	Total	Rata-Rata
B0N0	0	0	0	0	0
B0N1	0	0	0	0	0
B0N2	0	0	0	0	0
B1N0	8	0	6	14	4,67
B1N1	2	0	0	2	0,67
B1N2	0	1	0	1	0,33
B2N0	3	0	4	7	2,33
B2N1	0	2	1	3	1
B2N2	7	2	0	9	3
Total	19	5	12	36	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel 5%	F-tabel 1%	
perlakuan	8	63.63	7.95	1.87	2.51	3.71	ns
B	2	25.41	12.70	2.98	3.55	6.01	ns
N	2	14.52	7.26	1.70	3.55	6.01	ns
BXN	4	23.70	5.93	1.39	2.93	4.58	ns
Galat	18	76.67	4.26				
Total	26	140.30					

cv 150.60%

Transformasi ANOVA

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel 5%	F-tabel 1%	
perlakuan	8	5.70	0.71	0.17	2.51	3.71	ns
B	2	3.04	1.52	0.36	3.55	6.01	ns
N	2	1.09	0.55	0.13	3.55	6.01	ns
BXN	4	1.57	0.39	0.09	2.93	4.58	ns
Galat	18	7.42	0.41				
Total	26	13.13					

cv 54.58%

Lampiran 5. ANOVA Jumlah Daun

Variabel : Jumlah daun

Perlakuan	1	2	3	Total	Rata-Rata
B0N0	0	0	0	0	0
B0N1	0	0	0	0	0
B0N2	0	0	0	0	0
B1N0	8	0	6	14	4,67
B1N1	3	0	0	3	1
B1N2	0	4	0	4	1,33
B2N0	3	0	8	11	3,67
B2N1	0	4	3	7	2,33
B2N2	22	3	0	25	8,33
Total	36	11	17	64	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel 5%	F-tabel 1%	
perlakuan	8	189.33	23.67	1.14	2.51	3.71	ns
B	2	102.89	51.44	2.48	3.55	6.01	ns
N	2	20.67	10.33	0.50	3.55	6.01	ns
BXN	4	65.78	16.44	0.79	2.93	4.58	ns
Galat	18	372.67	20.70				
Total	26	562					

cv 195%

Tranformasi ANOVA

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel 5%	F-tabel 1%	
perlakuan	8	10.01	1.25	0.06	2.51	3.71	ns
B	2	6.95	3.48	0.17	3.55	6.01	ns
N	2	0.80	0.40	0.02	3.55	6.01	ns
BXN	4	2.26	0.56	0.03	2.93	4.58	ns
Galat	18	16.82	0.93				
Total	26	26.83					

cv 71.27%