

**PENGARUH KONSENTRASI NAA (*Naphthalene Acetic Acid*)  
DAN BAP (*Benzyl Aminopurine*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
TUNAS ANGGREK HITAM (*Coelogyne pandurata*) PADA  
MEDIA MS**

**S K R I P S I**

**Oleh:**

**DANDY FARHANSYAH**

**NPM: 2104290124**

**Program Studi: AGROTEKNOLOGI**



**UMSU**

Unggul | Cerdas | Terpercaya

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
MEDAN  
2025**

**PENGARUH KONSENTRASI NAA (*Naphthalene Acetic Acid*)  
DAN BAP (*Benzyl Aminopurine*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
TUNAS ANGGREK HITAM (*Coelogyne pandurata*) PADA  
MEDIA MS**

**SKRIPSI**

Oleh:

**DANDY FARHANSYAH**  
NPM: 2104290124  
Program Studi: AGROTEKNOLOGI

Disusun Sebagai Salah Satu Syarat untuk menyelesaikan Strata 1 pada  
Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Komisi Pembimbing :



Ir. Wizni Fadhillah, M.Agr

Disahkan Oleh:



Assoc. Prof. Dr. Dafni Mawar Tarigan, S.P., M.Si

Tanggal Lulus : 25 Agustus 2025

## PERNYATAAN

Dengan ini saya :

Nama : Dandy Farhansyah  
NPM : 2104290124

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi dengan judul Pengaruh Konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) terhadap Pertumbuhan Tunas Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*) pada Media MS adalah berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri. Jika terdapat karya orang lain, saya akan mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya penjiplakan (plagiarisme), maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Medan, Juli 2025  
Yang menyatakan



Dandy Farhansyah

## RINGKASAN

Dandy Farhansyah, “Pengaruh Konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) terhadap Pertumbuhan Tunas Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*) pada Media MS” Dibimbing oleh : Ir. Wizni Fadhillah, M.Agr. Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Alifa Agricultural Research Center (ALIFA-ARC), Jl. Brigjend Katamso No. 454/51C, Kel.Kampung Baru, Kec. Medan Maimun, Kota Medan. Pada bulan April sampai Juni 2025. Tujuan penelitian Untuk mengetahui pertumbuhan tunas anggrek hitam dengan pemberian konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) secara *in vitro* dan mendapatkan konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) yang tepat dalam menghasilkan tunas terbanyak. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama pemberian konsentrasi NAA yaitu: N<sub>0</sub>: Kontrol, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub> : 1,5 mg/l dan N<sub>3</sub>: 2.5 mg/l, faktor kedua pemberian BAP yaitu : B<sub>0</sub>: Kontrol, B<sub>1</sub> :0,5 mg/l, B<sub>2</sub>: 1,5 mg/l dan B<sub>3</sub>: 2,5 mg/l. Terdapat 16 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali menghasilkan 48 eksplan, jumlah eksplan per perlakuan adalah 1 eksplan, jumlah eksplan seluruhnya adalah 96 eksplan. Parameter yang diamati adalah persentasi eksplan hidup (%), persentase eksplan terkontaminasi (%), tinggi tunas (mm), jumlah tunas (unit), dan jumlah akar (unit). Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji beda rata-rata menurut Duncan’s Multiple range Test (DMRT) pada  $\alpha$  1%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) berpengaruh nyata pada parameter pengamatan jumlah tunas dan jumlah akar. Perlakuan BAP (*Benzyl Aminopurine*) memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada umur 8 MST, interaksi perlakuan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) tidak berpengaruh nyata pada semua parameter yang diukur.

## SUMMARY

Dandy Farhansyah, "The Effect of NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (Benzyl Aminopurine) Concentrations on the Growth of Black Orchid Shoots (*Coelogyne pandurata*) on MS Media" Supervised by: Ir. Wizni Fadhillah, M.Agr. The research was conducted at the Alifa Agricultural Research Centre (ALIFA-ARC) culture laboratory at the Alifa Agricultural Research Centre (ALIFA-ARC), Jl. Brigjend Katamso No. 454/51C, Kelurahan Kampung Baru, Kecamatan Medan Maimun, Kota Medan. From April to June 2025. The objective of the study was to determine the growth of black orchid shoots with the application of NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (Benzyl Aminopurine) concentrations *in vitro* and to obtain the appropriate concentrations of NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (Benzyl Aminopurine) for producing the highest number of shoots. The study used a completely randomised design (CRD) factorial design consisting of two factors and three replications. The first factor was the application of NAA concentrations:  $N_0$ : Control,  $N_1$ : 0.5 mg/l,  $N_2$ : 1.5 mg/l, and  $N_3$ : 2.5 mg/l. The second factor was the application of BAP:  $B_0$ : Control,  $B_1$ : 0.5 mg/l,  $B_2$ : 1.5 mg/l, and  $B_3$ : 2.5 mg/l. There were 16 treatment combinations repeated three times, resulting in 96 explants, with 1 explant per treatment and a total of 96 explants. The observed parameters were the percentage of live explants (%), the percentage of contaminated explants (%), shoot height (mm), number of shoots (units), and number of roots (units). The observation data were analysed using Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at  $\alpha$  5%. The results of the study showed that the NAA (Naphthalene Acetic Acid) treatment had a significant effect on the observed parameters of shoot number and root number. The BAP (Benzyl Aminopurine) treatment had a significant effect on shoot number at 8 WAP, while the interaction between NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (Benzyl Amino Purine) treatment had no significant effect on all measured parameters.

## **RIWAYAT HIDUP**

Dandy Farhansyah, dilahirkan pada tanggal 11 Januari 2002 di Lingkungan v Tanah Lapang, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Provinsi Sumatera Utara. Anak terakhir dari 4 bersaudara dari pasangan Ayahanda Zulkan dan Ibunda Sulaseh.

Pendidikan yang telah ditempuh adalah sebagai berikut :

1. Tahun 2008 telah menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) Raudhatul Mahabbah, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara.
2. Tahun 2014 telah menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 102071, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara.
3. Tahun 2017 telah menyelesaikan pendidikan Sekolah Madrasah Tsanawiyah (MTS) Darul Arafah, Kecamatan Kutalimbaru, Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatera Utara.
4. Tahun 2020 telah menyelesaikan pendidikan Sekolah Madrasah Aliyah (MA) Darul Arafah, Kecamatan Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatera Utara
5. Tahun 2020 telah menyelesaikan Pendidikan di pondok pesantren Darul Arafah Raya, Desa Lau Bakeri, Kecamatan Kutalimbaru, Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatera Utara.
6. Tahun 2021 melanjutkan pendidikan Strata 1 (S1) Pada Program Studi Agroteknologi di Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Kegiatan yang pernah diikuti selama menjadi mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (UMSU) antara lain :

1. Mengikuti Masa Perkenalan Kehidupan Kampus Mahasiswa Baru (PKKMB) yang dilaksanakan secara online baik Kolosal dan Fakultas 2021.
2. Mengikuti Masa Ta'aruf (MASTA) Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah Kolosal dan Fakultas yang dilakukan secara online 2021.
3. Mengikuti kegiatan Kajian Intensif Al-Islam dan Kemuhammadiyah (KIAM) oleh Badan Al-Islam dan Kemuhammadiyah (BIM) secara online tahun 2021.
4. Menjadi Asisten Praktikum mata kuliah Budidaya Tanaman Umbi dan Kacang pada tahun ajaran 2023 genap/2024 ganjil, dan Asisten Praktikum Budidaya Tanaman Obat dan Rempah pada tahun ajaran 2024/2025.
5. Melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di P. T. PERKEBUNAN NUSANTARA IV, Tbk., Desa Orika, Kecamatan Pulau Rakyat, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara pada bulan Agustus tahun 2024.
6. Melaksanakan Kegiatan KKN (Kuliah Kerja Nyata) UMSU 2024 di Desa Sei Merah, Kecamatan Tanjung Morawa, Kabupaten Deli Serdang.
7. Mengikuti Ujian *Test of English as a Foreign Language* (TOEFL) di Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara 2025.
8. Melaksanakan penelitian dan praktik skripsi di laboratorium kultur jaringan Alifa Agricultural Research Center (ALIFA-ARC), Jl. Brigjend Katamso No. 454/51C, Kel.Kampung Baru. Medan Maimun, Kota Medan. pada bulan April-Juni 2025.

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan nikmat Kesehatan dan kemudahan bagi penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi penelitian ini. Tidak lupa pula penulis haturkan shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW. Adapun judul proposal penelitian ini adalah **“Pengaruh Konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) terhadap Pertumbuhan Tunas Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*) pada Media MS”**.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Assoc. Prof. Dr. Dafni Mawar Tarigan, S.P., M.Si selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Ibu Prof. Dr. Wan Arfiani Barus, M.P. selaku Wakil Dekan I Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. Bapak Dr. Akbar Habib, S.P., M.P. selaku Wakil Dekan III Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. Ibu Assoc. Prof. Dr. Aisar Novita, S.P., M.P. selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
5. Ibu Rini Susanti, S.P., M.P. selaku Sekretaris Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
6. Ibu Ir. Wizni Fadhillah, M.Agr. selaku Ketua Komisi Pembimbing Skripsi.
7. Kedua orang tua penulis yang telah memberikan dukungan penuh kepada penulis dalam menyelesaikan proposal penelitian ini baik moral maupun material.
8. Seluruh Staf Biro Administrasi, Karyawan dan Civitas Akademika Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
9. Bapak Muhammad Iqbal Haitam dan Kakak Ainun selaku pembimbing selama melakukan penelitian di laboratorium kultur jaringan yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan serta membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

10. Seluruh teman-teman seperjuangan khususnya Dini Rahma Sari seseorang yang saya kenal pada saat melakukan kegiatan PKL dan telah memberikan motivasi dan dukungan kepada saya untuk tetap kuat dan semangat.

Akhir kata penulis mengharapkan saran dan masukan dari semua pihak demi kesempurnaan proposal penelitian ini.

Medan, Maret 2025

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	i
<b>SUMMARY</b> .....	ii
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>PENDAHULUAN</b> .....	1
Latar Belakang .....	1
Tujuan Penelitian .....	3
Kegunaan Penelitian.....	3
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
Botani Tanaman Anggrek Hitam ( <i>Coelogyne pandurata</i> ).....	5
Morfologi Tanaman .....	5
Akar .....	6
Batang .....	6
Daun .....	6
Bunga .....	7
Perbanyakan Tanaman Secara <i>In Vitro</i> .....	7
Media Kultur <i>In Vitro</i> .....	8
Peranan NAA ( <i>Naphthalene Acetic Acid</i> ).....	9
Peranan BAP ( <i>Benzly Aminopurin</i> ).....	10
Hipotesis Penelitian.....	10
<b>BAHAN DAN METODE</b> .....	12
Tempat dan Waktu.....	12
Bahan dan Alat .....	12
Metode Penelitian .....	12
Metode Analisis Data .....	13

Pelaksanaan Penelitian .....	14
Sterilisasi Alat dan Bahan .....	14
Pembuatan Media .....	14
Penyediaan Larutan NAA dan BAP.....	15
Sterilisasi <i>Laminar Airflow Cabinet</i> .....	16
Kultur Inisiasi Eksplan Anggrek Hitam.....	16
Peletakan Kultur Dalam Inkubasi .....	17
Parameter Pengamatan .....	17
Persentase Eksplan Hidup (%).....	17
Persentase Eksplan Terkontaminasi (%) .....	17
Tinggi Tunas (mm) .....	18
Jumlah Tunas (unit).....	18
Jumlah Akar (unit) .....	18
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	19
<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	38
<b>LAMPIRAN</b> .....	41

## DAFTAR TABEL

<b>Nomor</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Persentase Eksplan Hidup.....	19
2.	Persentase Eksplan Terkontaminasi .....	22
3.	Tinggi Tunas Eksplan pada Perlakuan NAA dan BAP pada Umur 8 MST.....	23
4.	Jumlah Tunas Eksplan pada Perlakuan NAA dan BAP pada Umur 2, 4, 6 dan 8 MST.....	26
5.	Jumlah Akar Eksplan pada Perlakuan NAA pada Umur 8 MST ..	31

## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomor</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Tanaman Anggrek Hitam ( <i>Coelogyne pandurata</i> ) .....	5
2.	Eksplan Hidup Tanaman Anggrek Hitam.....	21
3.	Eksplan Anggrek Hitam Terkontaminasi.....	24
4.	Tinggi Tunas Tanaman Anggrek Hitam .....	26
5.	Hubungan Jumlah Tunas Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan NAA Umur 6 MST .....	29
6.	Jumlah Tunas Tanaman Anggrek Hitam.....	30
7.	Hubungan Jumlah Tunas Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan BAP Umur 8 MST .....	31
8.	Hubungan Jumlah Akar Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan NAA Umur 8 MST .....	34
9.	Jumlah Akar Tanaman Anggrek Hitam .....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Komposisi Media MS ( <i>Murashige and Skoog</i> ).....	41
2.	Bagan Penelitian.....	44
3.	Bagan Tanaman Sampel.....	45
4.	Tinggi Tunas Anggrek Hitam 8 MST .....	46
5.	Daftar Sidik Ragam Tinggi Tunas Anggrek Hitam 8 MST .....	46
6.	Jumlah Tunas Anggrek Hitam 2 MST .....	47
7.	Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 2 MST .....	47
8.	Jumlah Tunas Anggrek Hitam 4 MST .....	48
9.	Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 4 MST .....	48
10.	Jumlah Tunas Anggrek Hitam 6 MST .....	49
11.	Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 6 MST .....	49
12.	Jumlah Tunas Anggrek Hitam 8 MST .....	50
13.	Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 8 MST .....	50
14.	Jumlah Akar Anggrek Hitam 8 MST .....	51
15.	Daftar Sidik Ragam Jumlah Akar Anggrek Hitam 8 MST .....	51

# PENDAHULUAN

## Latar Belakang

Famili Orchidaceae atau lebih dikenal dengan anggrek memiliki keragaman yang sangat besar, mencakup sekitar 25.000 hingga 30.000 spesies, setara dengan 10% dari total tanaman berbunga di dunia. Di antara berbagai jenis tersebut, anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) merupakan salah satu spesies langka dan endemik yang keberadaannya hanya terbatas di beberapa daerah di Kalimantan. Spesies ini tidak hanya memiliki nilai estetika, tetapi juga bernilai ekonomi tinggi, sehingga menjadikannya sebagai salah satu tanaman hias yang banyak diminati. Akan tetapi, anggrek hitam termasuk kategori tanaman yang dilindungi karena populasinya semakin terancam. Kerusakan habitat akibat penebangan hutan, perubahan fungsi lahan, serta kebakaran yang sering melanda kawasan hutan tropis merupakan faktor utama penyebab penurunan jumlah populasi. Selain itu, kegiatan eksploitasi yang dilakukan secara berlebihan di alam tanpa adanya kontrol yang ketat semakin memperparah kondisi. Jika situasi tersebut tidak diimbangi dengan upaya konservasi yang serius, maka keberlangsungan hidup anggrek hitam dapat terancam hingga ke tingkat kepunahan (Nurfadilah *dkk.*, 2018).

Keistimewaan anggrek ini terletak pada aromanya yang selalu harum serta bentuk bunganya yang khas. Bibir bunga terdiri dari tiga belahan, dua di antaranya berukuran lebih pendek, sedangkan belahan tengah berbentuk menyerupai biola dengan ujung berkerut dan tepian keriting berwarna hitam pekat. Diameter bunganya relatif kecil, tidak melebihi 10 cm, dengan kelopak yang meruncing berwarna hijau muda. Ciri pembeda dari spesies ini dibandingkan jenis anggrek lainnya adalah daya tahannya yang singkat, hanya mampu segar selama kurang

lebih tiga hari. Setelah itu, bunga biasanya menunjukkan tanda perubahan, yakni kelopak daun mulai menguning, meskipun bagian tengah atau lidah bibir tetap mempertahankan warna hitam pekatnya (Sari, 2019).

Selain faktor eksternal berupa kerusakan habitat akibat penebangan hutan dan alih fungsi lahan, keberadaan anggrek hitam juga dipengaruhi oleh faktor internal. Salah satunya adalah masa mekar bunganya yang sangat singkat sehingga cepat layu, serta tingkat kesulitan dalam melakukan persilangan. Permasalahan tersebut dapat diatasi melalui metode kultur in vitro. Teknik perbanyakan anggrek dengan kultur jaringan dipandang efektif karena memiliki sejumlah keunggulan, antara lain kemampuan memperbanyak eksplan dalam waktu singkat, menghasilkan tanaman dengan keseragaman genetik, kondisi pertumbuhan yang aseptik dan bebas patogen, kemudahan dalam seleksi, ketersediaan stok tanaman mikro yang dapat diperbanyak kapan saja, serta lingkungan yang terkendali. Selain itu, metode ini juga mendukung pelestarian plasma nutfah, memungkinkan produksi tanaman sepanjang tahun, dan efektif untuk memperbanyak tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara vegetatif konvensional (Lestari dan Deswiniyanti, 2015).

Dalam proses kultur jaringan anggrek terdapat beberapa tahapan utama, dimulai dari sterilisasi bahan tanam berupa eksplan (baik biji maupun bagian vegetatif), dilanjutkan dengan tahap perkecambahan biji hingga terbentuk *protocorm* atau *Protocorm Like Bodies* (PLBs), kemudian tahap multiplikasi dan regenerasi planlet, pengakaran, serta aklimatisasi. Dari tahapan tersebut, multiplikasi tunas merupakan langkah yang sangat krusial dalam memperbanyak anggrek melalui kultur jaringan. Media *Murashige dan Skoog* (MS) merupakan

salah satu media yang paling banyak diaplikasikan dalam kultur *in vitro*. Melalui teknik ini, anggrek hitam dapat diperbanyak dalam jumlah besar, menghasilkan individu yang secara genetik serupa dengan tanaman induknya, dan tidak bergantung pada kondisi musim (Kartiman *dkk.*, 2018).

Keberhasilan teknik kultur jaringan tidak hanya dipengaruhi oleh kondisi media dan lingkungan, tetapi juga sangat ditentukan oleh pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT). Pemilihan jenis dan konsentrasi ZPT dalam kultur jaringan bergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang ingin dicapai. Dua jenis ZPT yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin. Auksin berperan dalam meningkatkan sintesis protein, dan dengan meningkatnya protein, maka ketersediaan energi untuk mendukung pertumbuhan jaringan juga bertambah. Salah satu jenis auksin yang umum digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*). Sementara itu, BAP (*Benzyl Aminopurine*) merupakan salah satu sitokinin yang berfungsi penting dalam mengatur pembelahan sel serta proses morfogenesis. Berdasarkan penelitian Maghfirah *dkk.*, (2024), kombinasi perlakuan NAA 2 mg/l dengan BAP 2 mg/l mampu menghasilkan jumlah tunas terbanyak pada eksplan anggrek *Dendrobium*. Secara umum, pemberian auksin dan sitokinin secara bersamaan dapat menimbulkan interaksi yang berpengaruh terhadap diferensiasi jaringan (Sulichantini *dkk.*, 2021).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk memperbanyak anggrek hitam dengan konsentrasi NAA dan BAP secara *In vitro* agar mendapatkan komposisi yang mampu meningkatkan produksi anggrek hitam.

### **Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui pertumbuhan tunas anggrek hitam dengan pemberian konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) secara *In vitro* dan mendapatkan konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) yang tepat dalam menghasilkan tunas terbanyak.

### **Kegunaan Penelitian**

1. Multiplikasi tunas secara *In vitro* pada variasi konsentrasi NAA dan BAP yang dijadikan sebagai pembelajaran dalam perbanyakan tanaman anggrek hitam.
2. Sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pertanian (S1) pada Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. Sebagai bahan informasi bagi pihak-pihak yang membutuhkan dan dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut mengenai penelitian ini.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Botani Tanaman Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*)

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat luas, mulai dari tumbuhan berkayu hingga tanaman epifit, termasuk berbagai jenis anggrek. Salah satu anggrek khas yang berasal dari Kalimantan adalah anggrek hitam, yang penyebarannya terdapat di kawasan hutan Kalimantan Barat. Keunikan anggrek ini terletak pada adanya pola berwarna hitam pada bagian bibir bunga, yang tampak dari bagian belakang hingga ke bagian dalam bunganya (Serliana *dkk.*, 2017).

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Liliopsida  
Ordo : Orchidales  
Famili : Orchidaceae  
Genus : *Coelogyne*  
Spesies : *Coelogyne pandurata* Lindl



Gambar 1. Tanaman Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata*)

## **Morfologi Tanaman Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*)**

### **Akar**

Jenis anggrek hitam tergolong epifit, yaitu tumbuhan yang menempel pada pohon, dengan tipe pertumbuhan simpodial. Sistem perakarannya memiliki lapisan velamen berdaging yang berfungsi sebagai penyerap sekaligus penyimpan air. Akar yang menggantung di udara bersifat fungsional, sedangkan akar yang melekat pada media atau substrat hanya berperan mempertahankan posisi tanaman agar tetap kokoh. Anggrek epifit hidup dengan menempel pada tumbuhan lain (menempel pada pohon). Akar anggrek umumnya berbentuk silinder, berdaging, dan berlapis velamen. Velamen adalah jaringan epidural spons yang berfungsi untuk menyerap air dan nitrogen dari udara (Alifia *dkk.*, 2024).

### **Batang**

Istilah *pseudobulb* digunakan untuk menyebut batang anggrek karena bentuknya masih berupa batang semu dan tidak tampak seperti batang sejati. Fungsi utama bagian ini adalah menyimpan persediaan makanan bagi tanaman. Batang anggrek epifit umumnya beruas-ruas, menebal, dan terlindungi lapisan lilin. Batang anggrek epifit juga bisa berdaging seluruhnya atau menebal di bagian tertentu. Batang anggrek epifit terlindungi lapisan lilin untuk mencegah penguapan berlebihan (Risidiana *dkk.*, 2023).

### **Daun**

Sebagai flora khas Kalimantan Timur, anggrek hitam memiliki daun berbentuk lonjong panjang berwarna hijau. Ukuran daunnya sekitar 40-50 cm untuk panjang dan 2-10 cm untuk lebar. Tulang daunnya tersusun sejajar, sesuai dengan

karakteristik daun monokotil, dan terkadang mengalami penebalan yang berperan sebagai tempat penyimpanan air (Sasongko, 2019).

### **Bunga**

Morfologi bunga merupakan bagian yang paling menonjol dari anggrek. Bunganya harum, berbentuk majemuk dengan tangkai sepanjang kurang lebih 40 cm yang menjuntai, terdiri atas 6-14 kuntum, masing masing berdiameter sekitar 10cm. Warna dasar bunganya hijau muda, kelopak berbentuk runcing, dan bibir bunga berbentuk seperti biola dengan tiga gelambir berwarna hitam. Pada bagian sisinya terlihat gelombang kecil, sementara bagian tengah dipenuhi bercak bercak hitam dengan dasar hijau. Umur mekar bunga hanya 5-6 hari. Anggrek termasuk bunga sempurna karena memiliki tiga kelopak, tiga petal, serta putik dan benang sari yang terletak pada posisi yang sama (Lestari *dkk.*, 2022).

### **Perbanyak Tanaman Secara *In Vitro***

Budidaya jaringan tanaman melalui pendekatan bioteknologi dilakukan secara *in vitro* dan memiliki kesetaraan dengan metode budidaya konvensional. Dalam kultur jaringan, eksplan berupa bagian tanaman, jaringan, atau sel ditanam pada media *in vitro* untuk mencapai tujuan tertentu. Teknik ini merupakan cara mengisolasi bagian tanaman, misalnya protoplas, sel, jaringan, atau organ yang kemudian ditumbuhkan dalam kondisi steril sehingga mampu beregenerasi dan membentuk tanaman baru yang lengkap. Prinsip utamanya adalah memperbanyak tanaman dengan memanfaatkan organ vegetatif melalui media buatan dalam keadaan aseptik (Sandi *dkk.*, 2022).

Metode kultur jaringan pada tanaman dilakukan dengan mengisolasi komponen tanaman, baik berupa protoplasma, sel, jaringan, maupun organ seperti

daun, batang, akar, mata tunas, hingga meristem. Bagian-bagian tersebut kemudian dikulturkan dalam kondisi steril pada media buatan, sehingga dapat memperbanyak diri dan berkembang menjadi tanaman sempurna. Dalam teknik ini, dua jenis ZPT yang memiliki peran penting adalah sitokinin dan auksin. Arah perkembangan kultur sangat ditentukan oleh keseimbangan dan interaksi antara ZPT yang terdapat dalam media dengan ZPT pengaruh tumbuh yang dihasilkan sel secara alami, sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan maupun proses morfogenesis (Fauziah *dkk.*, 2021).

### **Media Kultur *In Vitro***

Kultur jaringan umumnya menggunakan media dasar *Murashige and Skoog* (MS), yang dilengkapi dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa auksin dan sitokinin. Kedua ZPT tersebut sangat penting karena dapat memicu berbagai reaksi biokimia di dalam tanaman sekaligus mengubah komposisinya, yang pada akhirnya memengaruhi pembentukan organ-organ tanaman seperti tunas, akar, daun, dan bunga. Di antara ZPT yang sering digunakan ialah *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) sebagai auksin dan *Benzyl Aminopurine* (BAP) sebagai sitokinin. Auksin umumnya berperan dalam merangsang pembentukan akar, sedangkan sitokinin lebih banyak memicu proliferasi tunas aksilar (Pratama *dkk.*, 2022).

Perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah media tumbuh selain faktor lingkungan. Setiap media memiliki formulasi tersendiri yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikultur. Media tersebut dapat berupa padat maupun cair; untuk media padat biasanya digunakan agar-agar atau gelrite (Hartati *dkk.*, 2016). Pada tahap multiplikasi, dibutuhkan media dalam jumlah banyak agar

tanaman dapat diperbanyak secara massal. Media MS merupakan salah satu media dasar yang umum digunakan, meskipun pada praktiknya sering dimodifikasi dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) baik dari sumber organik maupun anorganik, sehingga mampu menghasilkan banyak tunas dalam waktu singkat. Sitokinin dan auksin menjadi dua kelompok ZPT yang paling sering diaplikasikan, dengan komposisi sitokinin biasanya lebih tinggi daripada auksin dalam media multiplikasi untuk merangsang pembentukan tunas. Seluruh proses regenerasi, baik pembentukan tunas maupun akar, dikontrol secara hormonal melalui jalur organogenesis atau morfogenesis oleh kedua ZPT tersebut (Rohman *dkk.*, 2023).

Proses kultur jaringan menuntut ketelitian tinggi, baik dalam pemakaian alat maupun bahan. Selain aspek tersebut, kesuksesan kultur jaringan juga ditentukan oleh keakuratan dalam menyusun komposisi media tanam. Unsur penting dalam komposisi media adalah jenis serta proporsi zat pengatur tumbuh yang dipakai, khususnya terkait kombinasi dan konsentrasinya (Alqamari *dkk.*, 2020).

### **Peranan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*)**

Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuh, sebab jenis serta konsentrasi yang diberikan berperan langsung terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Auksin dan sitokinin merupakan dua contoh ZPT yang paling sering digunakan dalam teknik ini. Pemberian auksin maupun sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan kadar ZPT endogen di dalam sel, sehingga bertindak sebagai pemicu dalam proses pertumbuhan jaringan. Untuk merangsang pembentukan tunas, dosis auksin dan sitokinin eksogen dapat dimanipulasi (Mawaddah *dkk.*, 2021).

Berbagai mekanisme fisiologi tanaman dikendalikan oleh auksin, seperti pemanjangan sel, respon fototropik, gravitropisme, dominansi pucuk apikal, pembentukan akar, sintesis etilen, perkembangan buah, diferensiasi jenis kelamin, hingga pengendalian gulma. NAA (Naphthalene Acetic Acid) termasuk auksin sintetik yang memiliki peranan penting dalam proses perakaran, dan secara luas digunakan untuk merangsang terbentuknya akar adventif. Keunggulan NAA antara lain lebih stabil, tahan terhadap oksidasi enzimatis, tidak mudah terurai, serta harganya relatif lebih murah (Lailatussoimah *dkk.*, 2014).

### **Peranan BAP (*Benzly Aminopurin*)**

Sitokinin dikenal sebagai senyawa organik yang berperan penting dalam memicu sitokinesis atau pembelahan sel, serta turut memengaruhi berbagai proses fisiologi tanaman, terutama dalam aspek perbanyakan sel. Benzyl Amino Purin (BAP) merupakan salah satu jenis sitokinin sintesis yang memiliki berat molekul 225,26 dengan rumus molekul  $C_{12}H_{11}N_5$ . BAP adalah turunan adenin yang tersubstitusi pada posisi ke-6 dan terbukti memiliki aktivitas paling tinggi dibandingkan turunan lainnya. Senyawa ini berfungsi utama dalam merangsang pembelahan sel sekaligus mendorong pertumbuhan tunas (Purita *dkk.*, 2017).

*Benzyl Aminopurin* (BAP) berperan dalam mendukung pembentukan tunas aksilar pada tanaman dengan cara menekan dominansi apikal yang dipengaruhi oleh aktivitas auksin endogen pada eksplan. Di antara berbagai jenis sitokinin, BAP menjadi pilihan yang paling umum digunakan karena efektivitasnya dalam menginduksi pertumbuhan tunas aksilar (Nuraini *dkk.*, 2022). Sebagai salah satu golongan sitokinin, BAP mampu merangsang pembelahan sel, proliferasi pucuk, serta pembentukan morfologi pucuk. Keunggulan lain dari BAP adalah sifatnya

yang stabil dan tidak mudah terurai oleh pemanasan selama proses sterilisasi, sehingga menjadikannya sangat efektif digunakan pada kultur jaringan (Nisa *dkk.*, 2021).

### **Hipotesis Penelitian**

1. Ada pengaruh berbagai konsentrasi NAA terhadap pertumbuhan tunas Anggrek Hitam secara *in vitro*.
2. Ada pengaruh berbagai konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tunas Anggrek Hitam secara *in vitro*.
3. Ada pengaruh interaksi dari kombinasi konsentrasi NAA dan konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tunas Anggrek Hitam secara *in vitro*.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Tempat dan Waktu**

Penelitian telah dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Alifa Agricultural Research Center (ALIFA-ARC), Jl. Brigjend Katamso No. 454/51C, Kel.Kampung Baru. Medan Maimun, Kota Medan. Penelitian mulai bulan April sampai Juni 2025.

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah planlet anggrek hitam, BAP (*Benzly Amino Purin*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), MS (*Murishage and skoog*), sukrosa, agar, myo- Inositol, NaOH, HCl, alkohol 70%, air aquades, tisu dan masker.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari cawan petri, gelas ukur, botol kultur, bulb, pipet volume, alat-alat diseksi (pinset, pisau bedah dan scalpel), autoklaf, LAFC, lampu bunsen, penyemprot alkohol (sprayer), pH meter, plastic wrap, kertas koran, timbangan analitik, panci pemanas, kompor gas, spatula, magnetic stirrer, jangka sorong, kertas label dan alat tulis.

### **Metode Penelitian**

Penelitian menggunakan Racangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor dan 3 ulangan yaitu:

1. Faktor pemberian NAA terdiri dari 4 taraf, yaitu:

$N_0$  = Tanpa Hormon (Kontrol)

$N_1$  = 0,5 mg/l

$N_2$  = 1,5 mg/l

$N_3$  = 2,5 mg/l (Maghfirah *dkk.*, 2024)

2. Faktor pemberian BAP terdiri dari 4 taraf, yaitu:

$B_0$  = Tanpa Hormon (Kontrol)

$B_1$  = 0,5 mg/l

$B_2$  = 1,5 mg/l

$B_3$  = 2,5 mg/l (Maghfirah *dkk.*, 2024)

Jumlah kombinasi perlakuan  $4 \times 4 = 16$  kombinasi perlakuan, yaitu :

$N_0B_0$	$N_1B_0$	$N_2B_0$	$N_3B_0$
$N_0B_1$	$N_1B_1$	$N_2B_1$	$N_3B_1$
$N_0B_2$	$N_1B_2$	$N_2B_2$	$N_3B_2$
$N_0B_3$	$N_1B_3$	$N_2B_3$	$N_3B_3$

Jumlah ulangan : 3 ulangan

Jumlah perlakuan : 16 kombinasi perlakuan

Jumlah eksplan per perlakuan : 1 eksplan

Jumlah eksplan seluruhnya : 96 eksplan

Jumlah eksplan sampel per perlakuan: 2 eksplan

Jumlah eksplan sampel seluruhnya : 96 eksplan

### Metode Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varians dan dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menurut Duncan (DMRT)  $\alpha$  5% mengikuti persamaan linear

Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial sebagai berikut:

$$Y_{jk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \epsilon_{jk}$$

Keterangan :

$Y_{jk}$  : Hasil pengamatan pada perlakuan factor  $\alpha$  taraf ke-j dan perlakuan faktor  $\beta$  taraf ke-k

$\mu$  : Nilai tengah umum

$\alpha_j$  : Pengaruh perlakuan faktor  $\alpha$  taraf ke-j

$\beta_k$  : Pengaruh perlakuan faktor  $\beta$  taraf ke-k

$(\alpha\beta)_{jk}$  : Pengaruh interaksi perlakuan faktor  $\alpha$  taraf ke-j dan perlakuan faktor taraf  $\beta$  ke-k

$\epsilon_{jk}$  : Pengaruh galat pada perlakuan faktor taraf  $\alpha$  ke-j dan perlakuan faktor  $\beta$  taraf ke-k

### **Pelaksanaan Penelitian**

#### **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat penelitian, termasuk seperangkat instrumen bedah seperti pinset, pisau bedah, dan pisau, bersama dengan cawan serta cawan petri, terlebih dahulu dibersihkan secara menyeluruh menggunakan deterjen kemudian disiram menggunakan air mengalir. Kemudian, alat-alat tersebut dibungkus dengan plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama satu jam. Sementara itu, bahan penelitian berupa air suling steril dimasukkan ke dalam botol kultur, ditutup rapat menggunakan plastik dan aluminium foil, lalu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama satu jam.

#### **Pembuatan Media**

Media MS dibuat dengan mencampurkan komponen sesuai komposisi yang telah ditentukan, termasuk larutan stok 1, 2, 3, dan 4 sesuai kebutuhan. Proses dimulai dengan menambahkan 20 ml larutan stok 1, diikuti oleh 0,2 ml larutan stok 2, kemudian masing-masing 2 ml larutan stok 3 dan 4. Selanjutnya, larutan ZPT, 2,4-D, dan BAP dicampurkan berdasarkan dosis perlakuan yang telah ditentukan. Dalam langkah berikutnya, ditimbang 0,2 gram myo-inositol, 6 gram sukrosa, dan

0,7 gram agar menggunakan gelas ukur. Myo-inositol dan sukrosa dilarutkan dalam gelas kimia dengan bantuan hotplate hingga larut sepenuhnya, kemudian pH larutan diatur hingga mencapai 5,6. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke panci pemanas, dicampur dengan agar, dan dipanaskan hingga mendidih sebelum dituangkan ke dalam botol. Setelah media mendingin, botol ditutup menggunakan plastik dan karet, lalu disterilisasi dalam autoklaf pada tekanan 17,5 Psi dan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi disimpan dengan baik di ruang kultur hingga siap digunakan untuk budidaya eksplan.

### **Penyediaan Larutan NAA dan BAP**

Untuk membuat larutan BAP dan NAA, perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah BAP dan NAA yang dibutuhkan sesuai perlakuan, menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

$M_1$  : Konsentrasi larutan awal

$V_1$  : Volume larutan stok yang akan dibuat

$M_2$  : Konsentrasi larutan yang diperlukan

$V_2$  : Volume larutan yang akan dibuat

Perhitungan konsentrasi BAP dan NAA dilakukan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi BAP (B}_1\text{: 0,5 mg/l)} & : M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \\ & : 100 \cdot V_1 = 0,5 \cdot 180\text{ml} \\ & : V_1 = 0,9\text{ml} \end{aligned}$$

$$\text{(B}_2\text{ : 1,5 mg/l) : 2,7 ml}$$

$$\text{(B}_3\text{ : 2,5 mg/l) : 4,5 ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi NAA (N}_1\text{: 0,5 mg/l)} & : M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \\ & : 100 \cdot V_1 = 0,5 \cdot 180\text{ml} \\ & : V_1 = 0,9\text{ml} \end{aligned}$$

$$(N_2 : 1,5 \text{ mg/l}) : 2,7 \text{ ml}$$

$$(N_3 : 2,5 \text{ mg/l}) : 4,5 \text{ ml}$$

### **Sterilisasi LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*)**

LAFC adalah tempat kerja steril yang berfungsi menyaring udara dari luar dan menghasilkan udara steril, maka dari itu LAFC harus tetap dijaga agar tidak terkontaminasi. Sterilisasi LAFC dilakukan dengan cara menyalakan lampu UV selama minimal 30 menit, kemudian matikan lampu UV, lalu buka kaca penutup LAFC pada posisi terendah, usap bagian dalam dan permukaan LAFC dengan alcohol 70% atau disinfektan yang cocok. Kemudian, masukkan semua alat dan bahan yang dibutuhkan ke dalam LAFC, termasuk cawan petri, pinset, scalpel, bunsen, dan nyalakan lampu.

### **Kultur Inisiasi Eksplan Anggrek Hitam**

Proses inisiasi anggrek hitam dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Bagian tanaman yang digunakan untuk subkultur adalah bulbil (batang semu) dengan dua helai daun, dengan ukuran eksplan berkisar antara 2,5–3 cm. Eksplan *in vitro* dikeluarkan dari botol kultur, kemudian diletakkan pada cawan petri dan dibersihkan dari sisa-sisa agar yang masih menempel. Selanjutnya, bagian akar dan daun eksplan dipisahkan, sementara bagian batang dikulturkan pada media perlakuan. Setiap perlakuan menggunakan satu eksplan anggrek hitam, yang kemudian diletakkan di ruang inkubasi untuk diamati secara berkala setiap minggu.

### **Peletakan Kultur dalam Inkubasi**

Botol diberi label terlebih dahulu untuk memuat informasi mengenai jenis eksplan yang telah ditanami eksplan anggrek hitam. Setelah itu, botol-botol disusun rapi di rak ruang inkubasi sesuai dengan tata letak yang ditentukan dalam penelitian kultur jaringan. Multiplikasi tunas dilakukan di ruang inkubasi dengan suhu 23 °C dan pencahayaan lampu TL (Tabung *Fluorescent*) selama 16 jam.

### **Parameter Pengamatan**

#### Persentase Eksplan Hidup (%)

Persentase eksplan hidup menggambarkan kemampuan eksplan untuk bertahan dan tumbuh pada media perlakuan dalam kultur *in vitro*. Eksplan dikategorikan hidup apabila tidak menunjukkan gejala kontaminasi atau mampu menghasilkan akar maupun tunas baru. Penghitungan persentase eksplan hidup dilakukan setiap dua minggu sekali dengan membandingkan jumlah eksplan yang hidup pada tiap perlakuan terhadap total eksplan yang dikulturkan, menggunakan rumus:

$$\% \text{ Eksplan hidup} = \frac{\text{Jumlah eksplan}}{\text{Jumlah eksplan yang dikultur}} \times 100\%$$

#### Persentase Eksplan Terkontaminasi (%)

Persentase eksplan terkontaminasi bakteri dihitung dengan menghitung jumlah tanaman yang terkontaminasi dihitung setiap 2 minggu sekali berdasarkan jumlah eksplan yang terkontaminasi. Eksplan yang terserang bakteri akan basah dan menyebabkan lendir. Persentase kontaminasi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kontaminasi} = \frac{\text{Jumlah eksplan terkontaminasi}}{\text{Jumlah eksplan yang dikultur}} \times 100\%$$

#### Tinggi Tunas (mm)

Tinggi tunas per eksplan ini dapat dilakukan pengamatan dengan melakukan pengukuran pada tinggi yang dimiliki oleh tunas yang terbentuk pada setiap eksplan dengan memanfaatkan alat bantu seperti jangka sorong. Pengamatan parameter ini dilakukan pada saat tanaman dibongkar dan sudah berumur 8 MST.

#### Jumlah Tunas (unit)

Jumlah tunas per eksplan ini dapat dilakukan pengamatan dengan melakukan perhitungan pada jumlah tunas yang sudah mulai terbentuk per eksplan yang ada, perhitungan ini dilakukan dalam jangka waktu 2 minggu sekali, pada saat tanaman berumur 2, 4, 6, dan 8 MST.

#### Jumlah Akar (unit)

Parameter jumlah akar dihitung setelah tanaman berumur 8 minggu setelah dengan cara mencabut tanaman pada media dengan cara hati-hati, agar akar pada tanaman tidak putus. Sehingga proses penghitungan jumlah akar berjalan dengan baik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Eksplan Hidup (%)

Data pengamatan persentase eksplan hidup tanaman anggrek hitam terhadap pemberian NAA dan BAP pada umur 2, 4, 6, dan 8 MST. Pada umur 2 MST memberikan nilai persentase tertinggi yaitu 97,01% kemudian terjadi penurunan pada 8 MST menjadi 96,87%. Dapat dilihat pada Tabel 1. Dibawah.

Tabel 1. Persentase Eksplan Hidup

Perlakuan	Minggu Setelah Tanam (MST)			
	2	4	6	8
Konsentrasi NAA				
N <sub>0</sub> (Kontrol)	98,95	98,95	98,95	98,95
N <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	100	100	100	100
N <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	100	100	100	100
N <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	100	100	100	100
Konsentrasi BAP				
B <sub>0</sub> (Kontrol)	98,95	98,95	98,95	98,95
B <sub>1</sub> (0.5 mg/l)	100	100	100	100
B <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	100	100	100	100
B <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	100	100	100	100
Kombinasi (Nx B)				
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	98,95	98,95	98,95	98,95
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	100	100	100	100
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	100	100	100	100
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	100	100	100	100
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	100	100	100	100
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	97,91	97,91	97,91	96,87
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	98,95	98,95	98,95	98,95
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	98,95	98,95	98,95	98,95
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	100	100	100	100
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	100	100	100	100
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	100	100	100	100
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	100	100	100	100
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	100	100	100	100
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	100	100	100	100
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	98,95	98,95	98,95	98,95
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	100	100	100	100

Berdasarkan tabel 1. perlakuan NAA dan BAP terlihat ada perubahan persentase eksplan hidup dalam interval pengamatan dua MST. Persentase eksplan hidup pada N<sub>1</sub>B<sub>1</sub> yaitu 97,91% terlihat pada umur 2, 4, dan 6 MST pada umur 8 MST persentase eksplan hidup turun menjadi 96,87%. Keberhasilan dalam teknik kultur jaringan sangat bergantung pada komposisi media tumbuh yang digunakan. Media dasar yang paling umum dimanfaatkan dalam kultur jaringan adalah media MS (*Murashige dan Skoog*). Hal ini sesuai dengan pernyataan Apriliyana dan Wahidah (2021) yang menyatakan Keberhasilan teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh komposisi media tumbuh tanaman, media dasar yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah media dasar MS. Media ini mengandung unsur-unsur hara makro (N, P, K, Ca, Mg, dan Na) dan mikro (B, Co, Mn, I, Fe, Zn, dan Cu) lengkap. Selain itu media ini juga banyak mengandung sumber energi seperti halnya vitamin, gula, asam amino, dan myo inositol.

Keberhasilan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kemampuan tanaman yang diisolasi untuk tumbuh, kondisi tempat yang sesuai, dan komposisi media tanam yang digunakan. Media tersebut harus mengandung unsur hara makro dan mikro, vitamin, serta zat pengatur tumbuh, baik yang bersifat sintetis maupun alami dari bahan organik. Zat pengatur tumbuh yang paling umum dipakai berasal dari kelompok auksin dan sitokinin (Yahya *dkk.*, 2022).



Gambar 2. Eksplan Hidup Tanaman Anggrek Hitam

Penggunaan larutan sterilan dengan konsentrasi yang tidak sesuai dapat gagal membunuh kontaminan dan justru berakibat pada kematian eksplan. Proses sterilisasi dilakukan untuk menghilangkan mikroorganisme yang kemungkinan berasal dari eksplan, wadah kultur, peralatan tanam yang kurang bersih, ruang kultur yang tidak steril, maupun dari prosedur saat penanaman. Faktor yang mempengaruhi kehidupan eksplan pada kultur jaringan adalah genotipe tanaman, kondisi tanaman induk, pemilihan dan ukuran eksplan, komposisi media kultur, kondisi lingkungan kultur, serta sterilitas dan keterampilan operator. Kontaminasi mikroorganisme, senyawa fenolik yang berlebih (menyebabkan pencoklatan), dan ketidaksesuaian zat pengatur tumbuh juga dapat menghambat pertumbuhan eksplan. (Tuwo *dkk.*, 2022).

### Persentase Eksplan Kontaminasi (%)

Data pengamatan persentase eksplan hidup tanaman anggrek hitam terhadap pemberian NAA dan BAP pada umur 2, 4, 6, dan 8 MST. Pada umur 2 MST memberikan nilai persentase tertinggi yaitu 2,08% kemudian terjadi peningkatan pada 8 MST menjadi 3,12%. Dapat dilihat pada Tabel 2. Dibawah.

Tabel 2. Persentase Eksplan Terkontaminasi

Perlakuan	Minggu Setelah Tanam (MST)			
	2	4	6	8
Konsentrasi NAA				
N <sub>0</sub> (Kontrol)	1,04	1,04	1,04	1,04
N <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	0	1,04	1,04	2,08
N <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	0	0	0	1,04
N <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	0	0	0	1,04
Konsentrasi BAP				
B <sub>0</sub> (Kontrol)	1,04	1,04	1,04	1,04
B <sub>1</sub> (0.5 mg/l)	0	0	1,04	1,04
B <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	0	1,04	2,08	2,08
B <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	0	0	0	0
Kombinasi (NxB)				
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1,04	1,04	1,04	1,04
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	0	0	1,04	1,04
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	0	1,04	2,08	2,08
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	0	0	0	0
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0	1,04	2,08	2,08
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	2,08	2,08	2,08	3,12
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	1,04	1,04	1,04	1,04
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1,04	2,08	2,04	2,08
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	0	0	0	1,04
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	0	0	0	0
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	0	0	0	0
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	0	0	0	0
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	0	0	1,04	1,04
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	0	1,04	1,04	1,04
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	1,04	1,04	1,04	1,04
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 1, dapat dilihat bahwa terjadinya kontaminasi pada eksplan anggrek hitam saat berumur 2 MST tertinggi terdapat pada perlakuan N<sub>1</sub>B<sub>1</sub> sebesar 2,08% dan pada umur 4 MST dan pada umur 6 MST terjadi penigkatan

pada beberapa perlakuan dan 8 MST eksplan terkontaminasi tertinggi yaitu pada perlakuan N<sub>1</sub>B<sub>1</sub> 3,12%. Dalam teknik kultur jaringan, kontaminasi merupakan masalah yang sering terjadi dan sangat memengaruhi keberhasilan proses. Jika kontaminasi muncul, pertumbuhan tanaman dalam media akan terganggu atau bahkan gagal. Oleh karena itu, proses sterilisasi memegang peranan penting untuk memastikan keberhasilan kultur jaringan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mulyani *dkk.*, (2024) bahwa sterilisasi merupakan proses yang bertujuan untuk mematikan seluruh mikroorganisme, sehingga ketika suatu media digunakan, tidak ada mikroba yang dapat tumbuh di dalamnya. Proses ini sangat penting untuk menunjang keberhasilan kultur jaringan, karena teknik ini sangat rentan terhadap kontaminasi. Jika terjadi kontaminasi, maka pertumbuhan tanaman dalam media akan terhambat atau bahkan gagal. Oleh sebab itu, sterilisasi harus mampu mengeliminasi mikroorganisme upaling resisten terhadap panas, seperti spora bakteri.

Kontaminasi menjadi salah satu faktor penghambat utama dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Sumber kontaminasi dapat berasal dari eksplan, baik dari bagian internal maupun eksternal, organisme kecil yang masuk ke dalam media, botol kultur atau peralatan yang kurang steril, hingga lingkungan kerja dan ruang kultur yang terpapar spora udara. Pada praktik kultur jaringan, kasus kontaminasi lebih banyak disebabkan oleh jamur dibandingkan mikroba lainnya. Jamur maupun bakteri yang menginfeksi kultur umumnya berasal dari eksplan, sehingga ketika eksplan ditanam, spora dan benih jamur maupun bakteri dapat berkembang dan merusak jaringan tanaman. (Andriani dan

Heriansyah, 2021).

Sterilisasi eksplan yang terbebas dari kontaminasi merupakan tahap awal yang sangat penting dalam keberhasilan kultur jaringan. Proses ini meliputi sterilisasi media tanam, wadah kultur, permukaan jaringan atau benih yang akan dikulturkan, serta seluruh peralatan yang digunakan. Keberadaan spora jamur atau sel bakteri yang bersentuhan dengan media dapat dengan cepat menyebabkan kontaminasi pada eksplan. Oleh karena itu, sterilisasi peralatan wajib dilakukan untuk mencegah masuknya mikroba. Tujuan utama sterilisasi adalah membunuh serta membersihkan semua bentuk mikroorganisme hidup yang menempel pada bahan tanam maupun peralatan kultur (Wulandari *dkk.*, 2021).



Gambar 3. Eksplan Anggrek Hitam Terkontaminasi

### **Tinggi Tunas (mm)**

Data pengamatan tinggi tunas tanaman anggrek hitam terhadap pemberian NAA dan BAP pada umur 8 MST. Berdasarkan hasil Analysis of Variance

(ANOVA), mengidentifikasi bahwa perlakuan NAA, BAP dan interaksi kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap tinggi tunas. Dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah.

Tabel 2. Tinggi Tunas Eksplan pada Perlakuan NAA dan BAP pada Umur 8 MST  
8 Minggu Setelah Tanam (MST)

Perlakuan	
Konsentrasi NAA	.....mm.....
N <sub>0</sub> (Kontrol)	6.64
N <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	2.90
N <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	7.40
N <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	3.55
Konsentrasi BAP	
B <sub>0</sub> (Kontrol)	3.73
B <sub>1</sub> (0.5 mg/l)	6.34
B <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	5.37
B <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	5.06
Kombinasi (N x B)	
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	5.48
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	9.31
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	5.36
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	6.42
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	1.79
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	2.73
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	4.02
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	3.05
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	6.85
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	10.58
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	7.35
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	4.81
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	0.80
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	2.72
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	4.74
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	5.95

Keterangan : Menurut uji Duncan 1%, angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata.

Berdasarkan Tabel 2, perlakuan NAA tidak memberikan pengaruh yang nyata secara statistik terhadap pertumbuhan tinggi tunas eksplan pada umur 8 MST. Meskipun analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan antar perlakuan tidak signifikan, terdapat kecenderungan peningkatan rata-rata tinggi tunas seiring dengan bertambahnya konsentrasi NAA. Perlakuan N<sub>2</sub> (1,5 mg/l) rata-rata tertinggi,

yaitu 1,74 mm, sedangkan perlakuan  $N_1$  (0,5 mg/l) rata-rata terendah, yaitu 1,34 mm. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l memberikan respons pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan konsentrasi lainnya, meskipun belum mencapai signifikansi secara statistik. Oleh karena itu, perlakuan ini dapat dipertimbangkan sebagai konsentrasi optimal dalam rentang yang diuji untuk mendukung pertumbuhan tinggi tunas. Hal ini sesuai dengan Naz



*dkk.*, (2018) bahwa penggunaan NAA dalam media kultur jaringan menunjukkan perlakuan dengan NAA 1,5 mg/l menghasilkan tunas dengan panjang yang lebih baik dibandingkan konsentrasi yang lebih rendah.

Gambar 4. Tinggi Tunas Tanaman Angrek Hitam

Perlakuan BAP tidak memberikan pengaruh yang nyata secara statistik terhadap pertumbuhan tinggi tunas eksplan pada umur 8 minggu setelah tanam (MST). Meskipun analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan antar perlakuan tidak signifikan, terdapat kecenderungan peningkatan rata-rata tinggi tunas seiring

dengan bertambahnya konsentrasi BAP. Perlakuan B<sub>2</sub> (1,5 mg/l) menunjukkan hasil rata-rata tertinggi, yaitu 1,64 cm, sedangkan perlakuan B<sub>0</sub> (kontrol) menunjukkan rata-rata terendah, yaitu 1,28 cm. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi BAP 1,5 mg/l dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas, meskipun belum mencapai tingkat signifikansi statistik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wardana *dkk.*, (2024) yang mengatakan penambahan BAP dengan konsentrasi 1,5 ppm pada media *Murashige and Skoog* mampu memberikan pengaruh optimal terhadap pertumbuhan tunas aksilar kentang secara *in vitro*. Hal ini disebabkan karena BAP berperan dalam merangsang pembelahan sel, pembesaran, serta pemanjangan sel yang bekerja sinergis dengan NAA. Pertumbuhan tinggi tunas menunjukkan kecenderungan menurun seiring bertambahnya jumlah tunas pada eksplan setiap perlakuan. Diduga, jumlah tunas yang terbentuk memengaruhi tinggi tanaman, di mana semakin sedikit tunas yang muncul maka tinggi tanaman cenderung lebih besar, dan sebaliknya. Kondisi tersebut terjadi karena energi yang diperlukan untuk pemanjangan tunas juga dialokasikan untuk pembentukan tunas baru, sehingga tinggi tunas dapat terhambat.

Fungsi zat pengatur tumbuh NAA (Asam 1-Naftalenasetat) adalah merangsang pertumbuhan sel dan jaringan, yang pada akhirnya dapat memengaruhi peningkatan tinggi tunas pada tanaman melalui perpanjangan sel batang, bukan sebagai penambah unsur hara. NAA berperan sebagai auksin dan bekerja sinergis dengan hormon lain (seperti sitokinin) untuk memicu pembelahan dan diferensiasi sel, sehingga dapat mengoptimalkan perkembangan organ-organ tanaman, termasuk tunas.

### Jumlah Tunas (unit)

Data pengamatan jumlah tunas angrek hitam umur 2, 4, 6, dan 8 MST. perlakuan NAA berpengaruh nyata pada umur 4 dan 6 MST dan BAP berpengaruh nyata pada umur 8 MST dan interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada umur 6 MST. Dapat dilihat pada tabel 3 di bawah

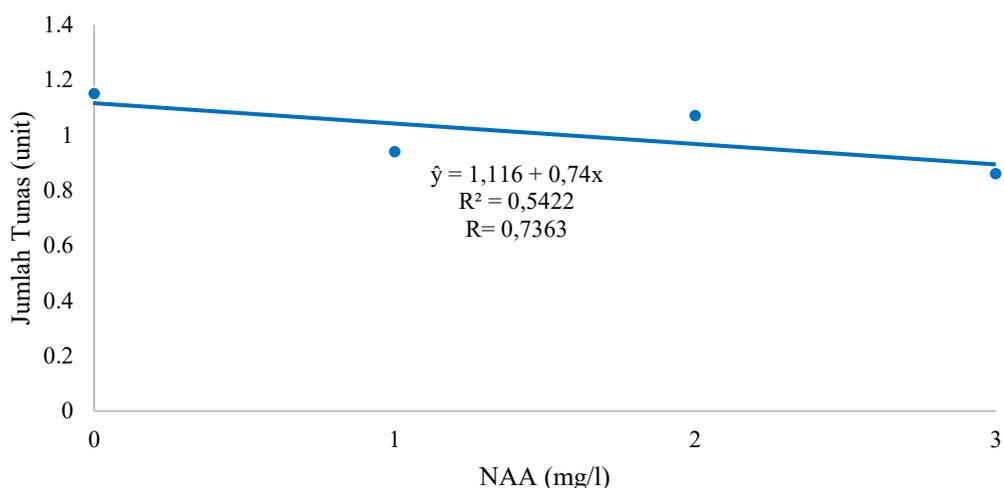
Tabel 3. Jumlah Tunas Eksplan pada Perlakuan NAA dan BAP pada Umur 2, 4, 6 dan 8 MST

Perlakuan	Minggu Setelah Tanam (MST)			
	2	4	6	8
Konsentrasi NAA .....unit.....				
N <sub>0</sub> (Kontrol)	0.71	1.04A	1.15A	1.27
N <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	0.78	0.80B	0.94BC	1.14
N <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	0.92	1.05A	1.07AB	1.32
N <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	0.76	0.83B	0.86C	1.17
Konsentrasi BAP				
B <sub>0</sub> (Kontrol)	0.74	0.80	0.95	1.01B
B <sub>1</sub> (0.5 mg/l)	0.76	1.03	1.06	1.22A
B <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	0.87	0.99	1.04	1.34A
B <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	0.81	0.94	0.98	1.32A
Kombinasi (N x B)				
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0,84	1,01	1,04
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	0.71	1,24	1,30	1,36
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	0.71	1,01	1,05	1,33
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	0.71	1,08	1,25	1,35
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0,71	0,88	0,91
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	0.71	0,71	1,04	1,06
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	0.88	0,91	1,01	1,34
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	0.84	0,88	0,84	1,25
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	0.84	0,93	1,21	1,25
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	0.71	0,96	0,71	1,26
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.18	1,32	1,26	1,39
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	0.96	1,08	1,10	1,36
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0,71	0,71	0,84
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	0.91	1,21	1,18	1,21
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	0.71	0,71	0,84	1,31
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	0.71	0,71	0,71	1,33

Keterangan : Menurut uji Duncan 1%, angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata.

Jumlah tunas pada perlakuan pemberian NAA terlihat menunjukkan pengaruh yang nyata pada umur tanaman 4 dan 6 MST. Nilai tertinggi terdapat pada

perlakuan  $N_0$  (kontrol) 1,15 unit, tidak berbeda nyata dengan  $N_2$  1,05 unit, berbeda nyata dengan  $N_1$  0,94 dan  $N_3$  0,86 unit. Hal ini diduga karena NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) termasuk ZPT auksin yang dapat memicu pemanjangan sel, inisiasi perakaran, namun mempengaruhi dominansi apikal, penghambatan pucuk aksilar dan adventif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Andany dan Ratnasari, (2023) bahwa NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) termasuk ZPT auksin yang dapat memicu pemanjangan sel, inisiasi perakaran, dan mudah ditemukan dengan harga yang terjangkau. Selain itu, NAA mempunyai sifat kimia yang stabil dan mobilitas baik di dalam tanaman, mempengaruhi penghambatan pucuk aksilar, serta menghasilkan akar yang subur dengan struktur biasa.



Gambar 5. Hubungan Jumlah Tunas Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan NAA Umur 6 MST

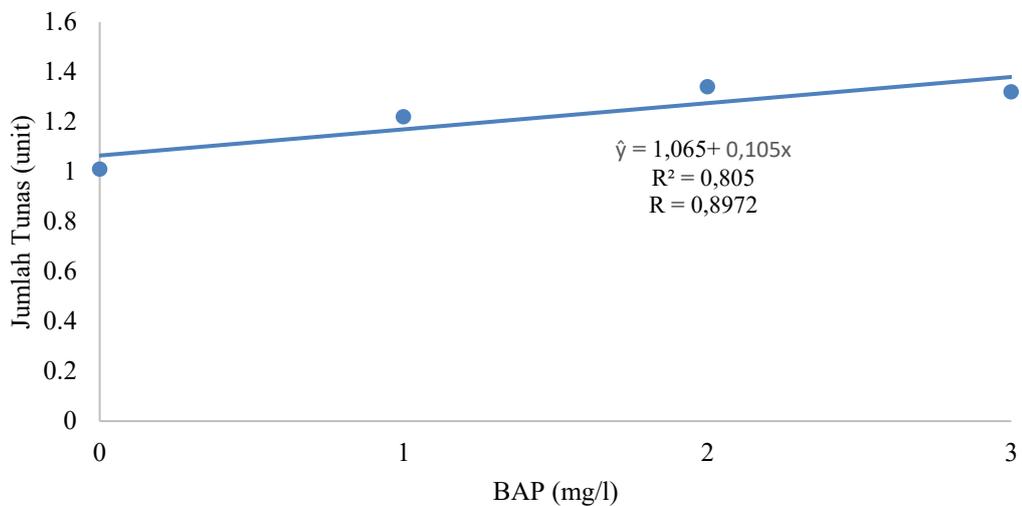
Berdasarkan Gambar 3. dapat dilihat bahwa tinggi tunas anggrek hitam pada umur 4 dan 6 MST dengan pemberian NAA membentuk hubungan linear negatif. Pada umur 6 MST menghasilkan rata-rata dengan jumlah tunas yaitu 1,116 unit dan akan menurun dengan kelipatan 0,074 setiap penambahan konsentrasi. NAA menentukan jumlah tunas pada umur 6 MST sebesar 54%. Hubungan antara NAA dengan jumlah tunas sebesar 73%, artinya erat hubungannya perlakuan NAA

terhadap perlakuan jumlah tunas. Perlakuan pada konsentrasi kontrol menunjukkan nilai tertinggi pada jumlah tunas yaitu 1,15 unit. hal ini diduga karena pemberian NAA yang terlalu banyak sehingga menghambat pertumbuhan tunas NAA pada konsentrasi tinggi akan mengalihkan dominasi hormon ke arah pertumbuhan akar dan bukan multiplikasi tunas, menyebabkan turunnya jumlah tunas yang terbentuk secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan literatur Nurkapita *dkk.*, (2021), pemberian NAA pada konsentrasi tinggi akan mengalihkan dominasi hormon ke arah pertumbuhan akar dan bukan jumlah tunas, karena sifat dasar NAA sebagai hormon auksin lebih berperan dalam merangsang pembelahan sel di daerah perakaran. Akibatnya, pada konsentrasi yang berlebihan, NAA cenderung menghambat proses pembentukan tunas lateral yang bergantung pada keseimbangan hormon auksin dan sitokinin dalam jaringan eksplan. Ketidakseimbangan rasio hormon ini menyebabkan terhambatnya diferensiasi sel tunas, sehingga jumlah tunas yang terbentuk mengalami penurunan signifikan dibandingkan kontrol maupun perlakuan dengan konsentrasi lebih rendah.



Gambar 6. Jumlah Tunas Tanaman Anggrek Hitam

Jumlah tunas pada perlakuan pemberian BAP terlihat menunjukkan pengaruh yang nyata pada umur tanaman 8 MST. Nilai tertinggi terdapat pada konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada umur 8 MST pada perlakuan B<sub>2</sub> 1,5 mg/l menghasilkan tunas terbanyak (1,34 unit) diikuti B<sub>3</sub> (1,32 unit) dan B<sub>1</sub> (1,22 unit), berbeda nyata dengan B<sub>0</sub> (1,01 unit). Dapat dilihat hubungan jumlah tunas eksplan anggrek hitam pada umur 8 MST pada gambar 6.



Gambar 7. Hubungan Jumlah Tunas Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan BAP Umur 8 MST.

Berdasarkan Gambar 4. dapat dilihat bahwa jumlah tunas anggrek hitam pada umur 8 MST dengan pemberian BAP membentuk hubungan linear positif. Pada umur 8 MST menghasilkan rata-rata dengan jumlah tunas yaitu 1,065 unit dan akan meningkat dengan kelipatan 0,105 setiap penambahan konsentrasi. BAP menentukan jumlah tunas pada umur 8 MST sebesar 80%. Hubungan antara BAP dengan jumlah tunas sebesar 89%, artinya erat hubungannya perlakuan BAP terhadap perlakuan jumlah tunas. Hal ini diduga karena pertumbuhan tanaman anggrek hitam dengan kultur jaringan perlu dioptimalkan dengan pemberian zpt seperti BAP yang berfungsi untuk menginduksi dan meregenerasi tunas. Hal ini

sesuai dengan pernyataan Jannah *dkk.*, (2023) yang mengatakan Pertumbuhan tanaman melalui teknik kultur jaringan dapat ditingkatkan dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang berperan dalam induksi dan regenerasi tunas. Salah satu ZPT yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP (*Benzyl Aminopurin*), yaitu sitokinin sintetis yang banyak dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman secara *In vitro*. BAP dikenal efektif dalam merangsang pembentukan tunas, memiliki stabilitas tinggi, serta tahan terhadap proses oksidasi, sehingga sering menjadi pilihan dalam teknik perbanyakan tanaman secara kultur jaringan.

Sementara itu pemberian kombinasi NAA dan BAP tidak memberikan pengaruh nyata, hal ini diduga karena konsentrasi kombinasi NAA dan BAP yang digunakan belum optimal atau tidak berada pada keseimbangan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mawaddah *dkk.*, (2021) yang mengatakan adanya konsentrasi auksin eksogen yang berlebih dalam media kultur, menyebabkan kinerja sitokinin dalam melakukan pembelahan sel (sitokinensis) khususnya dalam pembentukan tunas menjadi terhambat. Semakin meningkatnya konsentrasi NAA yang diberikan maka semakin meningkat juga hambatan dalam pembentukan tunas.

### **Jumlah Akar (unit)**

Data pengamatan jumlah akar tanaman anggrek hitam terhadap pemberian NAA dan BAP pada umur 8 MST. Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA), mengidentifikasi bahwa perlakuan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah akar, tetapi perlakuan BAP dan interaksi kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah tunas. Dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah.

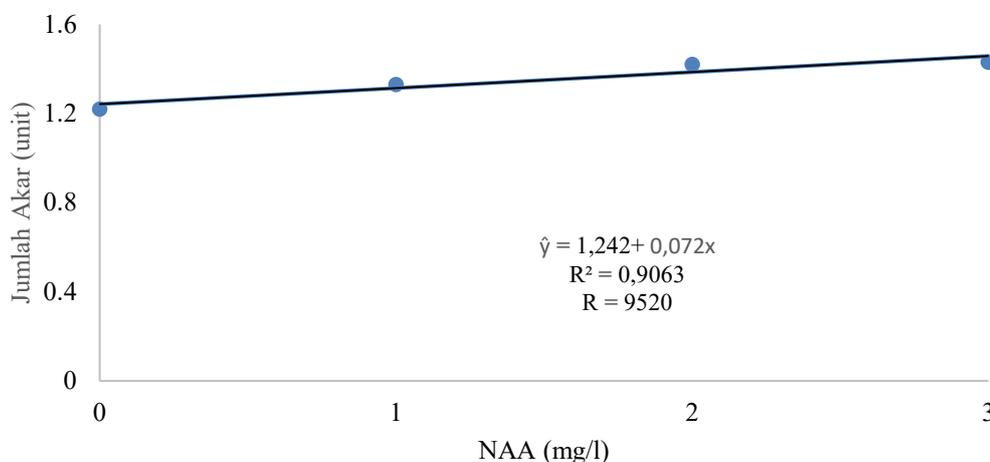
Tabel 4. Jumlah Akar Eksplan pada Perlakuan NAA pada Umur 8 MST.

8 Minggu Setelah Tanam (MST)	
Perlakuan	
Konsentrasi NAA .....	unit.....
N <sub>0</sub> (Kontrol)	1.22C
N <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	1.33B
N <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	1.42AB
N <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	1.43A
<hr/>	
Konsentrasi BAP	
B <sub>0</sub> (Kontrol)	1.40
B <sub>1</sub> (0,5 mg/l)	1.31
B <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	1.38
B <sub>3</sub> (2,5 mg/l)	1.30
<hr/>	
Kombinasi (N x B)	
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1.26
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1.25
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	1.31
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	1.05
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	1.36
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	1.26
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	1.31
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1.38
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	1.52
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	1.36
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.44
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1.35
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	1.45
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.38
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	1.47
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	1.44

Keterangan: Menurut uji Duncan 1%, angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata.

Berdasarkan tabel jumlah akar diatas dapat dilihat konsentrasi perlakuan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah akar pada umur 8 MST. Nilai tertinggi pada perlakuan konsentrasi N<sub>3</sub> 2,5 mg/l (1,43 unit) tidak berbeda nyata dengan N<sub>2</sub> 1,5 mg/l (1,42 unit) namun berbeda nyata dengan N<sub>1</sub> 0,5 mg/l (1,33 unit). Penggunaan ZPT auksin auksin sangat diperlukan dalam pembentukan akar yakni memacu terjadinya pembelahan sel. Hal ini sesuai dengan pernyataan astutk *dkk.*, (2021) bahwa NAA tergolong auksin sintetik, yang berperan merangsang pembelahan sel, pembesaran, diferensiasi sel, dan aliran protoplasma pada

pertumbuhan vegetatif tanaman, termasuk organ akar. Kegunaan dari hormon pengakaran yaitu secara keseluruhan meningkatkan persentase pengakara.



Gambar 8. Hubungan Jumlah Akar Pada Eksplan Tanaman Anggrek Hitam Dengan Perlakuan NAA Umur 8 MST.

Berdasarkan Gambar 4. dapat dilihat bahwa jumlah akar anggrek hitam pada umur 8 MST dengan pemberian NAA membentuk hubungan linear positif. Pada umur 8 MST menghasilkan rata-rata dengan jumlah tunas yaitu 1,242 unit dan akan meningkat dengan kelipatan 0,072 setiap penambahan konsentrasi. NAA menentukan jumlah akar pada umur 8 MST sebesar 90%. Hubungan antara NAA dengan jumlah tunas sebesar 95%, artinya erat hubungannya perlakuan NAA terhadap perlakuan jumlah akar. Perlakuan pada konsentrasi pada semua konsentrasi NAA lebih baik dibanding dengan kontrol. Hal ini diduga karena NAA sebagai salah satu jenis auksin mampu menginduksi pertumbuhan akar yang optimal, sehingga mendukung penyerapan nutrisi dan air yang lebih baik untuk merangsang pembentukan tunas baru. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hartati *dkk.*, (2017), yang menyatakan bahwa pemberian NAA secara signifikan mempercepat munculnya akar dan meningkatkan jumlah akar pada kultur jaringan

anggrek hitam *Coelogyne pandurata*. Selain itu, pernyataan ini juga diperkuat oleh penelitian Rikardo *dkk.*, (2019) bahwa pemberian Auksin (NAA) terhadap pertumbuhan tunas tajuk dan tunas cabang akar stum okulasi mata tidur karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) memberikan pertumbuhan yang lebih baik terhadap persentase panjang akar dan bobot kering akar dan jumlah akar.



Gambar 9. Jumlah Akar Tanaman Anggrek Hitam

Sementara itu, pada perlakuan pemberian BAP dan Interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar eksplan anggrek hitam. Hal ini diduga karena pembentukan akar lebih dipengaruhi oleh perlakuan auksin seperti NAA dibandingkan oleh BAP. Hal ini sesuai dengan literatur Rohman *dkk.*, (2023) dalam penelitiannya terhadap *Cattleya eximia*, di mana pemberian NAA secara tunggal memberikan hasil terbaik terhadap jumlah akar dibandingkan kombinasi dengan BAP, yang tidak menunjukkan pengaruh nyata. Interaksi antara BAP dan NAA tidak selalu efektif dalam merangsang pertumbuhan akar, khususnya pada spesies

anggrek tertentu seperti anggrek hitam. Efektivitas zat pengatur tumbuh sangat dipengaruhi oleh spesies tanaman, bagian eksplan yang digunakan, serta konsentrasi dan rasio antara auksin dan sitokinin.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas 4 dan 6 MST, juga memberikan pengaruh nyata pada jumlah akar eksplan tanaman berumur 8 MST.
2. BAP (*Benzyl Amino Purine*) memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada umur 8 MST dengan jumlah tunas tertinggi pada B<sub>2</sub> (1,34) dan jumlah tunas terendah pada B<sub>0</sub> (1,01)
3. Interaksi dari kombinasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Aminopurine*) tidak berpengaruh pada semua parameter yang diamati.

### Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, dapat dikemukakan bahwa untuk mendapatkan hasil maksimal tunas anggrek hitam menggunakan BAP dengan konsentrasi 1,5 mg/l. Jika untuk perakaran maka menggunakan konsentrasi 1,5 mg/l. Pada kombinasi perlakuan disarankan tidak menggunakan NAA dikarenakan tidak mempengaruhi perbanyakan pada tunas dan untuk perbanyakan akar maka disarankan menggunakan NAA..

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifia, E., T. Rahayu dan G. E. Jayanti. 2024. Korelasi Warna Ujung Akar dengan Warna Bunga Berdasarkan Anatomi Ujung Akar Anggrek *Phalaenopsis*, *Dendrobium* dan *Vanda*. *Undip*. 9 (1): 10-19.
- Alqamari, M., B. Thalib dan S. Fitria. 2020. Kajian Media Ms dengan Penambahan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Kultur Tunas Aren (*Arenga Pinnata* (Wurmb) Merr. *Jurnal Pertanian Tropik*. 7 (1): 109-115.
- Andany, C dan E. Ratnasari. 2023. Pengaruh Penambahan NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Planlet Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* L.) pada Media MS secara *In Vitro*. *Lentera bio*. 12 (3): 389-395.
- Andriani, D dan P. Heriansyah. 2021. Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq). *Agricultural*. 4 (2); 192-199.
- Apriliyana. R dan B. F. Wahidah. 2021. Perbanyakkan anggrek *Dendrobium* sp. secara *In vitro*: Faktor-faktor keberhasilannya. *Mahasiswa Biologi*. 1 (2): 33-46.
- Astutk., A. Sumiati dan Sutoyo. 2021. Stimulasi Pertumbuhan *Dendrobium* sp. Menggunakan Hormon Auksin *Naphthalena Acetic Acid* (NAA) dan *Indole Butyric Acid* (IBA) *Buana Sains*. 21 (1): 19-28.
- Fatana. D., L. Suharli dan E. Sandra. 2024. Pembuatan Media MS (*Murashigae and Skoog*) dengan Tambahan Konsentrasi Zpt secara *In Vitro*. *Satwa Tumbuhan Indonesia*. 1 (1): 9-14.
- Fauziah, F, S., S. S. Purnomo., N. W. Saputro dan R. B. Mayang. 2021. Pemberian NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) dalam Inisiasi Petal Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) terhadap Pertumbuhan Organogenesis Tunas Secara *In Vitro* pada Media MS (*Murashige and Skoog*). *Imiah Wahana Pendidikan*. 7 (7): 96-106.
- Hartati, S., Arniputri, R. B., Soliah, L. A., & Cahyono, O. N. G. K. O. (2017). Effects of Organic Additives and *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) Application on The *In Vitro* Growth Of Black Orchid Hybrid (*Coelogyne Pandurata* Lindley). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 23(6).

- Hartati, S., A. Budiyo dan O. Cahyono. 2016. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Subkultur Anggrek Hasil Persilangan *Dendrobium biggibum* X *Dendrobium lineale*. *Sustainable Agriculture*. 31 (1): 33-37.
- Jannah, K. P. A., I. Prihantoro dan P. D. Karti. 2023. Optimasi Level *Benzyl Amino Purin* (BAP) terhadap Pertumbuhan Tanaman Kembang Telang (*Clitoria ternatea*) melalui Teknik Kultur Jaringan. *Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*. 21 (2): 100-106.
- Kartiman, R., D, Sukma., S, L, Aisyah dan A, Purwito. 2018. Multiplikasi *in Vitro* Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata* Lindl) pada Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP. *Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 5 (1): 75-87.
- Lailatussoimah, N., P. Artsanti dan I. Nugraha. 2014. Kajian Adsorpsi Zat Pengatur Tumbuh *Naphthalene Acetic Acid* terhadap Bentonit Alam. *Kaunia*. 10 (2): 103-116.
- Lestari, N. K. D dan N. W. Deswiniyanti. 2015. Perbanyak Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata*) dengan Media Organik dan *Vacin Went* Secara *In Vitro*. *Virgin*. 1 (1): 30-39.
- Lestari, N. k. D., N. W. Deswiniyanti dan N. M. Virginia. 2022. Karakter Morfologi Bunga Anggrek *Dendrobium* Hibrida Hasil Persilangan Tetua Anggrek Spesies *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. *Sintesa*. Vol 5: 427-437.
- Lisnawati., H. Rahmi dan N. S. Widyodaru. 2022. Pengaruh Penambahan Kombinasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (Plb) Anggrek *Dendrobium* Sp. secara *In Vitro*. *Ilmiah Wahana Pendidikan*. 8 (1): 352-361.
- Maghfirah, U., E. Kesumawati dan M. Rahmawati. 2024. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP pada Proses Organogenesis PLB Anggrek *Dendrobium* Secara *In Vitro*. *Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 9 (3).
- Mawaddah, S. K., N. W. Saputro dan A. Lestari. 2021. Pemberian *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan Kinetin terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Jahe (*Globba leucantha* var. *bicolor* Holttum) pada Kultur *In Vitro*. 23 (1): 43-50.
- Mulyani, Y., W. A. M. Malonga dan E. Sandra. 2024. Teknik Subkultur dalam Kultur Jaringan Tanaman Anggrek Ki Aksara (*Macodes petola*) secara *In Vitro*. *Satwa Tumbuhan Indonesia*. 1 (1): 15-23.
- Naz, S., Siddiqui, M. F., & Raza, S. (2018). *Effect Of Different Growth Regulators On In Vitro Propagation Of Brassica Napus L*. *Pakistan Journal Of Botany*.
- Nisa, N, A., T. Rahayu dan G. E. Jayanti. 2021. Peranan BAP dan Air Kelapa pada Medium VW terhadap Organogenesis *Dendrobium* sp. *Metamorfosa*. 8 (2); 298-303.

- Nuraini, A., E. Aprilia dan Murgayanti. 2022. Pengaruh konsentrasi *Benzyl amino purine* terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar rami klon lokal Wonosobo secara *in vitro*. *Kultivasi*. 21 (2): 166-172.
- Nurfadilah., Mukarlina dan E, Rusmiyanto. 2018. Multipikasi Angrek Hitam (*Coelogyne Pandurata* Lindl) pada Media *Murashige Skong* (MS) dengan Penambahan Ekstrak Pisang Ambon dan *Benzyl amino Purin* (BAP). *Protobiont*. 7 (3): 47-35.
- Nurkapita, N., Linda, R., & Zakiah, Z. (2021). Multiplikasi Eksplan Anggrek Hitam Dengan NAA Dan Ekstrak Biji Jagung. UNSRAT
- Pratama, R. A., Y. Rahmaningsih., Noertjahyani., K. Putranto dan R. Haerudjaman. 2022. Pengaruh *Naphthaline Acetic Acid* dan *Benzyl Amino Purine* terhadap Mikropropagasi Tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides* L.). *Agrotekh*. 2 (2): 99-110.
- Purita, S. Y., N. R. Ardiarini dan N. Basuki. 2017. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Jenis BAP terhadap Pertumbuhan Planlet Sub Kultur Jaringan Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *Produksi Tanaman*. 5 (7): 1207-1212.
- Rikardo, A. S. T., D. Martino dan Sarman. 2019. Pengaruh Pemberian Auksin (NAA) Terhadap Pertumbuhan Tunas Tajuk Dan Tunas Cabang Akar Bibit Karet (*Hevea brasillensis* Muell. Arg) Okulasi Mata Tidur. *Agroecotenia*. 2 (2): 11-20.
- Risdiana, S. F., S. A. Azharia dan A. Supriyatna. 2023. Inventarisasi dan Analisis Jenis Anggrek (*Orchidaceae*) di Kampung Nambo, Desa Batukarut, Kecamatan Arjasari, Kabupaten Bandung. *Ilmu Pertanian dan Perkebunan*. 5 (2); 41-50.
- Rohman, H. F., F. Rohman., R. Firgiyanto dan A. Selfiana. 2023. Pertumbuhan Tanaman Anggrek *Cattleya* (*Cattleya eximia*) secara *In Vitro* pada Media MS dengan Subtitusi NAA dan BAP. *Agropross*: 458-466.
- Rohman, H. F., Rohman, F., Firgiyanto, R., & Selfiana, A. (2023, September). Pertumbuhan Tanaman Anggrek *Cattleya* (*Cattleya Eximia*) Secara In-Vitro Pada Media MS Dengan Subtitusi NAA Dan BAP. In *Agropross: National Conference Proceedings Of Agriculture* (Pp. 458-466).
- Sandi, R., B. F. Wahidah dan Y. Isnaini. 2022. Perbanyak Tanaman Anggrek (*Coelogyne dayana*) Rchb.f. Secara *In Vitro* dengan Berbagai Media Tumbuh di Kebun Raya Bogor. *Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 7 (2): 84-91.

- Sari, I, I. 2019. Bunga Anggrek Hitam Sebagai Ide Penciptaan Karya Batik pada Kain Tenun Ulap Doyo. *Jurnal Seni Kriya*. 8 (2): 108-112.
- Sasongko, D. A. 2019. Pertumbuhan Tunas pada Bulb Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.). *Nusa Sylva*. 19 (1): 17-21.
- Serliana., Mukarlina dan R. Linda. 2017. Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) secara In Vitro Dengan Penambahan Ekstrak Tomat (*Solanum lycopersicum* L) Dan *Benzyl Amino Purine* (BAP). *Protoniont*. 6 (3): 310-315.
- Sulichantini, E, D., Eliyani dan A, P, D, Nazari. 2021. Respon Pertumbuhan Anggrek Tebu (*Grammatophyllum speciosum* BLUME) Secara In Vitro terhadap Pemberian *Benzyl Amino Purin*, *Kinetin*, *Naftalena Acetic Acid* dan Ekstrak Pisang Ambon dalam Media Dasar Setengah *Murashige* dan *Skoog*. *Jurnal Zira'ah*. 46 (1): 59-69.
- Tuwo, M., E. Tambaru dan N. Marianty. 2022. Respon Pertumbuhan Biji Jeruk Keprok *Citrus reticulata* Blanco pada beberapa Teknik Sterilisasi. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 13 (2): 32-39.
- Wardana, R., A. U. Mauidah dan T. W. Widodo. 2024. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP Pada Multipikasi Tunas Kentang Merah (*Solanum Tuberosum* L.) secara in Vitro. *Vegetalika*. 13 (4): 383-390.
- Wulandari, S., Y. S. Nisa., Taryono., S. Indarti dan R. S. Sayekti. 2021. Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Journal of Agrotechnology Innovation*. 4 (2): 16-19.
- Yahya, A., T. Sopandi., P. W. K. Slamet dan D. K. Binawati. 2022. Pengenalan dan Pelatihan Teknik Kultur Jaringan Tanaman pada Guru MGMP Biologi SMA Se-Jawa Timur. *Penanas Adi Buana*. 6 (1): 31-36.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media *Murashige* dan *Skoog*

No.	Element	1 (mgL <sup>-1</sup> )	x g <sup>L</sup> -1	Note
<b>1</b>	<b>Macro elements</b>		<b>10x</b>	
	Calcium Chloride <i>CaCl<sub>2</sub></i>	332.02	3.3202	
	Potassium Dihydrogen Phosphate <i>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></i>	170.00	1.7	<b>Larutan stok disimpan dalam freezer pada suhu 4°C</b>
	Potassium Nitrate <i>KNO<sub>3</sub></i>	1900.00	19	
	Magnesium Sulfate <i>MgSO<sub>4</sub></i>	180.00	1.8	
	Ammonium Nitrate <i>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></i>	1650.00	16.5	
<b>2</b>	<b>Micro elements</b>		<b>1000x</b>	
	Cobalt Chloride <i>CoCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O</i>	0.025	0.025	
	Cuprum Sulfate <i>CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O</i>	0.025	0.025	
	Boric Acid <b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b> Potassium Iodide KI	6.20	6.2	<b>Larutan stok disimpan dalam freezer pada suhu 4°C</b>
		0.83	0.83	
	Manganese Sulfate <i>MnSO<sub>4</sub> 4H<sub>2</sub>O</i>	16.90	16.9	
	Sodium Molybdate <i>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O</i>	0.25	0.25	
	Zinc Sulfate <i>ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</i>	8.60	8.6	
<b>3</b>	<b>Vitamins</b>		<b>100x</b>	
	Glycine <i>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub></i>	2.00	0.2	<b>Disimpan di freezer pada suhu 4 °C dan larutan stok ditempatkan dalam botol gelap</b>
	Nicotinic Acid <i>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub></i>	0.50	0.05	
	Pyridoxine <i>C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub></i>	0.50	0.05	
	Thiamine <i>C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>O<sub>5</sub></i>	0.10	0.01	
<b>4</b>	<b>Iron</b>		<b>100x</b>	
	Disodium ethylenediaminetetraacetic acid <i>Na<sub>2</sub>EDTA</i>	37.25	3.725	<b>Larutan stok disimpan dalam freezer</b>

pada suhu 4°C

	Ferrous Sulfate $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.85	2.785	
<b>5</b>	<b>Other</b>			<b>Ditambahkan</b>
	Myo-inositol	100	0.1	<b>masing-masing</b>
	Sucrose	30,000	30	<b>waktu saat</b>
				<b>membuat</b>
				<b>media</b>

Sumber : *Murashige dan Skoog* 1962

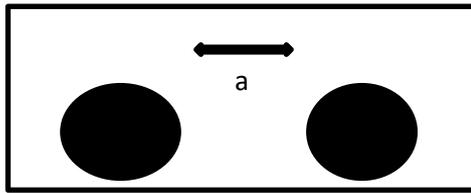
## Lampiran 2. Bagan Penelitian

$N_0B_3$
$N_1B_2$
$N_3B_1$
$N_0B_1$
$N_1B_1$
$N_2B_1$
$N_0B_0$
$N_0B_2$
$N_3B_3$
$N_1B_0$
$N_3B_2$
$N_2B_2$
$N_3B_0$
$N_1B_3$
$N_2B_3$
$N_2B_0$

$N_2B_3$
$N_0B_0$
$N_1B_3$
$N_2B_3$
$N_3B_3$
$N_0B_3$
$N_0B_1$
$N_3B_2$
$N_1B_2$
$N_3B_0$
$N_1B_1$
$N_2B_1$
$N_2B_2$
$N_1B_0$
$N_2B_0$
$N_3B_1$

$N_3B_3$
$N_2B_3$
$N_0B_3$
$N_2B_2$
$N_0B_0$
$N_2B_1$
$N_0B_3$
$N_1B_1$
$N_3B_2$
$N_1B_3$
$N_0B_2$
$N_2B_0$
$N_3B_1$
$N_1B_0$
$N_1B_2$
$N_1B_0$

## Lampiran 3. Bagan Tanaman Sampel

**Keterangan**

a : Jarak antar kultur 5 cm

● : Eksplan sekaligus sampel eksplan

Lampiran 4. Tinggi Tunas Anggrek Hitam 8 MST (mm)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	12.25	0.00	4.20	<b>16.45</b>	<b>5.48</b>
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	12.23	6.65	9.05	<b>27.93</b>	<b>9.31</b>
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	3.08	2.38	10.63	<b>16.09</b>	<b>5.36</b>
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	12.40	3.52	3.35	<b>19.27</b>	<b>6.42</b>
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0.00	0.00	5.37	<b>5.37</b>	<b>1.79</b>
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	3.85	4.35	0.00	<b>8.20</b>	<b>2.73</b>
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	7.11	2.98	1.98	<b>12.07</b>	<b>4.02</b>
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	2.30	3.10	3.75	<b>9.15</b>	<b>3.05</b>
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	3.55	8.61	8.38	<b>20.54</b>	<b>6.85</b>
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	9.25	19.75	2.75	<b>31.75</b>	<b>10.58</b>
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	6.85	9.23	5.98	<b>22.05</b>	<b>7.35</b>
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	3.05	5.93	5.45	<b>14.43</b>	<b>4.81</b>
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	2.40	0.00	0.00	<b>2.40</b>	<b>0.80</b>
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.60	1.40	5.15	<b>8.15</b>	<b>2.72</b>
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	6.75	4.87	2.62	<b>14.23</b>	<b>4.74</b>
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	3.32	7.83	6.70	<b>17.84</b>	<b>5.95</b>
Jumlah	<b>89.98</b>	<b>80.58</b>	<b>75.34</b>	<b>245.89</b>	
Rataan	<b>5.62</b>	<b>5.04</b>	<b>4.71</b>		<b>5.12</b>

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\alpha} + 0,5$

Lampiran 5. Daftar Sidik Ragam Tinggi Tunas Anggrek Hitam 8 MST.

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	178.82	59.61	4.32 tn	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	13.70	13.70	0.99 tn	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.03	0.03	0.00 tn	7.50
BAP (B)	3	41.74	13.91	1.01 tn	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	5.46	5.46	0.40 tn	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	25.56	25.56	1.85 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	94.09	10.45	0.76 tn	3,02
Galat	32	441.28	13.79		
Jumlah	47	755,93			

Keterangan : tn : tidak nyata

KK : 72,49%

Lampiran 6. Jumlah Tunas Anggrek Hitam 2 MST.

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> K <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>0</sub> K <sub>1</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>0</sub> K <sub>2</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>0</sub> K <sub>3</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>1</sub> K <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>1</sub> K <sub>2</sub>	0.71	0.71	1.22	2.64	0.88
N <sub>1</sub> K <sub>3</sub>	1.09	0.71	0.71	2.51	0.84
N <sub>2</sub> K <sub>0</sub>	0.71	0.71	1.09	2.51	0.84
N <sub>2</sub> K <sub>1</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	1.22	1.22	1.09	3.53	1.18
N <sub>2</sub> K <sub>3</sub>	1.09	1.09	0.71	2.89	0.96
N <sub>3</sub> K <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>3</sub> K <sub>1</sub>	1.31	0.71	0.71	2.73	0.91
N <sub>3</sub> K <sub>2</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
Jumlah	13.23	12.25	12.63	38.11	
Rataan	0.83	0.77	0.79		0.79

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\alpha} + 0,5$

Lampiran 7. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 2 MST

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	0.30	0.10	4.41 tn	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	0.05	0.05	2.22 tn	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.17	0.17	7.48 tn	7.50
BAP (B)	3	0.12	0.04	1.73 tn	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	0.05	0.05	2.41 tn	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.02	0.02	0.92 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	0.40	0.04	1.99 tn	3,02
Galat	32	0.71	0.02		
Jumlah	47	1.52			

Keterangan : tn : tidak nyata

KK : 18,81%

Lampiran 8. Jumlah Tunas Anggrek Hitam 4 MST.

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1.09	0.71	0.71	2.51	0.84
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1.09	1.31	1.31	3.71	1.24
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	1.22	0.71	1.09	3.02	1.01
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	1.22	1.31	0.71	3.24	1.08
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	0.71	0.71	1.31	2.73	0.91
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1.22	0.71	0.71	2.64	0.88
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	1.38	2.80	0.93
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	1.09	0.71	1.09	2.89	0.96
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.44	1.22	1.31	3.97	1.32
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1.22	1.31	0.71	3.24	1.08
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.31	1.09	1.22	3.62	1.21
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
Jumlah	15.87	14.05	15.10	45.02	
Rataan	0.99	0.88	0.94		0.94

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\alpha} + 0,5$

Lampiran 9. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 4 MST.

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	0.70	0.23	4.83 *	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	0.07	0.07	1.48 tn	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.00	0.00	0.00 tn	7.50
BAP (B)	3	0.37	0.12	2.53 tn	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	0.09	0.09	1.78 tn	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.24	0.24	4.93 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	0.82	0.09	1.90 tn	3,02
Galat	32	1.55	0.05		
Jumlah	47	3.44			

Keterangan : tn : tidak nyata

\* : nyata

KK : 23,43%

Lampiran 10. Jumlah Tunas Anggrek Hitam 6 MST.

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1.22	1.09	0.71	3.02	1.01
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1.22	1.31	1.38	3.91	1.30
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	0.71	1.22	1.22	3.15	1.05
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	1.44	1.22	1.09	3.75	1.25
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	1.22	2.64	0.88
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	1.09	1.31	0.71	3.11	1.04
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	1.09	0.71	1.22	3.02	1.01
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1.09	0.71	0.71	2.51	0.84
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	1.09	1.31	1.22	3.62	1.21
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.31	1.38	1.09	3.78	1.26
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1.22	1.38	0.71	3.31	1.10
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.22	1.09	1.22	3.53	1.18
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	0.71	0.71	1.09	2.51	0.84
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	0.71	0.71	0.71	2.13	0.71
Jumlah	16.25	16.28	15.72	48.25	
Rataan	1.02	1.02	0.98		1.01

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\alpha} + 0,5$

Lampiran 11, Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas 6 MST.

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	0.62	0.21	4.71 *	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	0.34	0.34	7.73 *	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.00	0.00	0.00 tn	7.50
BAP (B)	3	0.09	0.03	0.69 tn	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	0.00	0.00	0.04 tn	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.09	0.09	1.95 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	1.18	0.13	2.98 tn	3,02
Galat	32	1.41	0.04		
Jumlah	47	3.30			

Keterangan : tn : tidak nyata

\* : nyata

KK : 20,86%

Lampiran 12. Jumlah Tunas Anggrek Hitam 8 MST.

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1.31	0.71	1.09	3.11	1.04
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1.38	1.38	1.31	4.07	1.36
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	1.31	1.31	1.38	4.00	1.33
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	1.53	1.22	1.31	4.06	1.35
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	0.71	0.71	1.31	2.73	0.91
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	1.09	1.38	0.71	3.18	1.06
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	1.49	1.31	1.22	4.02	1.34
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1.22	1.44	1.09	3.75	1.25
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	1.09	1.44	1.22	3.75	1.25
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	1.38	1.31	1.09	3.78	1.26
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.38	1.49	1.31	4.18	1.39
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1.38	1.38	1.31	4.07	1.36
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	1.09	0.71	0.71	2.51	0.84
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.22	1.09	1.31	3.62	1.21
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	1.31	1.31	1.31	3.93	1.31
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	1.31	1.31	1.38	4.00	1.33
Jumlah	20.20	19.50	19.06	58.76	
Rataan	1.26	1.22	1.19		1.22

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\bar{\alpha}} + 0,5$

Lampiran 13. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas Anggrek Hitam 8 MST.

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	0.24	0.08	2.44 tn	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	0.01	0.01	0.26 tn	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.00	0.00	0.02 tn	7.50
BAP (B)	3	0.85	0.28	8.55 *	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	0.68	0.68	20.67 *	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.16	0.16	4.93 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	0.22	0.02	0.75 tn	3,02
Galat	32	1.06	0.03		
Jumlah	47	2.38			

Keterangan : tn : tidak nyata

\* : nyata

KK : 14,87%

Lampiran 14. Jumlah Akar Anggrek Hitam 8 MST.

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rataan
	I	II	III		
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	1.38	1.09	1.31	3.78	1.26
N <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1.22	1.22	1.31	3.75	1.25
N <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	1.31	1.31	1.31	3.93	1.31
N <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	1.22	0.71	1.22	3.15	1.05
N <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	1.38	1.31	1.38	4.07	1.36
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	1.38	1.31	1.09	3.78	1.26
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	1.53	1.09	1.31	3.93	1.31
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	1.44	1.31	1.38	4.13	1.38
N <sub>2</sub> B <sub>0</sub>	1.49	1.53	1.53	4.55	1.52
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	1.38	1.38	1.31	4.07	1.36
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	1.44	1.49	1.38	4.31	1.44
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1.31	1.31	1.44	4.06	1.35
N <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	1.44	1.53	1.38	4.35	1.45
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	1.38	1.38	1.38	4.14	1.38
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	1.44	1.44	1.53	4.41	1.47
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	1.44	1.49	1.38	4.31	1.44
Jumlah	22.18	20.90	21.64	64.72	
Rataan	1.39	1.31	1.35		1.35

Keterangan : Keterangan : Data ditransformasikan dengan  $\arcsin\sqrt{\bar{\alpha}} + 0,5$

Lampiran 15. Daftar Sidik Ragam Jumlah Akar Anggrek Hitam 8 MST.

Perlakuan	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,1</sub>
NAA (N)	3	0.35	0.12	8.93 *	4.46
<i>N<sub>Linier</sub></i>	1	0.33	0.33	24.83 *	7.50
<i>N<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.02	0.02	1.84 tn	7.50
BAP (B)	3	0.08	0.03	2.01 tn	4,46
<i>B<sub>Linier</sub></i>	1	0.03	0.03	1.91 tn	7.50
<i>B<sub>Kwadrat</sub></i>	1	0.00	0.00	0.01 tn	7,50
Interaksi (N × B)	9	0.13	0.01	1.09 tn	3,02
Galat	32	0.42	0.01		
Jumlah	47	0.99			

Keterangan : tn : tidak nyata

\* : nyata

KK : 8,53%