

Artikel penelitian

Subkultur *Dendrobium kanayao* secara *In Vitro* di Esha Flora

Rini Hardiyanti Pebrian¹, Lili Suharli^{1*}, Edhi Sandra²

¹ Program Studi Bioteknologi, Fakultas Ilmu dan Teknologi Hayati, Universitas Teknologi Sumbawa

² Esha Flora Plant and Tissue Culture

* Corresponding author (lili.suharli@uts.ac.id)

Riwayat artikel

Diterima : 4 Jan 2023

Disetujui : 4 Feb 2023

Diterbitkan : 9 Feb 2024

Diedit Oleh

Adi Suriyadin

ABSTRACT

Orchids have the beauty of their flowers and are very popular among the public. Orchids have a unique shape and attractive colors, so they are called the "Queen of flowers". *Dendrobium kanayao* is one of the most popular types of orchid because it is easy to care for, and has a variety of flower colors and shapes. However, there are obstacles in developing conventional orchid cultivation, so it is necessary to use tissue culture techniques for rapid and uniform plant propagation. In tissue culture, the problem faced is contamination at the subculture stage, so this research aims to obtain a sterile culture of *Dendrobium kanayao* plants using the *In Vitro* method at Esha Flora. The method used was subculturing *Dendrobium kanayao* explants on growmore media and observations were made including the first time the contamination occurred, the percentage of sterile culture, culture contaminated with fungi and bacteria. The results showed that the percentage of *Dendrobium kanayao* subcultures obtained 100% sterile culture, but some explants experienced browning. It was concluded that the *Dendrobium kanayao* subculture using growmore media could be said to be successful even though some explants experienced browning.

Keywords: *Dendrobium kanayao*; Subculture; Sterile

ABSTRAK

Anggrek memiliki nilai keindahan pada bunganya dan sangat populer di kalangan masyarakat. Anggrek memiliki bentuk unik dan warnanya menarik sehingga disebut "Queen of flower". *Dendrobium kanayao* merupakan salah satu jenis anggrek yang paling banyak diminati karena mudah dirawat, serta warna dan bentuk bunga beragam. Namun terdapat kendala dalam mengembangkan budidaya anggrek secara konvensional sehingga perlu dilakukan teknik kultur jaringan untuk memperbanyak tanaman dengan cepat dan seragam. Dalam kultur jaringan permasalahan yang dihadapi yaitu adanya kontaminasi pada tahap subkultur maka penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kultur steril tanaman *D. kanayao* dengan cara *In Vitro* di Esha Flora. Metode yang dilakukan yaitu subkultur eksplan *D. kanayao* pada media *growmore* dan dilakukan pengamatan meliputi waktu pertama terjadinya kontaminasi, persentase kultur steril, kultur terkontaminasi jamur, dan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan persentase subkultur *D. kanayao* mendapatkan 100% kultur steril namun beberapa eksplan mengalami *browning*. Disimpulkan bahwa subkultur *D. kanayao* menggunakan media *growmore* dapat dikatakan berhasil meskipun beberapa eksplan mengalami *browning*.

Kata kunci: *Dendrobium kanayao*; Subkultur; Steril

Sitasi :

Pebrian, R. H., Suharli, L., Sandra, E. (2024). Subkultur *Dendrobium kanayao* secara *In Vitro* di Esha Flora. *Journal of Life Science and Technology*. 2(1). 49-53

PENDAHULUAN

Tanaman anggrek termasuk ke dalam tanaman hias yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan nilai keindahan pada bunganya. Anggrek memiliki bentuk unik dan warnanya menarik sehingga di sebut "*Queen of flower*" (Widiastoety *et al.*, 2010). Anggrek *Dendrobium* merupakan salah satu jenis anggrek yang paling banyak dikembangkan karena keunggulannya yaitu mudah dirawat, variasi warna dan bentuk bunga beragam, pertumbuhan yang cepat, dan harga bibit terjangkau (Afriani, 2006). Menurut data Badan Pusat Statistik (2022) produksi anggrek di Indonesia sebanyak 6,78 juta tangkai pada 2022 dan jumlahnya turun 40,24% dibandingkan pada tahun sebelumnya yang mencapai 11,35 juta tangkai.

Metode yang tepat perbanyak anggrek ini untuk memenuhi permintaan pasar adalah dengan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu metode secara aseptik untuk mengisolasi bagian dari tanaman sehingga dapat diperbanyak dan dikembangkan menjadi tanaman lengkap yang memiliki sifat serupa dengan induknya. Teknik kultur jaringan dikenal dengan istilah kultur *in vitro*. Tujuan kultur *in vitro* yaitu untuk memperbanyak tanaman dengan jumlah besar tanpa membutuhkan tempat yang luas, menghasilkan bibit yang banyak dalam waktu yang singkat dan lebih cepat tumbuh dibandingkan metode konvensional sebab tidak tergantung pada musim (Harahap, 2019; Anitasari *et al.*, 2018). Tahapan Kultur jaringan diantaranya inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar (pengakaran) dan aklimatisasi. Inisiasi atau tahapan awal kultur jaringan meliputi proses pengambilan eksplan dari bagian tanaman untuk dikulturkan hingga mendapatkan eksplan yang bebas dari mikroorganisme kontaminan (Yuliarti, 2010). Multiplikasi merupakan tahap perbanyak eksplan dengan subkultur (pemindahan eksplan dalam media baru yang berisi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)) secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok bahan tanaman (eksplan) (Kumar dkk., 2011). Subkultur memiliki beberapa tujuan diantaranya penjarangan, peremajaan, multiplikasi/ perbanyak, pengakaran/pembesaran, penyelamatan (Sandra dkk., 2019). Masalah yang sering dialami dalam kultur jaringan yaitu adanya kontaminasi oleh mikroorganisme. Sumber Kontaminasi dapat berasal secara internal dari jaringan eksplan maupun secara eksternal dari luar jaringan eksplan (Dwiyani, 2015). Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana mendapatkan kultur steril *Dendrobium kanayao* secara *in vitro*.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan sejak tanggal 24 Juli–24 Agustus 2022 bertempat di Esha Flora *Plant and Tissue Culture* Jln. Kemuning VI Jl. Raya Taman Cimanggu No. 9, Rt. 02/10, Kedung Waringin Kec. Tanah Sereal, Kota Bogor Jawa Barat.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi Laminar Air Flow (LAF), petri dish, pinset, scalpel, mata pisau, botol asi, botol selai, botol kaca kecil, korek api, tisu steril, tisu gulung, aluminium foil, plastik persegi, karet, plastik wrap, label nama, pulpen dan baki. Bahan yang digunakan meliputi api bunsen, betadine, Alkohol 70%, air steril, kultur *D. Kanayao* untuk penjarangan, dan media growmore + GP.

Prosedur Kerja

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi Alat seperti botol asi, botol selai, botol kaca kecil, pinset, skalpel, petri dish, tisu steril, dan air steril menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 1 jam dan sterilisasi media menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 30 menit.

Pembuatan Media

Siapkan air 500 ml lalu Timbang growmore 2g/L, Myo inositol 0,1 g/L, thiamine 0,1 ml/L, nikotin dan piridoksin masing-masing 1 ml/L, glisin 1 ml/L dan pepton 0,2 g/L, gula 30 g/L, tambahkan air sampai genap 1L. Ukur larutan dengan kertas pH. Nilai pada pH yang digunakan untuk membuat media yaitu pH 5,8–6 jika larutan bersifat basa maka HCl dan jika terlalu asam ditambah NaOH dan di tambahkan agar 6 g/L sambil diaduk. Masukkan larutan media ke dalam panci dan rebus sampai

mendidih, lalu masukan ke dalam botol asi kurang lebih 10-20 ml dan ditutup dengan plastik dan diikat menggunakan karet serta sterilkan menggunakan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121°C.

Subkultur

Siapkan semua alat dan bahan kemudian sterilisasi LAF dengan alkohol 70%. Masukkan semua alat dan bahan kecuali tanaman yang akan di kultur kedalam LAF yang sebelumnya sudah disemprot alkohol 70%, setelah itu nyalakan sinar UV selama 30-60 menit. Tanaman yang akan disubkultur disemprot alkohol 70% lalu dimasukkan ke dalam LAF. Sterilkan petri dish menggunakan betadine dan air steril dengan diaduk dan dibalik-balik sampai sekiranya bersih, buang cairan tadi setelah itu dibersihkan kembali dengan air steril kemudian bakar petri dish dengan api bunsen. Setelahnya petri dish dikeringkan menggunakan tisu steril sampai bersih. Kemudian simpan tisu steril ke dalam petri dish. Dibuka plastik wrap pada botol yang akan dikultur sambil dilewati mulut botol pada api bunsen. diambil eksplan menggunakan pinset dan masukkan ke dalam petri dish, potong tanaman yang akan disubkultur (buang tanaman yang *browning* dan media sebelumnya yang menempel pada tanaman). Selanjutnya disiapkan media yang akan digunakan lalu mulut botol dilewati pada api bunsen dan jika ada cairan di dalamnya buang terlebih dahulu lalu ditanam eksplan ke dalam media dengan menggunakan pinset. Dalam satu botol asi maksimal terdapat 3 eksplan. Lalu, lewatkan mulut botol pada api bunsen kemudian ditutup kembali dengan plastik dan dieratkan dengan karet sampai kencang dan dilakukan pada semua sampel yang akan disubkultur. Setelah selesai dikeluarkan tanaman yang sudah disubkultur dan dibersihkan kembali LAF. Dilabeli tanaman yang disubkultur serta simpan tanaman di ruang inkubasi.

Pengamatan dan Pengambilan Data

Eksplan *D. kanayo* yang telah disubkultur, diamati selama 35 hari. Perubahan yang diamati yaitu waktu pertama terjadi kontaminasi, persentase kultur steril, persentase kultur terkontaminasi jamur dan bakteri.

Kultur steril (%) dihitung dengan rumus hasil kultur steril dibagi dengan kultur yang ditanam seperti rumus berikut :

$$\text{kultur steril} = \frac{\text{kultur yang steril}}{\text{kultur yang ditanam}} \times 100\%$$

Kultur terkontaminasi jamur (%) dihitung dengan rumus hasil perbandingan kultur yang terkontaminasi jamur dengan kultur yang ditanam seperti rumus berikut :

$$\text{kultur yang terkontaminasi Jamur} = \frac{\text{kultur yang terkontaminasi Jamur}}{\text{kultur yang ditanam}} \times 100\%$$

Kultur terkontaminasi bakteri (%) dihitung dengan rumus hasil perbandingan kultur yang terkontaminasi bakteri dengan kultur yang ditanam seperti rumus berikut :

$$\text{kultur yang terkontaminasi bakteri} = \frac{\text{kultur yang terkontaminasi bakteri}}{\text{kultur yang ditanam}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

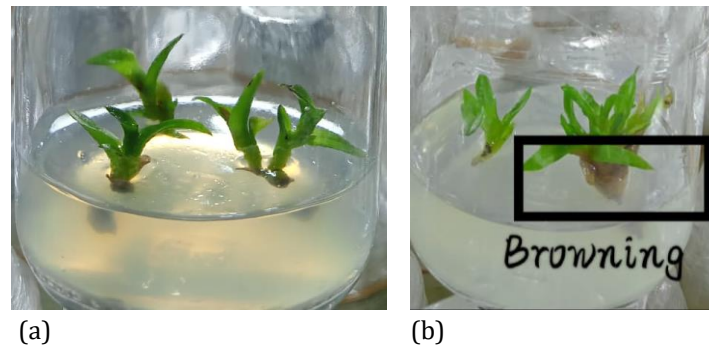
Subkultur *Dendrobium kanayao*

Subkultur *D. kanayao* diamati setiap hari dengan parameter eksplan steril serta kemunculan kontaminasi jamur dan bakteri dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Persentase eksplan steril dan kontaminasi jamur serta bakteri pada subkultur *D. Kanayao*

Eksplan steril (%)	Kontaminasi jamur (%)	Kontaminasi bakteri (%)
100%	0%	0%

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 1 didapatkan persentase kultur steril dari *D. kanayao* mencapai 100% dan 0% untuk kontaminasi jamur dan bakteri. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan diantaranya sterilisasi, pemilihan bahan eksplan, faktor lingkungan seperti pH, cahaya dan temperatur (Pangestika, 2015) serta menurut Husniah (2016) kontaminasi dapat muncul karena kurang sterilnya ruangan serta keluar masuknya praktikan mungkin saja membawa bakteri dari luar ruangan sehingga menyebabkan kontaminasi. Hasil subkultur *D. kanayao* dapat dilihat pada gambar 1(a), akan tetapi beberapa eksplan mengalami *browning* setelah 3 minggu disubkultur dan dapat dilihat pada gambar 1(b). Dalam penelitian Nisa (2005) mengatakan bahwa munculnya *browning* disebabkan oleh sintesis metabolit sekunder.



Gambar 1. Eksplan *D. kanayao*: (a) Eksplan steril; (b) Terdapat *browning* pada eksplan

Browning merupakan suatu keadaan dimana muncul warna coklat atau hitam yang menyebabkan tidak terjadi pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan. Hal ini dapat disebabkan oleh senyawa fenol yang timbul akibat stres mekanik pada perlukaan saat proses penanaman eksplan. Senyawa fenol tersebut dapat bersifat toksik sehingga menghambat pertumbuhan dan bahkan dapat mematikan jaringan eksplan (Harahap, 2019). Serta menurut Sandra (2019) *browning* biasanya muncul pada tanaman yang memiliki kandungan alkaloid dan sterilisasi eksplan tidak bersih. Namun, bila *browning* tidak terlalu berat dapat diatasi dengan memindahkan eksplan dari media lama ke media yang baru.

Browning dapat dicegah dengan penggunaan arang aktif, penggunaan *polyvinylpyrrolidone* (PVP), penggunaan antioksidan seperti *ascorbic acid* (asam sitrat), kultur dalam gelap, dan sub-kultur 2-3 kali dalam periode singkat (Dwiyani, 2015). Menurut Widiastoety (2010) untuk mencegah *browning* pada luka bekas potongan dapat menggunakan *Polivinylpyrrolidone* (PVP) yang cukup efektif mampu menyerap senyawa toksik dengan dosis 1 ppm dan dibuktikan dalam penelitian Nisa, 2005 polifenol dapat dikurangi dengan menggunakan *Polivinylpyrrolidone* (PVP).

KESIMPULAN

Subkultur *D. kanayao* secara *in vitro* di Esha Flora menggunakan media growmore mendapatkan kultur steril mencapai 100%. Meskipun dikatakan berhasil mendapatkan kultur steril tetapi beberapa eksplan mengalami *browning* yang menghambat pertumbuhan eksplan bahkan sampai mati.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak Fakultas Ilmu dan Teknologi Hayati, Universitas Teknologi Sumbawa dan Laboratorium Skala Rumah Tangga Esha Flora *Plant and Tissue Culture* yang telah memfasilitasi kegiatan Penelitian ini sehingga dapat terlaksana dengan baik.

REFERENSI

- Afriani, A. T. (2006). Penggunaan gandasil, air kelapa dan ekstrak pisang pada perbanyakan tunas dan perbesaran plantlet anggrek dendrobium (*Dendrobium Kanayao*) secara *in vitro*. Institut Pertanian Bogor: Program Studi Hortikultura, Fakultas Pertanian.
- Anitasari, S.D., D. N. Rikhma Sari, I. A. Astarini, dan M. R. Defiani. (2018). Dasar Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Deepublish. Yogyakarta. 105 hlmn.
- Badan Pusat Statistik. (2022). Statistik Tanaman Hias Indonesia. Jakarta: Badan Pusat Statistik
- Dwiyani, Rindang. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari "Percetakan & Penerbit".
- Harahap, F., Hasanah, A., Insani, H., Harahap, N. K., Pinem, M. D., Edi, S., & Silaban, R. (2019). Kultur Jaringan Nanas. Media Sahabat Cendekia.
- Husniah, Salissatul & Triastuti Rahayu. 2016. Efektivitas Daun Belimbing Wuluh Untuk Menghambat Kontaminasi Pada Pertumbuhan Biji Kacang Hijau Secara *In Vitro*. Seminar Nasional Pendidikan dan Sainstek 2016.
- Kumar N, Reddy MP. (2011). *In Vitro* Plant Propagation: A Review. *Journal of Forest Science* 27(2):61-72.
- Nisa, C & Rodinah. (2005). Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin. *Bioscientiae*. Vol. 2 No. 2: 23-36.
- Pangestika, D., Samanhudi, S., & Triharyanto, E. (2015). Kajian Pemberian IAA dan Paclobutrazol Terhadap Pertumbuhan Eksplan Bawang Putih. *Jurnal Kewirausahaan dan Bisnis*, 17(9).
- Sandra, I. E. 2019. Cara Mudah Memahami Dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga. PT Penerbit IPB Press
- Sandra, Edhi., Hapsiati., Pondok Azizah Zahra S. (2019). *Subkultur dalam Kultur Jaringan Tanaman*. <http://eshaflora.com/index.php/articles/292-subkultur-dalam-kultur-jaringantanaman>. Diunduh tanggal 21 agustus 2019.
- Widiastoety, D., N. Solvia, dan M, Soedarjo. (2010). Potensi Anggrek *Dendrobium* Dalam Meningkatkan Variasi Dan Kualitas Anggrek Bunga Potong. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29 (3):101-106.
- Yuliarti, N. (2010). *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher