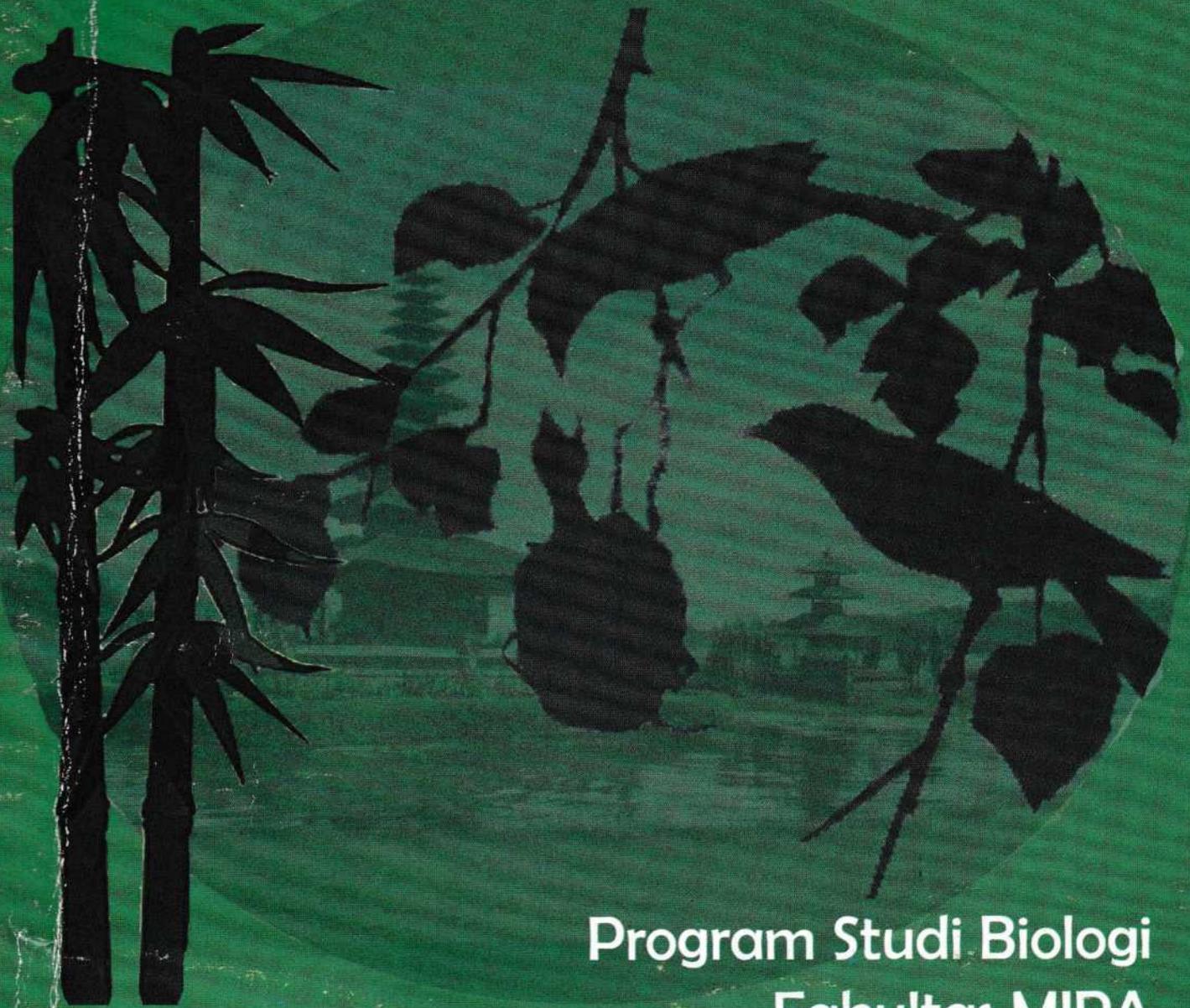


volume 03 Nomor 02 Oktober 2012

ISSN : 2086-5783

II.A.1.b.3/6  
Jurnal Nasional tak  
terakreditasi

# WIDYA BIOLOGI



Program Studi Biologi  
Fakultas MIPA  
Universitas Hindu Indonesia

# WIDYA BIOLOGI

## DEWAN REDAKSI

### Ketua

I Nyoman Arsana

### Sekretaris

I Putu Sudiartawan

### Anggota

Euis Dewi Yuliana, Ni Ketut Ayu Juliasih, Ni Luh Gede Sudaryati, I Wayan Suarda, Israil Sitepu

### Redaktur Ahli (*Peer Riview*)

Prof. Dr. I Dewa Made Tantera Keramas, MSc (Program Pasca Sarjana UNHI)

Dr. I Gede Ketut Adiputra (Program Studi Biologi UNHI)

Dr. I Wayan Suana, S.Si., M.Si ( Program Studi Biologi UNRAM)

**Jurnal Widya Biologi.** (ISSN No. 2086-5783) diterbitkan oleh Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hindu Indonesia Denpasar, sebagai wadah informasi ilmiah bidang biologi baik yang berupa hasil penelitian ataupun kajian pustaka

**Jurnal Widya Biologi** menerima naskah dari dosen, peneliti, mahasiswa maupun praktisi yang belum pernah diterbitkan dalam publikasi lain dengan ketentuan seperti tercantum pada bagian belakang jurnal ini.

### Langganan

Jurnal Widya Biologi terbit dua nomor dalam satu tahun (Maret dan Oktober). Langganan untuk satu tahun (termasuk ongkos kirim) sebagai berikut:

1. Lembaga/Institusi : Rp. 150.000,- (seratus lima puluh ribu rupiah)
2. Individu/Pribadi : Rp. 75.000,- (tujuh puluh Lima ribu rupiah)
3. Mahasiswa : Rp. 30.000,- (tiga puluh ribu rupiah)

Pembayaran dapat dilakukan dengan cara: a) Pembayaran langsung, b) wesel pos. Salinan bukti pembayaran (b) harap dikirimkan ke redaksi.

### Alamat Redaksi

Program Studi Biologi FMIPA UNHI  
Jl Sangalangit, Tembau-Penatih, Denpasar, Bali  
E-mail : [widyabiologi@yahoo.co.id](mailto:widyabiologi@yahoo.co.id)  
Website : [www.unhi.ac.id](http://www.unhi.ac.id)

## DAFTAR ISI

### WIDYABILOGI

- PENGARUH AUXIN DAN NUTRIENT TERHADAP VIABILITAS DAN PERTUMBUHAN BIBIT ANGGREK BOTOL PADA LINGKUNGAN EX-VITRO.  
I Gede Ketut Adiputra ..... 1-9
- GAMBARAN MIKROSKOPIS HEPATOSIT MENCIT (*Mus musculus L.*) SETELAH PEMBERIAN PERASAN UMBI SINGKONG SAO PEDRO PETRO (*Manihot utilissima Pohl*)  
Ni Nyoman Wirasiti ..... 10-17
- ANALISIS KANDUNGAN LOGAM BERAT PADA LAHAN PERTANIAN DI PINGGIR DANAU BUYAN BALI  
Ni Luh Suriani dan Ni Made Susun Parwanayoni ..... 18-21
- BIOREMEDIASI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) DAN CHADMIUM (Cd) PADA AIR TERCEMAR LIMBAH INDUSTRI PENCELUPAN DENGAN TUMBUHAN AIR (*Limnocharis flava*)  
Ni Made Susun Parwanayoni dan Ni Luh Suriani ..... 22-26
- KONSUMSI SAYURAN DAN BUAH-BUAHAN MEMICU EKSPRESI GEN PENYANDI ANTIOKSIDAN MELALUI AKTIVASI *NUCLEAR FACTOR-ERYTHROID 2-RELATED FACTOR 2 (Nrf2)*  
I Nyoman Arsana ..... 27-35
- PENGARUH BEBERAPA JENIS PUPUK ORGANIK TERHADAP PERTUMBUHAN TINGGI TANAMAN DAN JUMLAH DAUN CABAI RAWIT VARIETAS CENGEK (*Capsicum frutescens L.*)  
I Kadek Duarsa, Israil Sitepu ..... 36-43
- BERKUMUR EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) MENURUNKAN TOTAL MIKROBA DALAM MULUT DAN AKUMULASI PLAK GIGI  
Ni Kadek Suartini dan Ni Ketut Ayu Juliasih ..... 44-51

# PENGARUH AUXIN DAN NUTRIENT TERHADAP VIABILITAS DAN PERTUMBUHAN BIBIT ANGGREK BOTOL PADA LINGKUNGAN EX-VITRO.

I Gede Ketut Adiputra

Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Hindu Indonesia

Jl. Sangalangit, Tembau, Penatih, Denpasar.

Email: dr\_gede\_adiputra@yahoo.co.id

## ABSTRAK

Fase awal pada lingkungan ex-vitro merupakan fase kritis bagi bibit anggrek botol yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan. Kemampuan tanaman untuk mensintesis senyawa organik masih lemah tetapi lingkungan baru ex-vitro sangat keras. Oleh karena itu, aktivitas autotrofik perlu diinduksi agar tanaman dapat merespon perubahan pada lingkungan baru melalui perbaikan struktur atau fungsi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah unsur hara anorganik ataupun hormon pertumbuhan auxin merupakan faktor esensial dalam induksi perbaikan respon tanaman ini. Bibit anggrek botol phalaenopsis dipindahkan ke media moss sebelum diberikan supplement yang mengandung auxin, pupuk lengkap anorganik atau hanya disiram dengan air sebagai kontrol. Parameter pertumbuhan seperti viabilitas, jumlah akar dan daun diukur setelah berakhirnya pemberian perlakuan selama 5 minggu, gejala-gejala fisiologis secara visual diobservasi selama 5 minggu pemberian perlakuan. Penelitian ini menemukan bahwa pertumbuhan yang normal dari bibit yang baru ditransplantasi ke lingkungan ex-vitro terjadi pada tanaman yang diberikan supplement auxin. Bibit yang diberi pupuk anorganik mengalami penurunan viabilitas dan tanaman yang hanya disiram air mengalami penuaan yang cepat. Penelitian ini menyimpulkan bahwa bibit hasil kultur jaringan belum memiliki struktur atau fungsi yang cukup kuat untuk mengatur keseimbangan ion didalam sel.

**Kata kunci:** induksi, anggrek, auxin, nutrient, viabilitas.

## ABSTRACT

*Initial period of growth after transplantation is a critical period for plantlet previously propagated in tissue culture system. While autotrophic activity are remaining very low, new ex-vitro environment is very harsh. Therefore, phototrophic activity in the plants has to be enhanced to facilitate the ability of the plants to make an appropriate respond for the environmental changes. This research was performed to assess whether inorganic nutrient or plants hormone is more importance for the initial growth after transplantation into ex-vitro environment. Orchid plantlets from tissues culture were transferred into moss growth medium before added full strength of auxin containing supplement, inorganic fertilizer or only sprayed with tap water as control plants. Whereas growth parameter such as, viability, fresh weight, roots and leaf length were measured at the conclusion of 5 weeks treatments; physiological symptoms were visually observed during the 5 weeks treatments. This study found that a satisfactory growth of newly transferred plantlet into ex-vitro environment was occurred in plants sprayed with auxin containing supplement. However, a high mortality was found in plants sprayed with inorganic fertilizer and leaves of control plants were showing early senescence. It is concluded that micropropagated plants has low capability to regulate ion homeostasis in it cells because anatomical or physiological abnormality.*

**Key words;** induction, orchid, auxin, nutrient, viabilities.

## PENDAHULUAN

Induksi perbaikan struktur dan fungsi bibit tanaman hasil kultur jaringan perlu dilakukan karena tanaman ini memiliki kekhususan pertumbuhan. Misalnya; (1) hipotrofi dan hipoplasia yaitu ukuran helai daun sangat berkurang dan memiliki jaringan pengangkutan yang lebih sedikit (Robinson *et al.*, 2009). (2) mekanisme kontrol penguapan yang tidak normal (Dhawan dan Bhojwani, 1987; Preece 2010). (3) penurunan jumlah enzim Rubisco (Premkumar *et al.*, 2001). (4) *shoot/root* rasio lebih rendah dari pada tanaman *in-vivo* (Drew *et al.*, 1992). Kekhususan yang dimiliki oleh tanaman hasil kultur jaringan ini sangat merugikan viabilitas terutama setelah transplantasi ke lingkungan *ex-vitro*. Secara teori, pertumbuhan bagian atas tanaman berhubungan erat dengan fungsi akar sebagai penyedia unsur hara anorganik maupun penyerapan air. Hubungan yang erat ini dapat dilihat pada gejala defisiensi unsur hara. Tanaman yang mengalami defisiensi unsur hara sulfur akan menurunkan secara signifikan kadar klorofil total pada daun (Lee *et al.*, 2012). Disamping itu, kondisi air dan unsur hara pada lingkungan perakaran dapat memberi sinyal terhadap stomata, pembelahan sel dan penampilan daun untuk tujuan adaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungan (Passioura, 2002). Hubungan yang erat antara ketersediaan unsur hara esensial dan pertumbuhan ini hanya dapat terjadi jika sistem transportasi pada tanaman terorganisasi secara kontinyu. Sistem transpor ini secara fungsional menghubungkan seluruh bagian atas tanaman dengan seluruh bagian sistem perakaran (Scarpella dan Meijer, 2004).

Ketidaknormalan tanaman hasil kultur jaringan terutama diakibatkan oleh kondisi media pertumbuhan di dalam kultur (Rao dan Narayanaswami, 1972; Hazarika *et al.*, 2002). Misalnya, karena sistem kultur jaringan memberi kondisi stres minimal dan kondisi pertumbuhan optimal, maka tanaman dapat berkembang dengan sangat cepat. Akan tetapi tanaman yang tumbuh seperti ini memiliki struktur dan fungsi

yang abnormal. Pemberian gula *exogenous* dapat menumbuhkan plantlet yang nampak normal, tetapi perangkat fotosintesisnya tidak aktif. Kondisi kultur jaringan juga mengakibatkan daun memiliki lapisan lilin yang rendah dan fungsi stomata yang tidak normal sehingga tanaman tidak mampu mengendalikan kehilangan air karena penguapan. Oleh karena lingkungan baru *ex-vitro* sangat tidak ideal dan tidak mampu mendukung pertumbuhan tanaman yang memiliki berbagai varian struktur dan fungsi, maka penyempurnaan perlu diinduksi agar mekanisme redistribusi nutrisi anorganik dari akar dan hasil fotosintesis dari daun dapat segera berlangsung secara normal untuk mempertinggi viabilitas.

Teixeira *et al.* 2005, menguji secara *in-vitro* pengaruh pengayaan CO<sub>2</sub> terhadap anggrek cymbidium. Penelitian ini menemukan bahwa pemberian CO<sub>2</sub> konsentrasi tinggi pada media cair tanpa sukrosa dapat meningkatkan fotosintesis. Tanaman ini selanjutnya menghasilkan berat yang lebih tinggi pada lingkungan *ex-vitro*. Hasil penelitian ini konsisten dengan penelitian yang dilaporkan oleh Mulholland *et al.* (1997), bahwa peningkatan kadar CO<sub>2</sub> atmosfer dapat meningkatkan aktivitas fotosintesis.

Selain penggunaan pengayaan CO<sub>2</sub>, perbaikan pertumbuhan tanaman hasil kultur jaringan juga telah dilakukan dengan manipulasi media kultur. Deb dan Imchen (2010), melakukan aklimatisasi secara *in-vitro* dengan menurunkan konsentrasi larutan MS menjadi 1/10. Nutrien MS ini kemudian diganti dengan air dan tanaman ditumbuhkan pada media arang, bata dan kayu. Teknik ini dapat meningkatkan viabilitas dengan biaya lebih murah. Penelitian yang hampir sama juga dilakukan oleh Lamhamedi *et al.* (2003). Tanaman hasil kultur jaringan ditumbuhkan pada media yang mengandung sukrosa selama 6 minggu dan kemudian ditumbuhkan dalam media tanpa sukrosa selama 6 minggu sebelum dipindahkan ke media tanah. Penelitian ini menyimpulkan

bahwa aklimatisasi tanpa sukrosa *in-vitro* dapat meningkatkan kapasitas fotosintesis.

Aklimatisasi *in-vitro* baik melalui pengayaan CO<sub>2</sub> ataupun melalui manipulasi media kultur nampaknya masih memerlukan aklimatisasi lanjutan. Aklimatisasi ini diperlukan karena adanya perubahan kondisi pertumbuhan seperti kelembaban relatif yang lebih rendah, intensitas sinar lebih tinggi dan tidak aseptik (Hazarika *et al.* 2002). Perubahan kondisi yang cepat pada waktu transplantasi dapat mengakibatkan stres dan tanaman mengalami hambatan pertumbuhan, pengurangan aktivitas metabolisme, aktivitas fotosintesis dan realokasi sumber metabolit (Tognetti *et al.* 2012). Pada kondisi yang serius, tanaman ini dapat mengalami peningkatan mortalitas pada fase setelah transplantasi (Lamhamedi, 2003). Oleh karena itu, walaupun aklimatisasi telah dilakukan pada lingkungan *in-vitro*, tetapi pada awal pertumbuhannya pada lingkungan *ex-vitro* tanaman masih memerlukan penyempurnaan pertumbuhan.

Menurut Tognetti *et al.* (2012), senyawa yang berperan penting dalam menghadapi stres akibat perubahan lingkungan adalah auxin. Auxin ini merupakan fitohormon yang memediasi berbagai respon perkembangan dan pertumbuhan (Napier dan Venis, 1995), mengkoordinasi fisiologi dan perkembangan tanaman (Robert dan Friml, 2009) dan merangsang perpanjangan dan pembelahan sel (Campanoni dan Nick, 2005). Perbaikan struktur yang terjadi melalui pemberian auxin ini selanjutnya memerlukan koordinasi dengan produk metabolisme terutama sukrosa. Kedua senyawa ini merupakan signal untuk mengarahkan pertumbuhan tanaman sebagai respon adaptasi (Hammond dan White, 2008). Secara kebetulan, auxin juga dapat menaikkan laju fotosintesis (Bidwell dan Turner, 1966, Ben-Gera *et al.*, 2012). Jadi induksi auksin menjadi sangat penting untuk penyempurnaan pertumbuhan pada lingkungan baru *ex-vitro*. Menurut Reed *et al.* (1998), aliran auksin secara polar dari daun ke akar sangat menentukan

pertumbuhan akar. Pertumbuhan akar yang normal selanjutnya sangat penting untuk menyediakan substrat bagi biosintesis berbagai senyawa organik di daun.

Agar biosintesis senyawa struktural maupun fungsional dapat berlangsung secara berkelanjutan, maka setelah penyempurnaan struktur dan fungsi terjadi, keberlanjutan impor nutrien anorganik diperlukan. Akan tetapi, waktu pemberian dan dosis senyawa anorganik yang diperlukan oleh tanaman anggrek botol phalaenopsis pada lingkungan baru *ex-vitro* tersebut masih belum jelas, apakah dapat diberikan bersamaan dengan pemberian auxin ataukah setelah perlakuan dengan auxin.

## BAHAN DAN METODE

Bibit anggrek yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan dan dijual dalam kemasan botol, dibeli dari pedagang anggrek. Botol-botol tersebut dibungkus dengan beberapa lapis kertas koran kemudian dipecahkan untuk mengeluarkan bibit anggrek yang ada di dalam botol. Media kultur yang masih melekat pada bibit tanaman dibersihkan dengan semprotan air dan kemudian dikeringkan di atas kertas. Bibit ini selanjutnya ditanam dalam kompot pada media moss dalam *tray* plastik berlubang. Kompot ini kemudian ditempatkan dalam tempat persemaian yang telah diberi jaring *shading net*.

Suplemen auxin yang digunakan dalam penelitian ini merupakan larutan yang mengandung senyawa organik dan senyawa anorganik. Komposisi senyawa yang ada pada suplemen ini adalah seperti yang disajikan pada Tabel 1. Senyawa ini diberikan dengan dosis *full strength* yaitu sama dengan dosis yang dianjurkan pada pemakaian. Dua kompot bibit anggrek disiram setiap hari dengan larutan ini menggunakan *hand sprayer* selama 5 minggu. Satu kompot bibit anggrek juga disiram setiap hari menggunakan pupuk anorganik lengkap dengan dosis *full strength*. Pupuk ini memiliki komposisi seperti disajikan pada Tabel 1. Pupuk ini dijual dalam bentuk serbuk, sehingga harus

Tabel 1. Komposisi suplemen auxin (Liquinox) dan pupuk anorganik (Hyponex) yang digunakan dalam penelitian ini.

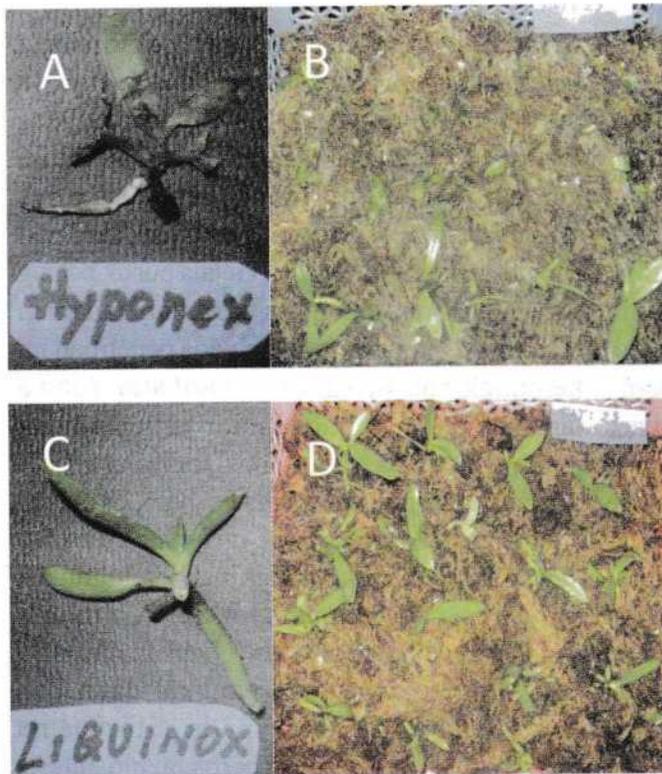
No	Nama	Komposisi (%)
<b>A. Auxin containing supplement (Liquinox)</b>		
1.	Organic compound	
a.	Vit. B1	0,10
b.	Alpha Naphthalene Acetic acid	0,04
c.	Organic Yucca extract	
2.	Inorganic compound	
a.	Phosphoric acid ( $P_2O_5$ )	2,00
b.	Iron (Fe)	0,10
c.	Innert ingredient	90,90
<b>B. Inorganic fertilizer (Hyponex)</b>		
1.	Macronutrient	
a.	Nitrate nitrogen	2,4
b.	Ammoniacal nitrogen	6,6
c.	Water soluble nitrogen	1,0
d.	Water insoluble nitrogen	0,0
e.	Phosphoric acid ( $P_2O_5$ )	40
f.	Soluble Potash ( $K_2O$ )	15
2.	Micronutrient	
a.	Boron (B)	
b.	Calcium (Ca)	
c.	Cobalt (Co)	
d.	Iron (Fe)	
e.	Magnesium (Mg)	
f.	Manganese (Mn)	
g.	Molybdenum (Mo)	
h.	Zinc (Zn)	

dilarutkan sebelum pemakaian menggunakan *hand sprayer*. Satu kompot sebagai kontrol hanya disiram dengan air. Secara keseluruhan, jumlah bibit angrek yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 kompot.

## HASIL

Bibit angrek botol yang diberi unsur hara lengkap maupun yang hanya disiram dengan air mengalami gangguan pertumbuhan. Akan tetapi, gangguan ini tidak ditemukan pada tanaman yang diberi suplemen liquinox. Gangguan pertumbuhan berupa gejala busuk batang pertama kali ditemukan setelah tanaman diberi unsur hara lengkap hyponex selama 14 hari. Bagian pangkal helaian daun nampak membusuk dan jika helai daun ini

diangkat maka akan mudah terlepas dari bagian lain tanaman (Gambar 1A). Pada HST 23, viabilitas tanaman ini hanya mencapai 50% (Gambar 1B). Karena kerusakan tanaman nampak sangat hebat, setelah HST 23 tanaman ini tidak lagi diberi unsur hara lengkap hyponex tetapi hanya disiram dengan air. Walaupun daun dari tanaman yang tersisa ini tidak menunjukkan gejala busuk batang, tetapi jumlah akar yang dimiliki lebih sedikit dari tanaman yang diberi Liquinox. Beberapa dari akar ini nampak mengkerut kemungkinan karena mengalami kehilangan turgor (Gambar 1A). Tanaman yang diberi supplement liquinox tidak menunjukkan gejala busuk batang (Gambar 1 C) dan viabilitasnya 100% pada periode yang sama (Gambar 1D).



Gambar 1. Bibit angrek dari botol yang sama ditumbuhkan dalam 2 kompot. Kompot 1 diberi suplemen yang mengandung auxin (Liquinox) dan kompot ke 2 diberi pupuk anorganik lengkap Hyponex. Bibit yang diberi Hyponex menunjukkan gejala busuk batang (A) dan viabilitas hanya 50% pada HST 23 (B). Bibit yang diberi liquinox tidak menunjukkan gejala busuk batang (C) dan viabilitas 100% pada HST yang sama (D).



Gambar 2. Bibit angrek dari 2 botol yang berbeda ditumbuhkan dalam 2 kompot. Kompot 1 diberi suplemen yang mengandung auxin (Liquinox) dan kompot ke 2 hanya disiram dengan air. Bibit yang hanya disiram dengan air menunjukkan gejala penuaan dini, daun yang lebih tua mengalami klorosis sangat cepat mulai tampak pada HST 10 (B). Bibit yang diberi liquinox tidak menunjukkan gejala penuaan dini dan pertumbuhan nampak normal pada periode yang sama (A).

Berbeda dengan tanaman yang diberi unsur hara, tanaman yang hanya disiram dengan air menunjukkan gejala klorosis yang sangat cepat yaitu pada HST 10. Gejala ini terutama dijumpai pada daun yang lebih tua (Gambar 2B). Walaupun kerusakan tidak seberat tanaman yang diberi unsur hara full strength, tanaman yang hanya disiram dengan air ini juga mengalami penurunan viabilitas. Bibit anggrek botol yang diberi suplemen liquinox tidak menunjukkan gejala busuk batang maupun klorosis (Gambar 2A). Suplemen ini mengandung senyawa organik (Vit. B1, alpha naphthalene acetic acid) maupun senyawa anorganik ( $P_2O_5$  dan besi). Senyawa-senyawa ini merupakan bagian dari penyusun media tanam kultur jaringan. Pada lingkungan yang alami, senyawa organik tersebut tidak tersedia secara exogenous tetapi disintesis oleh tanaman secara autotroph.

## PEMBAHASAN

Terjadinya kerusakan pertumbuhan jika tidak diberi suplemen yang mengandung senyawa organik menimbulkan beberapa spekulasi tentang fungsi struktur tanaman hasil kultur jaringan. Pada tahap awal, proses transplantasi merupakan perubahan kondisi lingkungan yang cepat, dan perubahan ini dapat menimbulkan stres (Tognetti *et al.* 2012). Stres yang terjadi pada tanaman ini tidak dapat diatasi dengan pemberian senyawa anorganik atau hanya dengan pemberian air. Pemberian unsur hara lengkap *full strength* bahkan menyebabkan terjadinya mortalitas yang tinggi pada tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa stres yang disebabkan oleh transplantasi ke lingkungan *ex-vitro* menyebabkan terjadinya perubahan keseimbangan konsentrasi ion-ion di dalam sel. Pemeliharaan keseimbangan ini merupakan masalah fundamental bagi fisiologi kehidupan sel karena berfungsi untuk mengurangi ion yang telah berada pada konsentrasi toksik atau menambah ion yang masih berada pada tingkat kekurangan (Zhu, 2007). Pada penelitian ini, pemberian unsur hara lengkap kemungkinan menyebabkan terjadinya akumulasi ion toksik

pada daerah sitoplasma yang merupakan tempat berlangsungnya berbagai biosintesis senyawa organik. Menurut Munns (2002), tanaman yang toleran terhadap kadar garam tinggi memiliki kemampuan untuk mencegah terjadinya akumulasi garam sampai tingkat toksik di daerah sitoplasma dan dinding sel. Gejala busuk batang atau mudahnya daun terlepas dari tanaman (Gambar 2) yang ditemukan pada penelitian ini kemungkinan merupakan indikator bahwa tanaman anggrek hasil kultur jaringan tidak mampu mengatasi akumulasi ion yang terjadi setelah pemberian unsur hara lengkap. Di daerah sitoplasma dan dinding sel, unsur hara lengkap yang diberikan ini kemungkinan terakumulasi sampai mencapai tingkat toksik. Akumulasi toksik pada dinding sel menyebabkan rusaknya struktur terutama pada pangkal daun dan akumulasi ion toksik pada sitoplasma menyebabkan terhentinya berbagai biosintesis senyawa fungsional. Situasi ini kemudian menyebabkan terjadinya mortalitas yang tinggi pada tanaman yang diberi unsur hara lengkap.

Kemungkinan lain adalah tanaman yang ditransplantasi ke lingkungan *ex-vitro* ini mengalami stres bukan karena transplantasi tetapi terutama disebabkan oleh stres garam tinggi (*salt stress*). Stres garam tinggi ini dapat menyebabkan terjadinya hyperosmolaritas dan ketidakseimbangan ion (Yokoi *et al.*, 2002). Hal ini sesuai dengan pendapat Junghans *et al.*, (2006) bahwa *salt stress* mempunyai pengaruh yang sama dengan kekeringan yaitu menyebabkan osmotik stres. Stres osmosis ini selanjutnya menyebabkan terjadinya penurunan transpor auxin. Pada penelitian ini, penurunan transpor auksin kemungkinan terjadi dan menyebabkan terhentinya berbagai koordinasi fisiologis pada tanaman. Salah satu akibatnya adalah akumulasi ion toksik pada daerah sitoplasma atau dinding sel menyebabkan terhentinya berbagai aktivitas metabolik sitoplasma.

Variasi struktur dan fungsi akibat ketergantungan tanaman dari senyawa organik

exogenous pada kondisi lingkungan *in-vitro* (Robinson *et al.*, 2009; Dhawan dan Bhojwani, 1987; Preece, 2010, Premkumar *et al.*, 2001), kemungkinan juga dapat memberi kontribusi terhadap terjadinya akumulasi ion toksik ini. Pada kondisi struktur dan fungsi yang belum normal, ketersediaan unsur hara yang meningkat tidak segera diubah menjadi senyawa organik untuk pertumbuhan tetapi justru dibiarkan terakumulasi sampai pada level toksik di daerah sitoplasma. Biosintesis senyawa anorganik menjadi senyawa organik yang tidak proporsional ini dapat terjadi akibat lambatnya penyerapan dan redistribusi senyawa anorganik akibat sedikitnya jaringan pengangkutan, sedikitnya CO<sub>2</sub> yang memasuki daun dan tidak terkendalinya penguapan oleh stomata. Oleh karena itu, jika tanaman hanya diberi air pada lingkungan baru *ex-vitro*, senyawa fungsional yang ada pada daun tidak dapat di reproduksi. Pada kondisi ini, sedikitnya biosintesis senyawa organik baru, mengakibatkan jumlah substrat yang diperlukan untuk biosintesis makromolekul tidak tersedia dalam jumlah yang cukup. Tanaman tidak mampu memberi respon fisiologi atau struktur yang memadai untuk menghadapi lingkungan baru yang keras seperti kekeringan, intensitas sinar yang lebih tinggi atau adanya serangan penyakit.

Berbeda dengan pemberian unsur hara lengkap, pemberian suplemen liquinox dapat memelihara pertumbuhan yang normal pada lingkungan baru *ex-vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa organik (auksin dan Vit. B1) dan senyawa anorganik (fosfat dan besi) yang terdapat pada suplemen liquinox ini memiliki fungsi penting dalam proses adaptasi. Fungsi ini meliputi pemeliharaan keseimbangan ion dan peningkatan biosintesis senyawa organik dari senyawa anorganik. Hal ini sesuai dengan

pendapat Napier dan Venis (1995), Robert dan Friml (2009), yang mengatakan bahwa hormon auxin berfungsi untuk memediasi berbagai respon pertumbuhan dan mengkoordinasi fisiologi dan perkembangan tanaman. Temuan ini selanjutnya menimbulkan beberapa pertanyaan; kenapa anggrek hasil kultur jaringan ini tidak mampu menghasilkan hormon auxin dalam jumlah yang cukup sehingga harus diberikan secara exogenous? Apakah ketergantungan ini bersifat permanen atau dapat diatasi setelah periode aklimatisasi sehingga tanaman mampu melakukan biosintesis secara autotrofik? Untuk menjawab pertanyaan ini maka diperlukan penelitian lanjutan. Metode yang dapat diusulkan untuk menjawab pertanyaan ini adalah melakukan peningkatan pemberian unsur hara secara bertahap, bersamaan dengan periode pengurangan pemberian auxin *exogenous*.

## KESIMPULAN

Anggrek botol yang dikembangkan melalui teknik kultur jaringan masih memerlukan penyempurnaan struktur dan fungsi setelah transplantasi ke lingkungan *ex-vitro*. Penyempurnaan ini dapat dilakukan dengan pemberian suplemen yang mengandung auxin sejak tanaman ditransplantasi ke lingkungan baru *ex-vitro*. Akan tetapi belum diketahui berapa lama pemberian ini harus dilakukan sampai tanaman benar-benar mampu memenuhi kebutuhannya akan senyawa organik untuk pertumbuhan dan reproduksi. Jadi penelitian ini menyimpulkan bahwa tanaman anggrek yang sebelumnya dikembangkan dengan teknik kultur jaringan masih memiliki sifat heterofil yaitu ketergantungan terhadap senyawa organik *exogenous*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ben-Gera, H., I. Shwartz, M.R. Shao, E. Shani, M. Estelle, dan N. Ori. 2012. Entire and goblet promote leaflet development in tomato by modulating auxin response. *The Plant Journal*, Volume 70, Issue 6, pages 903–915. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.04939.x
- Bidwell, R.G.S. dan W.B. Turner. 1966. Effect of growth regulators on CO<sub>2</sub> assimilation in leaves, and in its correlation with the bud break response in photosynthesis. *Plant Physiol.* 41: 267-270.
- Campanoni, P. dan P. Nick. 2005. Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-naphthaleneacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways. *Plant Physiol.* vol.137 no.3; 939-948.
- Deb, C.R. dan T. Imchen. 2010. An efficient in-vitro hardening technique of tissue culture raised plants. *Biotechnology*. Dept. Of Botany, Nagaland University, India.
- Dhawan, V. dan S.S. Bhojwani. 1987. Hardening in vitro and morpho-physiological changes in the leaves during acclimatization of micropropagated plants of *Leucaena leucocephala* (LAM.) de wit. *Plant Science* vol. 53, issue 1, pp. 65-72.
- Drew, A.p., K.I. Kavanagh, C.A. Maynard. 1992. Acclimatizing micropropagated black cherry by comparison with half-sib seedlings. *Physiologia Plantarum* 86: 459-464.
- Hammond, J.P. dan P.J. White. 2008. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. *Journal of Experimental Botany*, vol 59, No. 1, pp. 93-109. Doi: 10.1093/jxb/erm221.
- Hazarika, B.N., V.A. Parthasarathy dan Bhowmik 2002. The physiological status of micropropagated plants –A review. *Agric. Rev.* 23(1):53-58.
- Junghans, U., A. Polle, P. DÜchting, E. Weiler, B. Kuhlman, F. Gruber, dan T. Teichmann. 2006. Adaptation to high salinity in poplar involves changes in xylem anatomy and auxin physiology. *Plant, Cell and Environment* 29, 1519–1531. doi: 10.1111/j.1365-3040.2006.01529.x.
- Lamhamedi, M.S., H. Chamberland dan F.M. Tremblay. 2003. Epidermal transpiration, ultrastructural characteristics and net photosynthesis of white spruce somatic seedlings in response to in vitro acclimatization. *Physiologia Plantarum*, 118: 554–561. doi: 10.1034/j.1399-3054.2003.00146.x
- Lee, B.R., S. Muneer, K.Y. Kim, J.C. Avicé, A. Ourry dan T.H. Kim. 2012. S-deficiency responsive accumulation of amino acids is mainly due to hydrolysis of the previously synthesized proteins – not to de novo synthesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01669.x
- Mulholland, B.J., J. Craigon, C.R. Black, J.J. Colls, J. Atherton, dan G. Landon. 1997. Impact of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on gas exchange and chlorophyll content in spring wheat (*Triticum aestivum* L). *Journal of experimental Botany*, vol. 48, No. 315, pp. 1853-1863.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25:239-250.
- Napier, R.M. and M. Venis. 1995. Auxin action and auxin-binding proteins. *New Phytologist*, Vol.129, Issue 2: 167-201.

- Passioura, J.B. 2002. 'Soil conditions and plant growth'. *Plant, Cell & Environment*, 25: 311-318. doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00802.x
- Preece, J.E. 2010. Acclimatization of Plantlets from *In vitro* to the Ambient Environment. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. 1-9
- Premkumar, A, J.A. Mercado dan M.A. Quesada. 2001. Effects of *in vitro* tissue culture conditions and acclimatization on the contents of Rubisco, leaf soluble proteins, photosynthetic pigments, and C/N ratio. *Journal of Plant Physiology*, Volume 158, Issue 7, pp. 835-840
- Rao, P.S. dan S.Narayanaswami. 1972. Morphogenetic investigations in callus cultures of *Tylophora indica*. *Physiologia Plantarum*, 27: 271-276. doi: 10.1111/j.1399-3054.1972.tb03613.x
- Reed, R.C., S.R. Brady, G.K. Muday. 1998. Inhibition of auxin movement from the shoot into the root inhibits lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 118: 1369-1378.
- Robert, H.S. dan J. Friml. 2009. Auxin and other signals on the move in plants. *Nature Chemical Biology* 5, 325-332. Doi:10.1038/nchembio.170
- Robinson, J.P., S.J. Britto dan S. Santhilkumar. 2009. Comparative anatomical studies on *Emilia zeylanica* C.B. Clarke with *in vitro* regenerated plants. *Middle-East Journal of Scientific research* 4 (3): 140-143.
- Teixeira da Silva, J.A., D.D.T. Giang, dan M. Tanaka. 2005. *In vitro* acclimatization of banana and cymbidium. *International Journal of Botany* 1 (1):41-49.
- Tognetti, V.B., Muhlenbock, dan F.V. Breusegem. 2012. Stress homeostasis-the redox and auxin perspective. *Plant, Cell & Environment*. Volume 35, Issue 2:321-333.
- Yokoi, S., R.A. Bressan and P.M. Hasegawa. 2002. Salt stress tolerance of plants. JIRCAS working report 25-33.
- Zhu, J-K. 2007. Plant salt stress. *Encyclopedia of life sciences*. John Wiley & Sons.