



Pengaruh pemberian variasi konsentrasi NAA (α -naphthaleneacetic acid) dan 2,4 D terhadap induksi *protocorm like bodies* (PLB) anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.))

DEA SYLVA LISNANDAR, WIDYA MUDYANTINI,
ARI PITOYO

Alamat korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA,
Universitas Sebelas Maret
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 53122
Tel. & Fax.: +62-271-663375
e-mail: aripit@yahoo.co.id

Manuskrip diterima: 11 Oktober 2012.
Revisi disetujui: 3 November 2012.

Lisnandar DS, Mudyantini W, Pitoyo A. 2012. Effect of concentration variations of 2,4D and NAA (a-naphthalene acetic acid) against tiger orchid (Grammatophyllum scriptum (Lindl.)) induction Protocorm Likes Bodies (PLB). Bioteknologi 9: 66-72. The research was aimed to evaluate the effect of concentration variation of 2,4-D and NAA (a-naphthalene acetic acid) on the Protocorm Like Bodies (PLB) growth of Grammatophyllum scriptum. The experimental design in this research was completely randomized design with two factors, namely concentration of 2,4-D (0.5 mg/L and 1.0 mg/L) and concentration of NAA (0.5 mg/L and 1.0 mg/L) with four replications. The quality of PLB was measured base on shoot and root length. The results showed that treatment had no effect on PLB growth of G. scriptum.

Keywords: 2,4-D, NAA, *Grammatophyllum scriptum*, *Protocorm Like Bodies*, PLB.

Lisnandar DS, Mudyantini W, Pitoyo A. 2012. Pengaruh pemberian variasi konsentrasi NAA (a-naphthaleneacetic acid) dan 2,4 D terhadap induksi protocorm like bodies (PLB) anggrek macan (Grammatophyllum scriptum (Lindl.)). Bioteknologi 9: 66-72. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi 2,4-D dan NAA (asam a-naftalena asetat) pada pertumbuhan Protocorm Like Bodies (PLB) Grammatophyllum scriptum. Rancangan percobaan dalam penelitian ini rancangan acak lengkap dengan dua faktor, yaitu konsentrasi 2,4-D (0,5 mg/L dan 1,0 mg/L) dan konsentrasi NAA (0,5 mg/L dan 1,0 mg/L) dengan empat ulangan. Kualitas PLB diukur berdasarkan tunas dan panjang akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh pada pertumbuhan PLB dari G. scriptum.

Kata kunci: 2,4-D, NAA, *Grammatophyllum scriptum*, *Protocorm Like Bodies*, PLB.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang luar biasa, salah satunya adalah anggrek. Salah satu contoh anggrek yang sangat berharga dan memiliki potensi ekonomi adalah *Grammatophyllum scriptum*. Anggrek tersebut merupakan anggrek epifit berukuran besar yang memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi karena tanamannya yang indah. Anggrek ini menghadapi ancaman serius dari perburuan tak terkendali dan kerusakan habitat sedangkan perkembangbiakan alami anggrek ini sangat lambat, hal ini yang menyebabkan anggrek *G. scriptum* menjasi anggrek yang langka. Kelangkaan anggrek *G. scriptum* ini dapat diatasi

dengan dibudidayakan melalui teknik kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman dan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, dengan demikian bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan 1988).

Kultur jaringan memiliki beberapa kegunaan diantaranya adalah untuk mendapatkan tanaman baru dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat, yang memiliki sifat fisiologi dan morfologi sama persis dengan tanaman induknya. Penggunaan zat pengatur tumbuh yang sesuai akan membantu dalam hasil dari kultur jaringan tersebut. Zat pengatur tumbuh didefinisikan sebagai senyawa organik

bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil (6 - 10 mM) yang disintesis pada bagian tertentu dari tanaman dan pada umumnya diangkut ke bagian lain dari tanaman zat tersebut menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis, dan morfologis (Wattimena 1988). Zat pengatur tumbuh yang dihasilkan oleh tanaman disebut fitohormon sedangkan yang sintetik disebut zat pengatur tumbuh tanaman sintetik. Penggunaan kombinasi antara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (*Benzyl Adenin* ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus. Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Syahid dan Kristina 2007).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat MIPA dan Laboratorium Jurusan Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan Februari-Juli 2011.

Sterilisasi alat

Alat yang digunakan dalam penelitian berupa botol kultur, pinset, *scalpel*, cawan petri, dan pisau. Alat dicuci menggunakan sabun sampai bersih lalu dikeringkan. Setelah itu alat diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1.5 atm selama 20 menit.

Pembuatan media dasar

Pembuatan media dilakukan dengan cara mencampurkan serbuk media MS sebanyak 4,43 g ke dalam aquades kemudian ditambahkan gula atau sukrosa 40 g diencerkan dengan aquades.

Pembuatan stok hormon

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan dalam pembuatan media. Larutan stok yang dibuat adalah larutan stok zat pengatur tumbuh. Hormon 2,4-D dibuat dengan konsentrasi 6 ppm, serbuk hormon 2,4-D ditimbang terlebih dahulu sebanyak 6 mg dan dilarutkan dalam alkohol, yang kemudian diencerkan dalam aquades sebanyak 1 liter. Stok hormon NAA dibuat dengan konsentrasi 4 ppm, hormon NAA ditimbang sebanyak 4 mg dan dilarutkan dalam alkohol (beberapa tetes saja) dan diencerkan dengan aquades hingga volume mencapai 1 liter. Stok hormon kinetin dibuat dengan konsentrasi 5 ppm, hormone NAA ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam

alkohol (beberapa tetes saja) dan diencerkan dengan aquades hingga volume mencapai 1 liter. Kemudian ditempatkan pada botol stok dan disimpan dalam lemari es. Pembuatan stok hormon ini ditujukan untuk mempermudah saat pembuatan media.

Pembuatan media perlakuan

Media perlakuan adalah media dasar ditambah zat pengatur tumbuh (ZPT) sebanyak 0,5 ppm dan 1 ppm. Selanjutnya media ditambahkan aquades sampai 1 liter, lalu diukur pH hingga 5,8 dan ditambahkan agar-agar 8,5 g. Larutan kemudian dimasak sampai mendidih, dimasukkan dalam botol kultur kurang lebih setinggi 1 cm, lalu disterilisasi dengan autoklaf dan didinginkan.

Sterilisasi eksplan

Eksplan yang akan ditanam disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70%.

Penanaman

Tangan dicuci dengan alkohol 70% di luar *Laminair Air Flow Cabinet* (LAFC). Meja dan dinding LAFC dibersihkan dengan tisu dan alkohol 70%. Alat-alat seperti pinset, skalpel, gunting yang diperlukan dalam kultur dicelupkan dalam alkohol 70% dan dibakar dengan api bunsen. Setelah itu alat diletakkan di atas tutup kotak *stainless steel* dan dibiarkan dingin. Anggota tubuh yang masuk dalam LAFC disemprot dengan alkohol 70%. Planlet yang ditanam dalam media kultur, diambil dengan menggunakan pinset dan ditanam dalam media perlakuan serta diamati setiap 3 hari selama 8 minggu.

Penanaman eksplan pada media perlakuan

Penanaman eksplan dilakukan secara aseptis di dalam LAFC. Pertama tangan dicuci dengan alkohol 70% di luar LAFC. Meja dan dinding LAFC dibersihkan dengan menggunakan tisu dan alkohol 70%. Alat-alat seperti pinset, skalpel, gunting yang diperlukan dalam kultur dicelupkan dalam alkohol 96% dan dibakar dengan api bunsen. Setelah itu alat diletakkan di atas tutup kotak *stainless steel* dan dibiarkan dingin. Anggota tubuh yang masuk dalam LAFC disemprot dengan alkohol 70%. Planlet yang ditanam dalam media kultur, diambil dengan menggunakan pinset dan ditanam dalam media perlakuan dan ditutup kembali dengan aluminium foil.

Pemeliharaan dan pemanenan

Eksplan yang telah ditanam dalam botol kultur kemudian disimpan dalam ruang inkubasi khusus kultur jaringan yang telah steril dan dilengkapi rak kultur serta *Air Conditioner* (AC). Pengamatan dilakukan 3 hari sekali selama 8 minggu, selama 8 minggu kondisi aseptis eksplan harus dijaga dengan cara menyemprotkan alkohol 70% pada botol-botol yang telah berisi eksplan. Penyemprotan ini bertujuan untuk meminimalkan adanya kontaminasi dari luar botol. Selama 8 minggu tersebut perubahan yang terjadi dicatat dengan melihat kenampakan morfologi. Setelah 8 minggu eksplan yang ditanam akan tumbuh menjadi *Protocorm Like Bodies* (PLB) dan eksplan tersebut siap dipanen.

Pembuatan preparat anatomi

Setelah 8 minggu *protocorm* yang terbentuk diamati anatominya dengan terlebih dahulu dibuat preparat anatominya dengan cara *embedding section* dengan cara sebagai berikut: *Protocorm* direndam kedalam larutan FAA selama 24 jam. Kemudian dilakukan pencucian dan dehidrasi dengan larutan alkohol : 70%, 80%, 95%, 100% (1), 100% (2), xylol : alkohol (3:1), xylol : alkohol (1:1), xylol : alkohol (1:3), xylol 1, xylol 2; masing-masing 30 menit. Selanjutnya direndam kedalam campuran paraffin : xylol (9:1) selama 24 jam dengan suhu 57°C. Kemudian dimasukkan kedalam paraffin murni selama 24 jam dengan suhu 57°C, setelah 24 jam diganti dengan paraffin yang baru. Kemudian dibuat blok, setelah itu dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom, dengan ukuran $\pm 12 \mu\text{m}$. Pita paraffin yang telah terpotong kemudian dilekatkan pada gelas objek menggunakan campuran gliserin/albumin 1/1 dan di tetesi aquades. Untuk pewarnaan, gelas objek yang berisi preparat dicelupkan kedalam xylol 1 dan 2 selama 3 menit, kemudian campuran alkohol/xylol (1:3, 1:1, 3:1). Kemudian direndam kedalam alkohol absolut 1 dan 2, alkohol 95%, 80%, 60%, 40%, 20% dan aquades selama 3 menit. Diwarnai dengan safranin selama 2 jam, kemudian dicuci dengan aquades. Direndam kembali kedalam alkohol 20%, 40%, 60%, 80%, 95%, alkohol absolut 1 dan 2 masing-masing selama 3 menit. Direndam kembali pada larutan alkohol/ xylol (3:1, 1:1, 1:3, dilanjutkan xylol 1 dan 2 selama 3 menit. Kemudian dilakukan penutupan dengan canada balsam dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga tidak ada air dalam preparat. Terakhir dilakukan pengamatan di bawah mikroskop.

Analisis data

Data kualitatif dianalisis dengan mengamati anatomi dari tunas yang terbentuk, morfologi akar dan tunas tumbuh. Data kuantitatif diperoleh dengan mengukur panjang tunas dan panjang akar. Data kuantitatif kemudian di analisis dengan uji ANAVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Organogenesis melalui *Protocorm Like Bodies* (PLB)

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hipokotil dari *G. scriptum* yang ditumbuhkan secara aseptik. Media yang digunakan adalah median *Murashige-Skoog* (MS), media ini digunakan karena merupakan media yang umum digunakan dalam kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media tersebut berupa auksin dengan jenis 2,4-*dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan NAA, sementara hormon sitokinin yang digunakan adalah kinetin. Pada minggu pertama terbentuk tonjolan yang berwarna hijau dengan bentuk bulat di tengah eksplan. Tonjolan tersebut kemungkinan terbentuk karena luka di tengah eksplan yang mengalami regenerasi menjadi jaringan baru.

Tonjolan hijau tersebut merupakan hasil dari organogenesis yang merupakan massa sel yang belum tedeferensiasi menjadi organ yang lengkap. Massa sel tersebut semakin terlihat jelas setelah minggu ke-8. Massa sel tersebut menyerupai umbi, warna hijau pada massa sel tersebut terjadi karena massa sel telah mampu melakukan proses fotosintesis.

Sifat morfologi

Dari penampakan morfologi (Gambar 1) terlihat bahwa massa sel yang terbentuk dari eksplan *G. scriptum* terlihat seperti struktur umbi, dengan bentuk yang bulat massa sel tersebut juga belum terdeferensiasi menjadi bagian-bagian yang kompleks. Menurut Chang et al. (2005), massa sel yang memiliki bentuk bulat atau elips dengan beberapa rambut uniseluler pada bagian basal apeks dan pada ujungnya disebut *Protocorm Like Bodies* (PLB). Pada gambar di atas ciri-ciri yang dimiliki oleh massa sel tersebut memiliki kesamaan dengan ciri-ciri dari PLB. Menurut Arditti dan Ernst (1993) PLB adalah massa sel yang menyerupai *protocorm*, sedangkan *protocorm* adalah suatu struktur yang merupakan perkembangan dari perkecambahan biji pada anggrek, *protocorm* memiliki hypocotyl seperti struktur yang

terdapat pada bennih tanaman angiospermae (Cribb 1999).

Sifat anatomi

Pada semua media, eksplan yang ditanam berdeferensiasi menjadi massa sel yang berupa tonjolan bulat. Pada Gambar 2, terlihat bahwa bagian selnya telah menjadi struktur yang kompleks. Pada sayatan tersebut (Gambar 2a) telah terlihat adanya berkas pengangkut dan bagian sel yang akan terdeferensiasi. Pada gambar pula dapat terlihat tersebut terlihat adanya berkas pengangkut yang akan berfungsi mendistribusikan hasil metabolisme. Pada Gambar 2c dengan perbesaran yang lebih kuat (400X) terlihat bahwa adanya bagian sel yang merupakan inisiasi terbentuknya tunas. Bagian tersebut dikatakan sebagai tempat inisiasi karena bagian selnya yang menumpuk dan inti selnya yang masih terlihat jelas. Pada bagian ini pula terlihat bahwa sel-selnya terlihat lebih rapat daripada bagian di sekelilingnya. Bagian inilah yang akan menjadi titik awal deferensiasi organ.

Pada gambar 2c terlihat adanya kristal ca-oksalat. Ca-oksalat ini merupakan penimbunan kristal yang merupakan metabolit sekunder dari tanaman tersebut. Pada penelitian ini terlihat ca-oksalat dengan bentuk jarum.

Berdasarkan penjelasan-penjelasan di atas tentang pengamatan morfologi dan anatomi massa sel yang terbentuk pada eksplan *G.scriptum*, massa sel tersebut merupakan PLB. *Protocorm Like Bodies* (PLB) adalah massa sel yang menyerupai *protocorm*. PLB merupakan bagian vegetatif dari sejumlah anggrek di dalam kultur yang membentuk struktur yang menyerupai

protocorm berbentuk bulat dan mengkilap, yang dapat diperbanyak secara tak terbatas atau dapat diinduksi untuk meregenerasikan tanaman lengkap (Zulkarnain 2009).

Persentase pembentukan *Protocorm Like Bodies* (PLB)

Pada kultur jaringan interaksi antara hormon dan eksplan akan menghasilkan akar atau tunas tergantung pada komposisi hormon yang digunakan. Tunas akan tumbuh apabila konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin dan sebaliknya apabila auksin lebih tinggi konsentrasinya maka yang tumbuh adalah tunas. Pada media MS1 PLB yang tumbuh sebesar 75%, pada MS2 PLB yang tumbuh sebanyak 100%. Pada media MS3 dan MS4 *protocorm* tumbuh sebanyak 100%. Pada media MS0 hanya terbentuk PLB 100%.

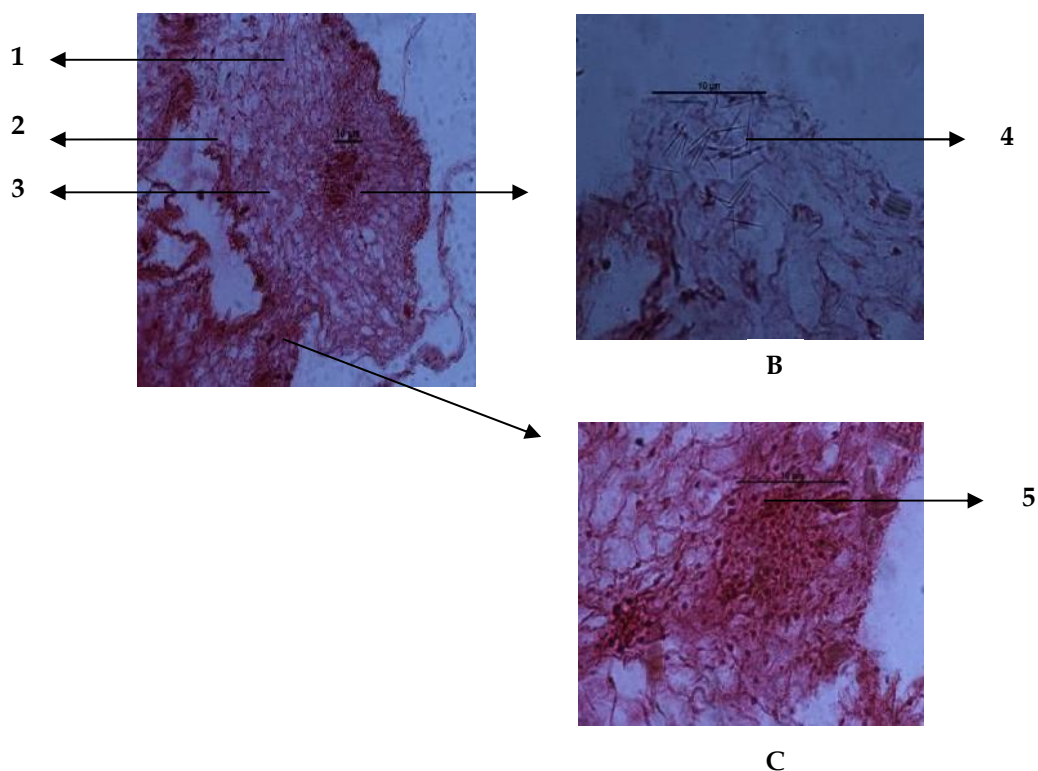
Tabel 1. Persentase *Protocorm Like Bodies* anggrek *G. scriptum* yang terbentuk setelah umur 8 minggu.

Jenis media	MS0	MS1	MS2	MS3	MS4
Persentase (%)	100	100	75	100	100

Dari hasil persentase PLB tumbuh pada media, terlihat bahwa media MS0, media 2,4-D 0,5 mg/L, NAA 0,5 mg/L dan NAA 1 mg/L paling banyak dalam menginduksi PLB. Hal ini dapat disebabkan karena adanya hormon endogen yang berupa sitokinin yang menginduksi tumbuhnya PLB.



Gambar 1. *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *G.scriptum* yang terbentuk. (a). Pada media MS0 dengan umur 8 minggu. (b). Pada media MS1 dengan umur 8 minggu. (c). Pada media MS2 dengan umur 8 minggu. (d). Akar anggrek *G.scriptum* pada media MS2 dengan umur 8 minggu. (e). Pada media MS3 dengan umur 8 minggu. (f). Pada media MS4 dengan umur 8 minggu. Garis = 0,5 cm.



Gambar 2. Potongan membujur *Protocorm Like Bodies* anggrek *G. Scriptum* pada umur 8 minggu. A. Potongan membujur *Protocorm Like Bodies* anggrek *G. Scriptum* pada perbesaran 100X. B. Bagian sel *protocorm* tempat inisiasi tunas pada umur 8 minggu dengan perbesaran 400X. C. Potongan membujur *protocorm* anggrek *G.scriptum* pada umur 8 minggu dengan perbesaran 400X. Keterangan: 1. Korteks, 2. Epidermis, 3. Berkas pengangkut, 4. Ca-Oksalat bentuk jarum, 5. Bagian inisiasi tunas

Panjang *Protocorm Like Bodies* (PLB)

Penelitian ini terdapat eksplan yang tumbuh menjadi PLB. Pada eksplan anggrek *G. scriptum* tersebut tidak terjadi proses embriogenesis melalui tahapan kalus, namun langsung terjadi organogenesis. Perkembangan PLB pada biji diawali dengan perubahan warna, biji membengkak, bentuk bulat, dan PLB sebelum berdeferensiasi menjadi organ, dan selanjutnya membentuk PLB dengan inisiasi daun (Abbas et al. 2011).

Tabel 2. Rata-rata panjang *protocorm like bodies* anggrek *G. scriptum* pada umur 8 minggu.

Jenis media	MS0	MS1	MS2	MS3	MS4
Panjang tunas (um)	0,775	0,875	0,700	0,525	0,625

Berdasarkan data tersebut, terlihat bahwa media MS1 (2.4 D 0.5mg/L) merupakan media

yang mempunyai rata-rata panjang PLB paling tinggi dibandingkan media yang lain. Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa media MS1 merupakan media yang paling baik dalam pertumbuhan protocorm anggrek *G. scriptum*. Data tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh jenis media terhadap panjang PLB. Berdasarkan hasil uji ANAVA menunjukkan hasil yang tidak beda nyata, dari hasil ini berarti jenis hormon yang digunakan tidak mempengaruhi panjang PLB *G. scriptum*.

Pertumbuhan akar

Pada media MS0 sama sekali tidak ditemukan akar yang tumbuh karena pada media ini tidak ditambahkan hormon auksin. Pada media MS2 akar yang muncul sebanyak 25%. Pada media MS1, MS3 dan MS4 tidak ada akar yang terbentuk karena pada PLB proses deferensiasinya belum sempurna sama halnya yang terjadi pada media MS0. Dari hasil panjang akar yang muncul pada media perlakuan terlihat

bahwa media MS2 adalah media yang paling baik dalam menginduksi akar pada eksplan anggrek *G. scriptum*. Media MS2 merupakan media yang menggunakan hormon 2,4-D sehingga dapat menginduksi akar dengan baik. Akar yang terbentuk pada kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin berwarna hijau dan panjang, kombinasi hormon tersebut juga merupakan kombinasi yang cocok pada tanaman *Boerhaavia diffusa* (Kanfade et al. 2011). Eksplan selain dapat memproduksi hormon sitokinin, diduga memiliki kemampuan untuk memproduksi auksin secara endogen namun tidak sebanyak produksi hormon sitokinin. Penambahan auksin pada media kultur akan menyebabkan interaksi yang tidak seimbang dengan auksin endogen dan tidak dapat menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak (Rahmaniar 2007).

Berat basah *Protocorm Like Bodies* (PLB)

Berat basah pada kultur in vitro dihitung dengan cara menimbang media bersama botol dan tutup aluminium foil. PLB kemudian dimasukkan ke dalam media yang telah ditimbang tersebut. Hasil yang didapat dari penimbangan media dan PLB merupakan berat total. Berat basah PLB didapat dengan cara, berat total dikurangi berat media.

Tabel 3. Rata-rata Berat Basah *Protocorm Like Bodies* (PLB).

Jenis media	MS0	MS1	MS2	MS3	MS4
Rata-rata berat basah (g)	0,524	0,31	0,400	0,830	0,515

Dari hasil rata-rata berat basah tunas dan akar didapatkan bahwa media MS0 lebih tinggi dalam menginduksi pertumbuhan PLB. Hasil uji ANAVA menunjukkan hasil yang tidak beda nyata, dari hasil ini berarti konsentrasi hormon yang digunakan tidak mempengaruhi terhadap peningkatan berat basah tunas dan akar *G. scriptum*.

Peran zat pengatur tumbuh (zpt) terhadap induksi eksplan

Dalam kultur jaringan, dua golongan zpt yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Interaksi dan perimbangan antara zpt yang terkandung dalam media dan yang diproduksi oleh sel-sel endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur (Gunawan 1988).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya pengaruh pada eksplan dengan variasi hormon yang berbeda disetiap perlakuannya. Pada hasil penelitian terlihat bahwa hormon dapat mempengaruhi regenerasi dari eksplan *G. scriptum* yang ditanam dalam media. Media dengan bantuan hormon eksogen akan dapat menginduksi PLB dengan baik daripada media tanpa menggunakan hormon.

Interaksi sitokinin dengan auksin selain dapat menghasilkan PLB juga dapat terjadi dalam menentukan pembentukan bakal batang dan akar pada kultur jaringan. Apabila perbandingan antara auksin dan sitokinin tinggi akan terjadi diferensiasi beberapa (tidak semua) sel kalus menjadi bakal akar. Jika kadar sitokinin lebih tinggi daripada auksin maka sel kalus berdiferensiasi menjadi meristem pucuk batang. Jadi apabila terjadi perubahan sedikit dalam perbandingan auksin-sitokinin dapat berakibat pembentukan akar atau batang (Kusumo 1984).

Hormon auksin akan menginduksi sekresi ion H^+ keluar sel melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil dan pengambilan ini mengurangi potensial air dan sel, akibatnya air masuk ke dalam sel dan sel membesar. Auksin juga mempengaruhi metabolisme RNA yang juga berarti metabolisme protein melalui transkripsi (Gunawan 1988). Auksin juga dapat menghasilkan auksin terikat melalui pembentukan auksin konjugat, gugus karboksil auksin bergabung secara kovalen dengan molekul lain membentuk beberapa turunan. Auksin konjugat merupakan bentuk cadangan auksin, sehingga apabila auksin masuk ke dalam jaringan maka auksin tersebut dapat terus berada dalam jaringan tersebut dalam waktu yang lama (Salisbury dan Ross 1992).

Pada media MS0 yaitu media yang tidak menggunakan hormon PLB terbentuk dengan sempurna, sama halnya pada media dengan komposisi 0.5mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L NAA dan 1 mg/L NAA. Pada media dengan komposisi 1 mg/L 2,4-D terjadi perbedaan, yaitu tumbuh akar pada komposisi media tersebut. Menurut De Pauw et al. (1995) pertumbuhan PLB sangat dipengaruhi oleh adanya hormon sitokinin yang terdapat eksplan dan atau dalam media tumbuh. Berdasarkan hal tersebut dimungkinkan pada eksplan *G. scriptum* mengandung hormon endogen dari golongan sitokinin yang cukup sehingga dapat menginduksi PLB tanpa adanya tambahan hormon dari luar (hormon eksogen).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini perlakuan dengan zpt 2,4-D dan NAA tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan dan induksi tunas *G. scriptum*. Komposisi media yang optimal dalam pertumbuhan PLB terdapat pada media dengan 2,4-D 0,5 mg/L, sedangkan pada media dengan 2,4-D 1 mg/L selain dapat menginduksi PLB dapat pula menginduksi akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas B, Listyorini FH, Amiriati B. 2011. In vitro seeds germination and planlets development of *Grammatophyllum scriptum* Lindl. Int Res J Plant Sci 2 (5): 154-159.
- Chang C, Ying CC, Hsin FY. 2005. Protocorm or rhizome? The morphology of seed germination in *Cymbidium dayanum* Reichb. Bot Bull Acad Sin 46: 71-74.
- De Pauw MA, Remphrey WR, Palmer CE. 1995. The Cytokinin preference for *in vitro* germination and protocorm growth of *Cypripedium candidum*. Ann Bot 75: 267-275.
- George EF, Sherrington PD. 1984. Plant propagation by tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegenetic Limited, England.
- Gunawan LW. 1988. Teknik kultur jaringan tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB, Bogor.
- Kanfadi H, et al. 2011. In-vitro callus induction and shoot regeneration in *Boerhaavia diffusa* L. Ann Biol Res 2 (1): 142-148.
- Kusumo S. 1984. Zat pengatur tumbuh tanaman. Yasaguna, Jakarta.
- Rahmaniar A. 2007. Pengaruh macam eksplan dan konsentrasi 2,4-D-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) terhadap pertumbuhan *Anthurium (Anthurium plowmanii* Croat) pada Medium MS. [Skripsi]. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Rahmatia D, Pitriana P. 2007. Bunga anggrek. JP BOOKS. Jakarta.
- Salisbury FB, CW Ross. 1992. Fisiologi tumbuhan. Jilid 3. ITB, Bandung.
- Syahid SF, Kristina NN, Seswita D. 2010. Pengaruh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) secara *in vitro*. Jurnal LITRI 16 (1): 1-5.
- Wattimena GA. 1988. Zat pengatur tumbuh tanaman. PAU IPB, Bogor.
- Zulkarnain. 2009. Kultur jaringan tanaman. Bumi Aksara, Jakarta.