

Somatik Embriogenesis Anggrek *Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum* dengan Penambahan BA dan NAA

Somatic Embryogenesis of Dendrobium lasianthera x Dendrobium antennatum with the Addition of BA and NAA

Heni Dwi Sasmita¹, Parawita Dewanti^{2*}, dan Firdha Narulita Alfian³

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember,
Jl. Kalimantan Tegalboto No. 37 Sumbersari, Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia

²Fakultas Pertanian, Universitas Jember,
Jl. Kalimantan Tegalboto No. 37 Sumbersari, Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia

³Program Studi Magister Bioteknologi, Universitas Jember,
Jl. Kalimantan Tegalboto No. 37 Sumbersari, Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia

Diterima 29 Januari 2022/Disetujui 21 Juli 2022

ABSTRACT

*Somatic embryogenesis is in vitro culture propagation technique through cell division derived from plant parts to form embryos into new plants. BA and NAA application in media supported propagation in media to trigger callus formation. This research aimed to obtain the best concentration of BA and NAA combination to induce the callus of the Dendrobium Hybrid (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) through somatic embryogenesis. It was conducted at the Laboratory of the Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST), the University of Jember East Java from March to September 2021. The research design used was CRD with two factors, the BA hormone factor at four levels, 0, 0.025, 0.05, and 0.1 mg L⁻¹ and the NAA hormone at three levels, 1, 2, and 3 mg L⁻¹. Results showed that callus formation of Dendrobium Hybrids was the fastest in the treatment of BA 0.025 mg L⁻¹ and NAA 3 mg L⁻¹, with the highest percentage of embryogenic callus at 67%. It showed that the addition of BA 0.025 mg L⁻¹ and NAA 3 mg L⁻¹ was the best result on the time of callus formation and the percentage of embryogenic callus.*

Keywords: callus, coleoptile, embryogenic, globular, scutellar

ABSTRAK

*Somatik embriogenesis merupakan teknik perbanyakan kultur in vitro melalui proses pembelahan sel yang berasal dari bagian tanaman untuk membentuk embrio menjadi tanaman baru. Perbanyakan tersebut didukung oleh penambahan BA dan NAA dalam media untuk memicu terbentuknya kalus. Tujuan penelitian ini untuk memperoleh konsentrasi kombinasi BA dan NAA yang terbaik dalam proses induksi kalus tanaman anggrek Dendrobium Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) melalui metode somatik embriogenesis. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Center for Development of Advance Sciences and Technology (CDAST) Universitas Jember Jawa Timur dari bulan Maret-September 2021. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap dengan dua faktor yaitu faktor BA 4 taraf, 0, 0.025, 0.05, dan 0.1 mg L⁻¹ dan faktor NAA 3 taraf; 1, 2, dan 3 mg L⁻¹, dengan menggunakan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan waktu terbentuknya kalus anggrek Dendrobium Hibrida paling cepat pada perlakuan dengan konsentrasi BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹ dengan presentase tertinggi terbentuknya kalus embriogenik yaitu sebesar 67%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹ merupakan hasil terbaik pada variabel waktu terbentuknya kalus dan presentase kalus embriogenik.*

Kata kunci: globular, embriogenik, kalus, koleoptilar, skutelar

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: parawita.faperta@unej.ac.id

PENDAHULUAN

Anggrek *Dendrobium* sp. merupakan salah satu jenis anggrek yang dikenal oleh kalangan masyarakat sebagai primadona, namun sampai saat ini perbanyakan anggrek masih belum dilakukan secara optimal. Anggrek *Dendrobium* sp. seringkali digunakan sebagai tetua persilangan untuk menghasilkan varietas jenis anggrek baru yang unik dan memiliki daya saing tinggi (Andriyani, 2017; Purwanto dan Semiarti, 2009).

Proses persilangan anggrek *Dendrobium* sp. membutuhkan induk yang memiliki sifat jelas dan unggul. Pemilihan induksangat penting dilakukan untuk mendapatkan hasil anakan yang diinginkan, seperti memiliki bentuk yang identik dengan campuran warna bunga yang indah, bercorak dan berukuran besar (Rianawati, 2017). Peluang tersebut banyak dimanfaatkan dengan cara melakukan perbanyakan dengan metode kultur jaringan (Herliana *et al.*, 2019).

Teknik kultur jaringan saat ini banyak digunakan dalam perbanyakan bibit tanaman, khususnya untuk tanaman yang secara generatif sulit dikembangkan seperti tanaman anggrek. Perbanyakan anggrek dengan cara perkecambahan biji (organogenesis) memiliki kekurangan yaitu menghasilkan bibit tidak seragam. Perkecambahan biji anggrek juga sulit dilakukan karena ukuran biji anggrek yang sangat kecil dan tidak memiliki endosperma. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan melakukan perbanyakan secara kultur *in vitro* dengan metode somatik embriogenesis (Rofik, 2018). Somatik embriogenesis merupakan proses pembelahan sel melalui bagian sel somatik tanaman untuk membentuk embrio menjadi tanaman baru. Keunggulan dari teknologi somatik embriogenesis dalam penyediaan bibit adalah mampu menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, bersifat seragam dengan waktu yang singkat (Mastuti, 2017). Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tergantung pada jenis tanaman yang digunakan dan tujuan penelitian. Golongan zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan, yaitu auksin dan sitokinin. Golongan auksin antara lain IAA (*indole acetic acid*), NAA (*naphtalene acetic acid*), IBA (*indole butiric acid*), 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*). Golongan sitokinin antara lain BA (*benzyl adenine*), kinetin dan zeatin. Penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh BA dan NAA mampu meningkatkan pembentukan kalus pada proses induksi. Zat pengatur tumbuh NAA memiliki peran untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik. BA mempunyai struktur dasar yang lebih efektif karena memiliki gugus benzyl sehingga tanaman akan merespon dengan baik (Endang, 2011). Induksi kalus embriogenik anggrek yang baik akan dapat ditunjang keberhasilannya membentuk planlet dengan proliferasi kalus yang baik pula. Thidiazuron (TDZ) menjadi salah satu zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk tujuan peningkatan tunas pada tanaman anggrek. TDZ meningkatkan kerja sitokinin lain baik sitokinin eksogen maupun endogen (Restanto *et al.*, 2018). TDZ dengan konsentrasi 0.3-1.5 mg L⁻¹ dilaporkan efektif untuk pertunasan anggrek

Dendrobium (Rachmawati *et al.*, 2016). Tujuan penelitian ini untuk memperoleh konsentrasi kombinasi BA dan NAA yang terbaik dalam proses induksi kalus tanaman anggrek *Dendrobium* Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) melalui somatik embriogenesis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Biomolekuler *Center for Development of Advanced Sciences and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Maret sampai September 2021.

Bahan tanam yang digunakan adalah tunas basal planlet dari anggrek *Dendrobium* Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) umur 3 bulan. Media yang digunakan adalah ½ MS dengan ZPT benzil adenin (BA) dan naphthalene acetic acid (NAA).

Induksi Kalus

Proses untuk menginduksi kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*) dilakukan dengan cara mengambil planlet anggrek *in vitro* umur 3 bulan. Tahap selanjutnya melakukan pengirisan pada bagian tunas basal sekitar 0.1-0.5 cm dari akar dengan ketebalan 1-2 mm. Eksplan selanjutnya ditanam pada media ½ MS yang telah dikombinasikan dengan BA dan NAA. Tahap selanjutnya yaitu menginkubasi pada ruang gelap selama 8 minggu dengan suhu ruangan ± 20 °C. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui perkembangan terhadap pembentukan embrio menggunakan mikroskop dan jumlah embrio pada setiap perlakuan.

Proliferasi Kalus

Kalus dari media induksi yang sudah memasuki tahap proembrio dan globular selanjutnya dipindahkan pada media proliferasi dengan komposisi yang berbeda. Media yang digunakan untuk proses proliferasi adalah media ½ MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang dikombinasikan dengan penambahan thidiazuron (TDZ) dan naphthaleneacetic acid (NAA) agar dapat berproliferasi. Komposisi media proliferasi yang digunakan yaitu ½ media MS + 0.3 mg L⁻¹ TDZ + 0.1 mg L⁻¹ NAA (Rachmawati *et al.*, 2016). Tahap proliferasi dilakukan selama 4-6 minggu pada ruang gelap dengan suhu ± 20 °C.

Regenerasi Kalus

Kalus pada fase koleoptilar hasil dari tahap proliferasi selanjutnya di pindahkan ke media regenerasi. Komposisi media yang digunakan adalah ½ MS + 1 mg L⁻¹ BAP, 0.1 mg L⁻¹ NAA, dan 15% air kelapa. Pada tahapan ini kalus yang sudah dipindahkan ke dalam media regenerasi selanjutnya ditransfer ke kondisi terang dengan penyinaran lampu selama 16 jam dan kondisi gelap 8 jam dalam ruang kultur jaringan pada suhu 24 ± 2 °C .

Regenerasi Kalus

Kalus pada fase koleoptilar hasil dari tahap proliferasi selanjutnya di pindahkan ke media regenerasi. Komposisi media yang digunakan adalah $\frac{1}{2}$ MS + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.1 mg L⁻¹ NAA + 15% air kelapa. Kalus yang sudah dipindahkan ke dalam media regenerasi selanjutnya ditempatkan pada rak kultur dengan kondisi ruang terang 25 °C untuk berfotosintesis dengan baik.

Analisis Data

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu penambahan BA dan NAA. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 12 perlakuan dan akan diperoleh 36 percobaan dengan masing-masing botol berisi 5 eksplan basal sehingga terdapat total 180 unit percobaan. Data pengamatan yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (ANOVA) dan pada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Terbentuknya Kalus

Pengamatan waktu terbentuknya kalus embriogenik dilakukan setiap hari. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹ memberikan pengaruh terhadap waktu terbentuknya kalus rata-rata paling cepat yaitu 14 hari setelah tanam, sedangkan untuk perlakuan BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹ memberikan pengaruh terhadap waktu terbentuknya kalus anggrek rata-rata paling lama yaitu 21 hari dapat dilihat pada Gambar 1.

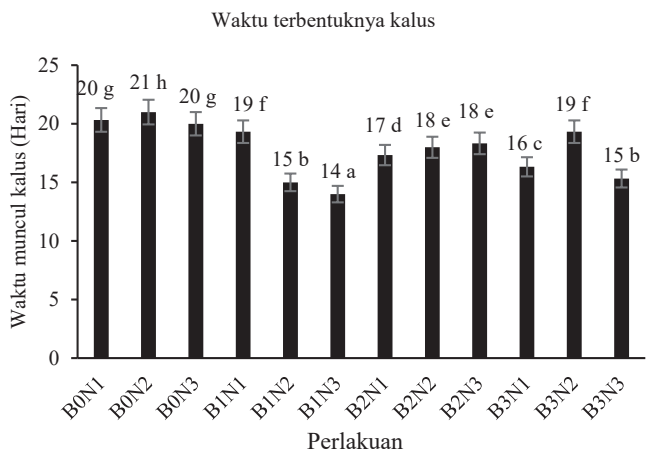
Penambahan zat pengatur tumbuh dapat menentukan keberhasilan dalam proses diferensiasi sel pada jaringan sel yang dikulturkan (Sulichantini *et al.*, 2020). Pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tidak tepat akan menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan (Hardjo dan Hartatie, 2018). Faktor lain yang mempengaruhi pembentukan kalus diantaranya, media, lingkungan kultur dan pemilihan bahan tanam (Xiong *et al.*, 2018).

Persentase Kalus Embriogenik

Hasil presentase kalus embriogenik tertinggi terdapat pada perlakuan BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹ yaitu sebesar 67% dan kalus embriogenik dengan presentase terendah terdapat pada perlakuan BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹ yaitu sebesar 20% dapat dilihat pada Gambar 2. Perbanyakan somatik embriogenesis pada tahap induksi membutuhkan penambahan hormon auksin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi hormon sitokinin. Auksin berperan penting dalam menginduksi pembentukan kalus yaitu memacu proses pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan

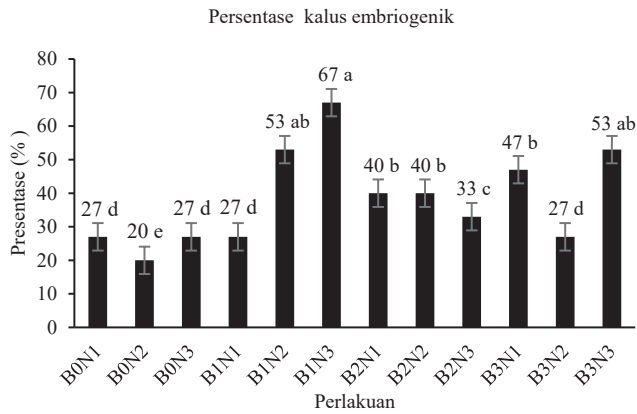
kambium pada tanaman, sehingga diperlukan penggunaan auksin dengan konsentrasi yang relatif lebih tinggi (Hartati *et al.*, 2016).

Keberhasilan perbanyakan anggrek melalui somatik embriogenesis dipengaruhi oleh benzil adenin (BA). BA yang diberikan dalam media mampu meningkatkan aktivitas dalam pembelahan sel pada eksplan, sehingga mempengaruhi jumlah kalus yang terbentuk (Puspita *et al.*, 2011). Naphthalene acetic acid (NAA) merupakan hormon auksin yang sangat efektif dalam perbanyakan anggrek, khususnya pada tahap induksi melalui somatik embriogenesis (Kasi dan Semiarti, 2016). Penggunaan NAA berperan penting dalam pembentukan sel kalus yang kompak dan mampu menghasilkan warna kalus yang hijau (Prasetyo *et al.*, 2020). Perbanyakan somatik embriogenesis pada tahap induksi membutuhkan penambahan auksin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi sitokinin. Auksin berperan penting dalam menginduksi pembentukan kalus yaitu memacu proses pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium pada tanaman, sehingga diperlukan penggunaan auksin dengan konsentrasi yang relatif lebih tinggi (Lestari, 2011). Pembentukan kalus embriogenik yang rendah disebabkan oleh peristiwa browning. Peristiwa *browning* terjadi karena senyawa fenol pada eksplan terlalu tinggi, sehingga menyebabkan eksplan berubah warna menjadi coklat hingga kehitaman. Adanya peristiwa browning mempengaruhi penurunan proses pengkalusan hingga menyebabkan kematian jaringan (Widayanti *et al.*, 2014).



Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Gambar 1. Waktu terbentuknya kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*) pada 12 perlakuan media. B0N1 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B0N2 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B0N3 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B1N1 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B1N2 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B1N3 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B2N1 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B2N2 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B2N3 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B3N1 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B3N2 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B3N3 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹.

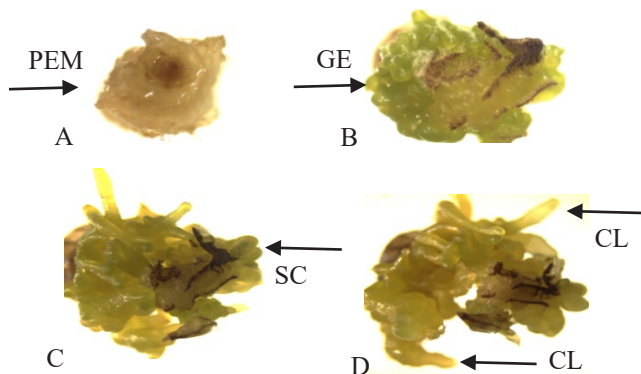


Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Gambar 2. Presentase kalus embriogenik anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*) pada 12 perlakuan media. B0N1 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B0N2 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B0N3 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B1N1 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B1N2 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B1N3 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B2N1 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B2N2 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B2N3 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B3N1 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B3N2 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B3N3 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹.

Morfologi Kalus

Morfologi embrio somatik anggrek dalam tahap proliferasi terdapat beberapa fase yaitu fase globular, skutelar dan koleoptilar. Tahap awal sebelum terbentuknya kalus adalah proembrio (PEM). Fase globular merupakan fase yang ditandai dengan munculnya nodul atau tonjolan kecil berbentuk bulat berwarna hijau (Astuti, 2019). Fase selanjutnya adalah skutelar. Fase skutelar merupakan fase pemisahan dua kotiledon yang menyerupai bentuk jantung.



Gambar 3. Fase embrio somatik anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*), A. Kalus embriosomatik proembrio (PEM), B. Kalus embriogenik mulai membentuk calon embrio fase globular (GE), C. Embrio somatik fase globular dan memasuki awal fase skutelar (SC), D. Embrio somatik fase koleoptilar (CL)

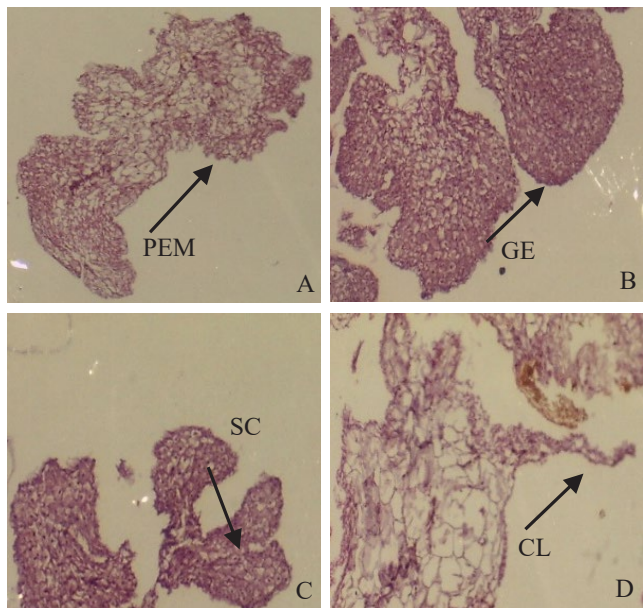
Fase berikutnya yaitu fase koleoptilar. Fase koleoptilar ditandai dengan kedua kotiledon yang terus berkembang hingga membentuk calon tunas dan meristem akar (Xiong *et al.*, 2018). Fase perkembangan kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*) dapat dilihat pada Gambar 3.

Histologi Kalus Embriogenik

Histologi somatik embriogenesis tanaman anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*) setelah membentuk embrio somatik akan berkembang melewati 3 fase yaitu fase globular, fase skutelar dan fase koleoptilar. Hasil pengamatan histologi menunjukkan bahwa sel kalus embriogenik berukuran kecil dan mempunyai sitoplasma padat (Gambar 4). Pada Gambar 4(A) terlihat bahwa sel embriogenik mengalami pembengkakan menjadi proembrio. Proembrio berkembang membentuk embrio globular yaitu pada Gambar 4(B) dan berkembang membentuk struktur seperti suspensor pada bagian basal embrio. Tonjolan pada embrio globular tersebut membelah menjadi dua menyerupai hati atau disebut skutelar yaitu pada Gambar 4(C). Setelah itu embrio mulai berkembang memanjang yang nantinya akan membentuk primordia tunas dan akar seperti pada Gambar 4(D).

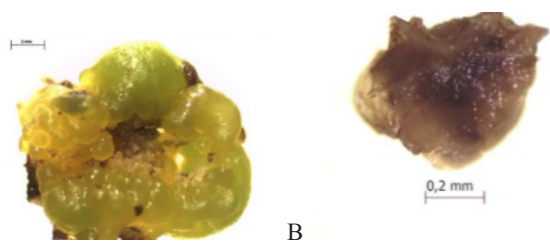
Karakteristik Kalus Embriogenik

Berdasarkan morfologinya terdapat dua jenis kalus yaitu kalus yang bersifat embriogenik dan kalus non embriogenik. Perbandingan antara kalus yang bersifat embriogenik dan non embriogenik dapat dilihat pada Gambar



Gambar 4. Histologi perkembangan somatik embriogenesis pada tanaman anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*). A) PEM = proembrio. B) GE = embrio globular. C) SC = skutelar. D) CL = koleoptilar

5(A). Kalus yang bersifat embriogenik memiliki beberapa ciri diantaranya, bertekstur remah, nampak mengkilat dan berwarna putih kekuningan. Karakteristik kalus yang berwarna putih kekuningan menandakan bahwa sel-sel kalus tersebut sudah dewasa untuk menuju fase pembelahan aktif. Kalus non embriogenik pada Gambar 5(B) memiliki ciri-ciri kalus yang kompak, kalus nampak basah dan berwarna coklat hingga kehitaman menandakan bahwa kalus tersebut sulit bahkan tidak mampu untuk mengalami perkembangan selanjutnya (Mertaningsih *et al.*, 2018).



Gambar 5. Karakteristik kalus angrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*). Kalus non embriogenik (A), Kalus embriogenik (B). Kalus non embriogenik

Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dapat dipermudah dengan menggunakan bantuan buku pedoman *Munsell Color Chart For Plant Tissue* untuk membandingkan kecocokan warna kalus yang sesuai pada setiap perlakuannya. Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan warna pada masing-masing kalus pada tiap perlakuan. Karakteristik warna kalus dapat menandakan ada tidaknya kandungan klorofil di dalam jaringan tanaman. Kalus yang memiliki warna semakin dekat dengan warna hijau maka semakin banyak pula kandungan klorofil yang dihasilkan, sedangkan kalus yang berwarna putih hingga putih kekuningan sudah dikatakan sebagai jaringan embrionik dengan kandungan butiran pati yang tinggi (Muliati *et al.*, 2017).

Regenerasi Kalus

Kalus pada umur 3 minggu dalam media regenerasi kalus tampak berkembang menggerombol, lebih besar dan berwarna hijau segar seperti terlihat pada Gambar 6(A). Pada bagian koleoptil terlihat bagian yang berkembang

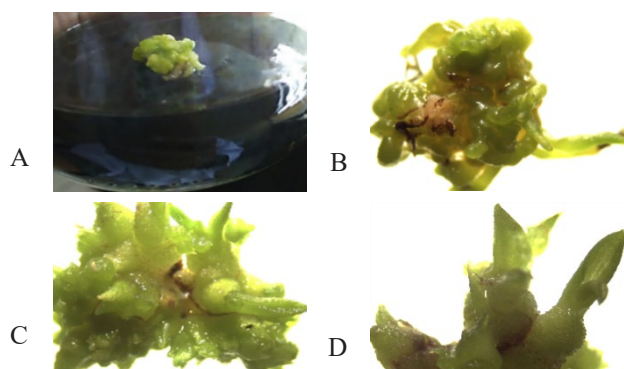
Tabel 1. Warna kalus pada tahap induksi hingga tahap proliferasi berdasarkan *Munsell Color Chart*

Perlakuan	Visual warna	Munsell color chart	Gambar kalus
B0N1		2.5 Y 8/2 Putih keabuan	
B0N2		2.5 Y 6/2 Kecoklatan	
B0N3		5 Y 8/4 Putih kekuningan	
B1N1		2.5 GY 7/4 Hijau muda	
B1N2		5 Y 7/6 Hijau kekuningan	
B1N3		2.5 GY 7/6 Hijau	
B2N1		5 Y 8/4 Putih kekuningan	
B2N2		2.5 Y 8/2 Putih keabuan	
B2N3		5 Y 8/4 Putih kekuningan	
B3N1		5 Y 8/6 Kuning kehijauan	
B3N2		5 Y 8/6 Kuning kehijauan	
B3N3		2.5 Y 8/2 Putih keabuan	

Keterangan: B0N1 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B0N2 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B0N3 = BA 0 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B1N1 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B1N2 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B1N3 = BA 0.025 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B2N1 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B2N2 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B2N3 = BA 0.05 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹, B3N1 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 1 mg L⁻¹, B3N2 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 2 mg L⁻¹, B3N3 = BA 0.1 mg L⁻¹ dan NAA 3 mg L⁻¹

memanjang seperti muncul bakal tunas seperti pada Gambar 6(B). Pada Gambar 6(C) terlihat kalus tersebut sudah mulai muncul tunas dan bakal daun dan dilanjutkan pada Gambar 6(D) terlihat bahwa bakal daun pada kalus sudah tumbuh dan berkembang sempurna menjadi tanaman lengkap.

Regenerasi dilakukan agar kalus dapat berkembang secara sempurna membentuk planlet. Pada hasil regenerasi kalus yang berwarna hijau dihasilkan dari adanya penambahan air kelapa pada media (Saepudin *et al.*, 2020). Penambahan bahan organik seperti air kelapa memiliki banyak kelebihan, diantaranya untuk mendorong laju pertumbuhan kalus, mampu meningkatkan pertumbuhan tunas, jumlah akar dan bobot pada planlet tanaman anggrek (Ambarwati *et al.*, 2021). Sumber nutrisi yang terkandung dalam air kelapa bermacam-macam, diantaranya asam organik, asam amino, vitamin, sumber gula dan hormon hormon auksin dan hormon sitokinin yang berpengaruh besar terhadap pertumbuhan eksplan kalus anggrek (Utami dan Hariyanto, 2020).



Gambar 6. Hasil regenerasi kalus embriogenik anggrek *Dendrobium* Hibrida (*D. lasianthera* x *D. antennatum*). (A) Kalus umur 3 minggu di dalam botol kultur (B) kalus umur 5 minggu yang diamati melalui mikroskop (C) kalus umur 8 minggu (D) kalus umur 14 minggu

KESIMPULAN

Perlakuan pemberian kombinasi BA 0.025 mg L⁻¹ + NAA 3 mg L⁻¹ pada media kultur memberikan respon terbaik dalam induksi kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) melalui somatik embriogenesis dengan rerata presentase pembentukan kalus sebesar 67%, dan waktu pembentukan kalus pada 14 hari setelah tanam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada UPT *Center for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember atas fasilitas penelitian yang

diberikan dan dana penelitian dari Program Pengembangan Usaha Produk Intelektual Kampus (PPUPIK) dengan nomor kontrak 1614/UN25.3.2/PM/2022 Tanggal 17 Maret 2022 atas nama Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyani, A. 2017. Membuat Tanaman Anggrek Rajin Berbunga. Publ. Agromedia Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Ambarwati, I.D., F.N. Alfian, P. Dewanti. 2021. Respon anggrek *Dendrobium sp.*, *Oncidium sp.*, dan *Phalaenopsis sp.* terhadap pemberian empat jenis nutrisi organik yang berbeda pada tahap regenerasi planlet. *Agricoltura* 32:27-36.
- Astuti, T.A. 2019. Induksi embriogenesis somatik pada anggrek *Vanda sumatrana Schltr.* dengan penambahan beberapa konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). *BIO. UA.* 7:6-13.
- Endang, G. L. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Agrobiogen* 7:63-68.
- Hardjo, P.H., Hartatie. 2018. Kultur Jaringan Anggrek Embriogenesis Somatik *Vanda tricolor (Lindl.)* var. *pallida*. *Graha Ilmu*, Yogyakarta, Indonesia.
- Hartati, S., A. Budiyono, O. Cahyono. 2016. Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur anggrek hasil persilangan *Dendrobium biggibum* x *Dendrobium liniale*. *J. Sustain. Agric.* 31:33-37.
- Herliana, O., E. Rokhminarsih, A. Iqbal, Kartini. 2019. Pelatihan pembibitan anggrek secara vegetatif, generatif dan kultur jaringan pada paguyuban mantan buruh migran “Seruni” Kabupaten Banyumas. *Logista* 3:2579-6283.
- Kasi, P.D., E. Semiarti. 2016. Pengaruh thidiazuron dan naphthalene acetic acid untuk induksi embriogenesis somatik dari daun anggrek *Phalaenopsis “Sogo Vivien”*. *Dinamika* 7:31-40.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Agrobiogen* 7:63-68.
- Mastuti, R. 2017. Dasar-dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. UB Press, Malang, Indonesia.
- Mertaningsih, N.P., H. Yuswanti, A.A.M. Astingsih. 2018. Induksi kalus pada kultur pollen *Phalaenopsis* dengan menggunakan asam 2,4D-Diklorofenoksiasetat. *Agrotrop* 8:47-55.

- Muliati, T., Nurhidayah, Nurbaiti. 2017. Pengaruh NAA, BAP dan kombinasinya pada media ms terhadap perkembangan *Sansevieria Makrophylla* secara in vitro. *Faperta*. 4:1-13.
- Prasetyo, Y., K. Njudan, H.M.P. Wibowo, A.H. Krisnawan. 2020. Evaluasi pertumbuhan suspensi sel *Dendrobium anosmum* var. *Gigantea* dan aktivitasnya sebagai antioksidan. *Pharmaceutica Indonesiana* 3:70-79.
- Purwanto, A.W., E. Semiarti. 2009. *Pesona Kecantikan Anggrek*. Kanisius, Yogyakarta, Indonesia.
- Puspita, C., Sudiarso, T. Wardiyati 2011. Pengaruh *benzyl adenin* dan media dasar pada perbanyakan embrio anggrek secara in vitro. *Buana Sains* 11:1-16.
- Rachmawati, F., N.M.A. Wiendi, N.A. Mattjik, A. Purwito, B. Winarto. 2016. Perbanyakan in vitro *Dendrobium* Indonesia Raya 'Ina' melalui embriogenesis somatik berbasis sistem bioreaktor. *J. Agron. Indonesia* 44:306-314.
- Restanto, D.P., B. Kriswanto, M.N. Khozim, S. Soeparjono. 2018. Kajian thidiazuron (TDZ) dalam induksi PLB anggrek *Phalaenopsis* sp secara in vitro. *Agritrop* 16:176-185.
- Rianawati, S. 2017. Ragam anggrek *Dendrobium* Indonesia yang berpotensi sebagai induk persilangan komersial. *Hortikultura* 13:27-32.
- Rofik. A. 2018. Peluang wirausaha budidaya anggrek *Dendrobium* hybrid. *Abdimas Mahakam* 2:2549-5755.
- Saepudin. A., Y. Yulianto, N. Aeni. 2020. Pertumbuhan eksplan in vitro anggrek hibrida *Dendrobium* pada beberapa media dasar dan konsentrasi air kelapa. *Media Pertanian* 5:2085-4226.
- Sulichantini. E., Eliyanti, A. Saputro, A.P.D. Nazari, SusyLOWATI. 2020. Pengaruh zat pengatur tumbuh dan bahan organik terhadap anggrek tebu *Grammatophyllum speciosum* Blume secara kultur jaringan. *Agrotek. Trop. Lembab* 4:13-19.
- Utami, E.S.W., Hariyanto, S. 2020. Organic compounds: contents and their role in improving seed germination and protocorm development in orchids. *Int. J. Agron.* 2020:1-12.
- Widayanti, A.I., R. DwiYani, H. Yuswanti. 2014. Pengaruh kombinasi *naphthalene acetic acid* (NAA) *benzyl amino purine* (BAP) dan jenis eksplan pada mikropropagasi anggrek *Vanda tricolor* Lindl. *Var. Suavis*. *Agrotrop* 4:1-16.
- Xiong, Y., X. Yang, T. Gao, T. Zhao, Z. Chen, X. An. 2018. High-efficiency somatic embryogenesis from seedlings of *Koelreuteria paniculata* Laxm. *Forest* 9:1-17.