



Pengaruh asam absisat terhadap viabilitas biji sintesis *Grammatophyllum scriptum* (Orchidaceae) selama masa penyimpanan kering

EVITA MULIAWATI, ENDANG ANGGARWULAN, ARI PITOYO*

Muliawati E, Anggarwulan E, Pitoyo A. 2015. Effects of abscisic acid on viability of synthetic seed of *Grammatophyllum scriptum* (Orchidaceae) during dried storage periods. *Bioteknologi* 13: 1-8. This research was aimed to extend the self-life of plbs of Tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum*) by the development of desiccated synthetic seed, a hydrogel bead of calcium-alginate that embedded the plb inside them. The length of the self-life is achieved by the application of Abscissic Acid (ABA), a plant growth retardant. The experiment was prepared by completely randomized designed with 5 treatments of ABA concentrations (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L) and 5 replication each treatment. The successful of the treatments would be presented by the ability of the synthetic seed to postpone their germination during storage periods and can redraw to germinate after rehydration. The result shows that, desiccation treatments during storage can inhibit the germination of synthetic seed. ABA application in low concentration, 5 mg/L, can protect the viability of plbs during storage periods and germinate them after rehydration.

♥ Alamat korespondensi:

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57 126, Central Java, Indonesia. Tel.: +62-271-637457. *email: aripitoyo@mipa.uns.ac.id

Manuskrip diterima: 5 November 2014. Revisi disetujui: 17 Januari 2016.

Keywords: *Grammatophyllum scriptum*, desiccation, ABA, synthetic seed, plb viability

Muliawati E, Anggarwulan E, Pitoyo A. 2015. Pengaruh asam absisat terhadap viabilitas biji sintesis *Grammatophyllum scriptum* (Orchidaceae) selama masa penyimpanan kering. *Bioteknologi* 13: 1-8. Penelitian ini bertujuan untuk memperpanjang masa simpan biji sintetik *Grammatophyllum scriptum* (Orchidaceae), berupa suatu selubung hidrogel kalsium alginate yang membungkus dan melindungi eksplan plb *G. scriptum* di dalamnya. Pemanjangan masa simpan diperoleh melalui pendekatan hormonal berupa aplikasi Asam Absisat (ABA) pada matrik enkapsulasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan variasi konsentrasi ABA (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L) dengan 5 ulangan. Keberhasilan masa simpan diwujudkan dalam penundaan perkecambahan selama periode penyimpanan, dan kemampuan perkecambahan setelah rehidrasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan kering dapat menunda perkecambahan biji sintetik untuk meningkatkan masa simpan. Pemberian ABA pada konsentrasi rendah, 5 mg/L menunjukkan kemampuan dalam menjaga viabilitas plb *G. scriptum* selama mengalami masa simpan kering.

Kata kunci: *Grammatophyllum scriptum*, pengeringan, ABA, biji sintesis, viabilitas plb

PENDAHULUAN

Sifat biologi reproduksi anggrek seperti kebutuhan serangga sebagai sumber polinasi dan ketergantungan hidup pada cendawan menjadikan kelompok tumbuhan ini sangat rentan terhadap koleksi yang berlebihan ataupun kerusakan habitat. Untuk itu, usaha konservasi

melalui perbanyakan perlu dilaksanakan. Salah satu jenis anggrek yang berpotensi sebagai tanaman hias karena ciri khas bunganya adalah *Grammatophyllum scriptum*.

Sejak keberhasilan perkecambahan biji anggrek secara asimbiotik melalui kultur di media dan lingkungan steril (Knudson 1922), kultur *in vitro* telah sering digunakan sebagai teknologi

pilihan yang sangat menjanjikan untuk pemenuhan kebutuhan bibit tanaman yang akan dieksploitasi dan dimanfaatkan secara luas, khususnya anggrek (Arditti dan Ernst 1993). Akan tetapi teknologi ini memiliki keterbatasan yaitu anakan tidak bisa langsung ditanam pada media aseptik karena perbedaan lingkungan yang ekstrim di dalam dan di luar botol kultur seperti keadaan steril yang bebas virus dan ketersediaan air dan nutrisi yang terjamin.

Keterbatasan ini memunculkan ide pengembangan teknik enkapsulasi atau penyelubungan untuk tujuan membantu produk hasil kultur *in vitro* agar dapat ditanam langsung pada lahan tanam atau untuk penyimpanan jangka panjang. Teknik enkapsulasi juga dikenal sebagai biji sintetis karena kemiripan bentuk fisiknya yang menyerupai biji zigotik. Keberhasilan pengembangan biji sintetis pertama kali berhasil dilakukan oleh Redenbaugh et al. (1985) menggunakan bahan selubung hidrogel natrium alginat untuk enkapsulasi embrio somatik alfalfa (*Medicago sativa*).

Pemanfaatan biji sintetis cocok untuk tanaman yang memiliki biji tetapi tidak memiliki cukup cadangan makanan (endospermae) seperti pada anggrek (Benzing 1981). Pengemasan dengan biji sintetis dapat juga digunakan untuk menekan pertumbuhan eksplan semaksimal mungkin (Lestari et al. 2000). Sehingga dapat dimanfaatkan untuk tujuan penyimpanan plasma nutfah.

Perpaduan antara teknik enkapsulasi seperti pembuatan biji sintetis dan pemberian hormon yang mampu mengatasi cekaman kekeringan merupakan untuk memperpanjang waktu simpan guna pemenuhan bibit dalam jangka waktu tertentu. Penyimpanan dengan pertumbuhan minimal dapat menghemat tenaga serta biaya karena dengan menghambat pertumbuhan biakan maka frekuensi pembaharuan dapat ditekan serendah mungkin. Bila diperlukan maka biakan dapat diperbanyak secara cepat (Lestari dan Purnamaningsih 2005).

Pada teknik ini metode yang biasa digunakan disebut dengan penyimpanan pertumbuhan minimal yang dapat dilakukan menggunakan beberapa cara yaitu perlakuan suhu rendah atau kriopreservasi (Khoddamzadeh, et al. 2011), penambahan senyawa osmotik, dan pemberian hormon anti stres lingkungan yaitu asam absisat (Aridha et al. 2009; Lloyd dan Jackson 1986). Untuk menekan pertumbuhan biji sintetis dilakukan perlakuan awal berupa desikasi untuk mengurangi kadar air pada biji sintetis, sehingga

perlu ditambahkan senyawa yang sejalan fungsinya terhadap kondisi cekaman. Dengan demikian penambahan ABA pada teknik enkapsulasi diharapkan dapat mempertahankan biji sintetis anggrek agar tetap berada dalam kondisi viabilitas yang baik meski disimpan dalam waktu tertentu sebagai metode alternatif untuk penyimpanan jangka panjang. ABA telah diketahui memberikan peran pada proteksi bagi embrio somatik terhadap kehilangan air secara berlebihan dan meningkatkan angka survival saat diregenrasi membentuk individu lengkap (Aguilar et al. 2000; Danso dan Llyold 2008).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian untuk mengetahui pengaruh ABA pada kapsul hidrogel kalsium alginat terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji sintetis hasil enkapsulasi *plb* pada anggrek macan (*G. scriptum*) setelah mengalami masa simpan kering perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman

Bahan yang digunakan adalah *protocorm like body (plb)* anggrek *Grammatophyllum scriptum* koleksi Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Nutrisi dasar dan matriks enkapsulasi

Nutrisi dasar yang digunakan untuk pembuatan kapsul biji sintetis adalah garam Murashige & Skoog (MS) dari Caisson Lab. Larutan MS konsentrasi penuh dibuat dengan cara melarutkan 34,40 g serbuk MS pada aquades hingga volume 1 L. Stok larutan nutrisi dasar ini kemudian digunakan sebagai pelarut untuk membuat matriks enkapsulasi.

Matriks pembuat kapsul hidrogel kalsium alginat dipersiapkan dalam dua larutan terpisah, yaitu 3% larutan Alginat dan 75 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, masing-masing larutan menggunakan pelarut media dasar yang telah dibuat stok. Perlakuan variasi ABA pada matriks enkapsulasi dipersiapkan dengan cara menambahkan beberapa volume ABA pada larutan stok 3% hingga didapatkan seri konsentrasi 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L.

Pembuatan kapsul kalsium alginat (biji sintetis)

Kapsul biji sintetis dibuat dengan cara merendam eksplan *plb* *G. scriptum* hasil kultur *in vitro* pada larutan 3% alginat yang telah diperkaya dengan ABA (sesuai dengan rancangan perlakuan) selama 1 menit, kemudian

setiap *plb* diambil dengan menggunakan pipet tetes dan diberikan pada larutan 75 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hingga terbentuk suatu bulatan hidrogel biji sintetis. Setelah 30 menit biji sintetis ditiriskan dan dikeringkan hingga volumenya menyusut sekitar 50% dari bobot awal. Kemudian dilakukan penyimpanan kering steril (*in vitro*) selama 2 minggu. Sebagai pembanding diberikan kontrol berupa biji sintetis tanpa pengeringan. Semua kegiatan pembuatan ini dilakukan di laminar air flow.

Perkecambahan biji sintetis

Setelah mengalami masa simpan selama 2 minggu, biji sintetis kering di rehidrasi dengan cara merendam kapsul biji sintetis pada air hangat (50°C) hingga volumenya kembali ke volume sebelum pengeringan. Biji sintetis kemudian disimpan kembali dalam botol (*in vitro*) untuk diamati kemampuan perkecambahannya.

Pengamatan perkecambahan dan pertumbuhan

Pengamatan dilakukan terhadap parameter fisik dan pertumbuhan *plb* *G. scriptum* yang meliputi perkecambahan, pertumbuhan dan anatomi *plb*. Data perkecambahan meliputi persentase perkecambahan, kemunculan tunas dan akar, dan jumlah tunas yang terbentuk. Data pertumbuhan direpresentasikan oleh tinggi tunas.

Pengamatan anatomi *plb*

Pengamatan anatomi *plb* dilakukan dengan membuat preparat sayatan mikro paraffin dan diamati dibawah mikroskop. *Plb* difiksasi dengan larutan FAA (alkohol 70%: 90 bagian, asam asetat glacial: 5 bagian, formalin: 5 bagian), didehidrasi dengan alkohol bertingkat (20%, 40%, 60%, 70%, 80%, 95%, 100%), Setelah itu dilakukan clearing menggunakan xilol, dan diinfiltrasi dan dipadatkan pada *paraffin*. Pemotongan dengan ketebalan 10 μm menggunakan mikrotom, dan diwarnai dengan safranin 1 dalam alkohol 70%. Pengamatan dan dokumentasi menggunakan mikroskop yang dilengkapi kamera digital (Nikon).

Analisis data

Data kualitatif berupa sediaan anatomi dianalisis secara deskriptif. Data kuantitatif berupa kemunculan tunas, dan tinggi tunas dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA), jika ada perbedaan nyata dilanjutkan dengan DMRT taraf 5%.



Gambar 1. Biji sintetis anggrek *G. scriptum*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat fisik biji sintetis

Biji sintetis pada penelitian kali ini adalah suatu bulatan-bulatan hidrogel kalsium alginate yang dibentuk menyerupai biji yang didalamnya ditanam *plb* hasil kultur *in vitro* anggrek *G. scriptum* (Gambar 1).

Pada penelitian ini digunakan konsentrasi natrium alginat 3% dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 75 mM disebabkan karena pada konsentrasi tersebut akan menghasilkan struktur biji yang terbaik. Hal itu sesuai dengan yang dijelaskan oleh Ballester et al. (1997) bahwa konsentrasi natrium alginat 3% merupakan konsentrasi optimum yang digunakan dalam pembentukan kapsul untuk eksplan. Menurut Saiprasad dan Polisetty (2003), konsentrasi natrium alginat 3% dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 75 mM adalah konsentrasi terbaik untuk pembentukan enkapsulasi *plbs* *Dendrobium* 'Sonia'. Sementara menurut Larkin et al. (1988), konsentrasi natrium yang lebih rendah (2%) akan menghasilkan tekstur biji yang terlalu lunak, sulit ditangani sehingga akan mempersulit proses penanaman sedangkan jika konsentrasi alginat tinggi (6-8%) dapat menyebabkan biji terlalu keras sehingga dapat menghambat proses perkecambahan.

Biji yang telah dikering anginkan selama 5 jam mengalami susut kadar air kurang lebih sebanyak 45%. Selain penyusutan bobot, setelah penyimpanan kering juga terjadi perbedaan sifat fisik kapsul hidrogel kalsium alginat disajikan pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan adanya perubahan pada sifat fisik kapsul hidrogel kalsium alginat biji sintetis. Sebelum dikeringkan, biji sintetis tampak segar, berwarna bening, bentuk bulat dengan *plb* berwarna hijau segar di dalamnya. Setelah dikeringkan, kapsul hidrogel kalsium alginat mengalami perubahan dengan tampak lebih pucat, terdapat kerutan di bagian

luar kapsul, dengan *plb* yang masih berwarna hijau. Biji sintetik setelah direhidrasi tampak lebih segar, warna bening mengkilap dengan ukuran yang lebih besar atau meng-gembung, serta *plb* yang berwarna hijau segar.

Perbedaan sifat fisik dari kapsul hidrogel yang terjadi disebabkan karena pengaruh perbedaan ketersediaan air di dalam biji sintetik ataupun di lingkungan luar kapsul. Biji sintetik sebelum dikeringkan tampak segar disebabkan karena masih memiliki kadar air yang banyak pada selubung kapsulnya. Pada kapsul biji sintetik yang telah dikeringkan selama 2 minggu tampak adanya kerutan yang dimungkinkan terjadi karena keluarnya air dari kapsul pada keadaan lingkungan yang miskin air. Keluarnya air dari dalam biji sintetik akan menyebabkan perubahan pada sifat biji dengan munculnya kerutan dan warna menjadi pucat kering meski *plb* masih tampak hijau. Sementara itu, keadaan biji sintetik yang berubah setelah mengalami rehidrasi terjadi karena proses imbibisi yang cepat dari kondisi minim air menuju ketersediaan air yang memadai. Proses masuknya air ke dalam biji sintetik ditandai dengan pengembangan pada kapsul hidrogel kalsium alginat berupa warna mengkilap pada biji sintetiknya.

Perkecambahan biji sintetik selama penyimpanan

Biji sintetik selama penyimpanan diharapkan tidak mengalami perkecambahan. Perkecambahan yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah kemampuan *plb* untuk beregenerasi menembus kapsul hidrogel membentuk tunas

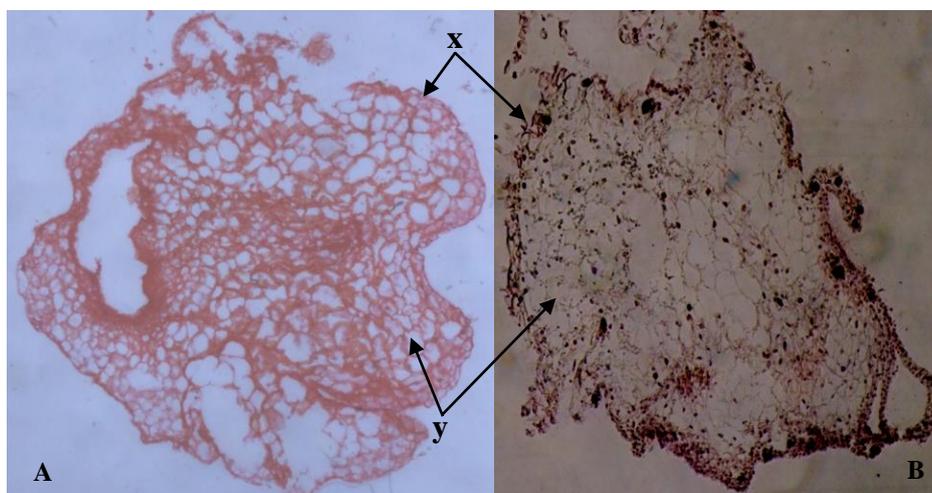
atau akar. Pada penelitian ini perkecambahan dilakukan untuk mengetahui keterkaitan antara penyimpanan kering dengan penambahan variasi konsentrasi ABA terhadap kemampuan perkecambahan biji sintetik. Proses tersebut akan menyebabkan kapsul hidrogel pada biji sintetik kehilangan air sehingga kebutuhan penyerapan air oleh *plb* menjadi terhambat.

Pengamatan anatomi

Pengamatan anatomi yang dilakukan terhadap *plb* biji sintetik sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan adanya perbedaan. Berdasarkan Gambar 2 tampak bagian tepi terdapat bagian sel yang tersusun rapat, pipih, membungkus bagian dalam sel dan tersusun memanjang yang disebut epidermis sementara bagian tengah disebut dengan parenkim. Pada kedua gambar tersebut tampak bahwa *plb* yang telah disimpan kering selama 2 minggu menyebabkan sel-sel yang tampak mengkerut pada bagian tepinya. Hal itu kemungkinan karena proses kekurangan air pada saat proses penyimpanan kering.

Tabel 1. Sifat fisik kapsul hidrogel kalsium alginat sebelum dan setelah pengeringan, dan setelah rehidrasi

Parameter	Sebelum pengeringan	Setelah pengeringan	Rehidrasi
Kesegaran	Segar	Pucat kering	Segar
Warna	Putih bening	Putih pucat	Bening mengkilap
Bentuk	Bulat	Mengkerut	Bulat menggembung



Gambar 2. Penampang membujur *plb* anggrek *G. scriptum* sebelum (A) dan setelah (B) dikeringkan; x: epidermis dan y: parenkim

Pengaruh pengeringan terhadap perkecambahan selama penyimpanan

Pembuatan biji sintetik pada kondisi tanpa pengeringan menyebabkan biji sintetik tersebut sudah menunjukkan aktivitas pertumbuhan dan perkembangan pada usia penyimpanan selama satu minggu penyimpanannya. Pertumbuhan dan perkembangan tersebut ditandai dengan munculnya tonjolan pada bagian *plb* yang ada di dalam kapsul hidrogel namun belum bisa menembus kapsul hidrogel. Aktivitas pertumbuhan dan perkembangan pada *plb* biji sintetik terus berlanjut hingga pada usia dua minggu menghasilkan perkecambahan seperti pada Gambar 3.A,B.

Berdasarkan Gambar 3.A,B, biji sintetik tanpa pengeringan tampak tumbuh dengan baik dalam umur 2 minggu setelah penanaman pada media kapas basah dan sudah memiliki daun yang jelas. Pada kondisi normal dengan kondisi ketersediaan air dan nutrisi yang mencukupi, biji sintetik akan dapat langsung berkecambah dan berkembang menjadi individu baru dalam waktu yang cepat. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kusumawati (2013), menyebutkan bahwa biji sintetik mengalami persentase perkecambahan sebesar 100% pada usia dua minggu setelah pengkapsulan. Pada kondisi lingkungan yang baik, pembuatan matriks enkapsulasi berpotensi sebagai reservoir nutrisi yang dapat membantu kelangsungan hidup dan mempercepat pertumbuhan (Redenbaugh et al. 1985).

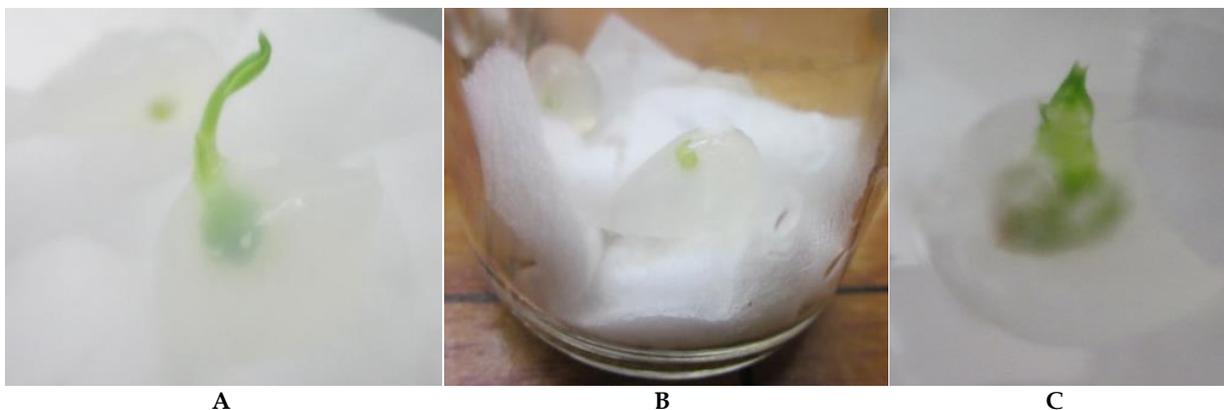
Sebaliknya, biji sintetik yang telah dikeringkan sebelumnya tidak menunjukkan adanya aktivitas pertumbuhan dan perkem-

bangannya yang ditandai dengan tidak adanya perubahan pada bentuk atau ukuran *plb* yang ada di dalam biji sintetik tersebut. Penyimpanan kering akan mengakibatkan biji kehilangan air dalam jumlah banyak karena tidak ada asupan air dari lingkungan yang dapat diserap oleh biji sintetik untuk melakukan aktivitas pertumbuhan atau perkembangan. Keadaan ini menjadi satu keuntungan, karena proses perkecambahan yang tertunda akan dapat memperpanjang masa simpan biji sintetik. Keadaan tersebut juga menimbulkan satu kekurangan yaitu biji sintetik yang disimpan dalam jangka waktu lama dengan keadaan air yang tidak mencukupi akan menyebabkan kerusakan pada viabilitas *plb* yang ada di dalamnya.

Biji sintetik pasca rehidrasi

Biji sintetik yang telah mengalami masa simpan kering dihidrasi untuk mengetahui viabilitas *plb* setelah memperoleh cekaman kekeringan selama periode tersebut. Biji sintetik yang disimpan dalam waktu 2 minggu pasca rehidrasi menunjukkan kemampuan melakukan perkecambahan ditandai dengan munculnya tunas yang menembus kapsul hidrogel.

Berdasarkan Gambar 3.C, biji sintetik yang telah disimpan selama 2 minggu pasca rehidrasi menunjukkan aktivitas perkecambahan ditandai dengan munculnya tunjolan yang menembus kapsul hidrogel. Menurut Machii (1992), perkecambahan pada biji sintetik adalah kemampuan *plb* untuk beregenerasi membentuk tunas atau akar dan menembus matriks enkapsulasi.



Gambar 3. Perkecambahan biji sintetik saat penyimpanan kering. A. tanpa pengeringan; B. dengan pengeringan; C. Biji sintetik setelah rehidrasi

Perbedaan pertumbuhan pada biji sintetik tanpa pengeringan, dengan pengeringan, dan setelah mengalami rehidrasi disebabkan karena faktor ketersediaan air. Biji sintetik tanpa pengeringan menunjukkan pertumbuhan dalam waktu cepat karena proses penyerapan air untuk kegiatan metabolisme berjalan dengan lancar dengan ketersediaan air yang cukup.

Respon pertumbuhan dan perkecambahan biji sintetik *plb* anggrek *G. scriptum* dengan adanya pemberian variasi konsentrasi ABA terjadi dalam waktu yang bervariasi. Hal itu dapat dilihat pada Gambar 4 untuk waktu perkecambahan biji sintetik dalam masing-masing perlakuan.

Berdasarkan Gambar 4 dapat diketahui bahwa pada minggu ke-2 pasca rehidrasi hampir semua biji sintetik dengan variasi pemberian ABA yaitu A1, A2, dan A3 sudah berkecambah kecuali A4. Setelah dilakukan pengamatan selama 8 minggu terjadi variasi persentase perkecambahan untuk masing-masing perlakuan. A1, A2, dan A3 mengalami persentase sebesar 100% sementara pada A3 dan A4 hanya 60%. Hal ini kemungkinan terjadi karena perbedaan kemampuan masing-masing biji sintetik untuk menembus kapsul terkait konsentrasi ABA yang diberikan. Biji sintetik yang berkecambah setelah rehidrasi adalah biji sintetik dengan penambahan ABA konsentrasi 5 mg/L.

Pemberian ABA yang diharapkan menjadi alat pertahanan biji sintetik pada masa pengeringan untuk mempertahankan keadaan biji agar tidak rusak menunjukkan hasil yang baik pada akhir pengamatan. Hal itu ditunjukkan oleh keadaan *plb* di dalam kapsul hidrogel pada akhir pengamatan yang masih tampak segar dan hijau bahkan tampak mengalami pertumbuhan berupa munculnya *plb* baru meski tidak berkecambah menembus kapsul (Gambar 5).

Berdasarkan Gambar 5, biji sintetik dengan penambahan ABA konsentrasi 15 mg/L *plb* anggrek tetap dapat mengalami perkembangan berupa munculnya struktur baru pada *plb* dan hal itu menunjukkan bahwa ABA berhasil dalam mempertahankan viabilitas *plb* setelah penyimpanan kering meskipun pemberian ABA konsentrasi tinggi dapat menghambat perkecambahan tetapi tidak mematikan sel. Menurut Salisbury dan Ross (1992), ABA berpengaruh dalam menghambat sintesa protein dan mengaktifkan serta menonaktifkan gen tertentu secara khas (efek transkripsi). Akibatnya

secara tidak langsung ABA dapat menghambat perkecambahan dan pertumbuhan tunas. Hal tersebutlah yang kemungkinan menyebabkan presentase perkecambahan biji sintetik dengan penambahan ABA tinggi pada A3 dan A4 tidak mencapai 100%.

Jumlah tunas yang muncul

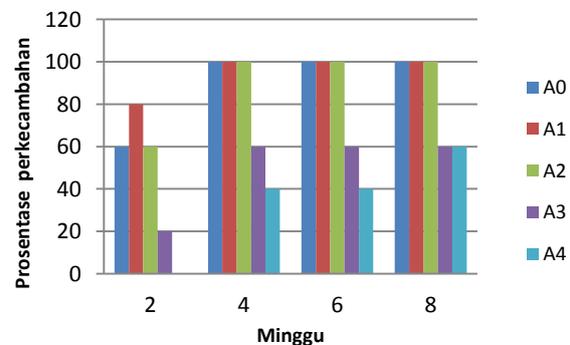
Pada penelitian kali ini perkecambahan biji sintetik ditandai dengan adanya perkembangan pada *plb* di dalam kapsul hidrogel yaitu tumbuhnya satu atau dua tunas. Kemunculan tunas pada biji sintetik yang telah diamati selama 8 minggu, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 6.

Berdasarkan pengamatan selama 8 minggu jumlah tunas yang terbentuk pada pemberian ABA untuk masing-masing perlakuan adalah sama. Hanya ada satu tunas pada masing-masing biji sintetik *plb* anggrek *G. scriptum* yang terbentuk. Penambahan konsentrasi ABA yang semakin meningkat tidak memberikan pengaruh terhadap kemunculan tunas pada biji sintetik *plb* anggrek *G. scriptum* yang muncul. Rata-rata jumlah tunas yang muncul disajikan dalam Tabel 2.

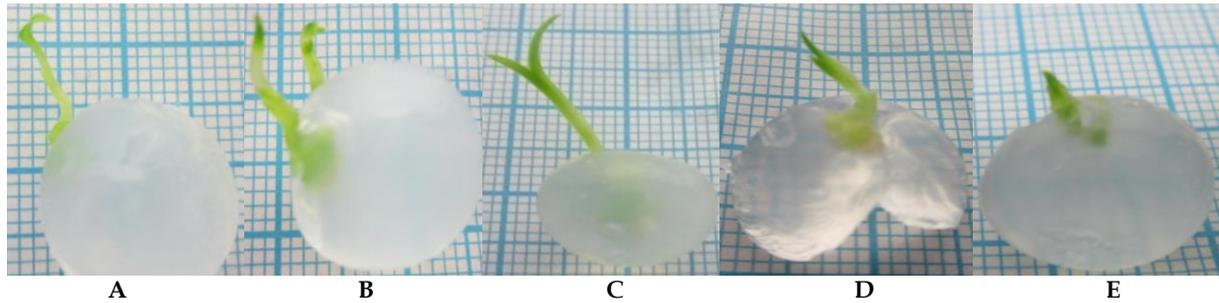
Tabel 2. Rata-rata jumlah tunas biji sintetik *G. scriptum* yang terbentuk pada minggu ke-8

Perbedaan konsentrasi ABA	Rata-rata jumlah tunas minggu ke-8 (mm ± SD)
0 mg/L	1,2 ± 0,4 ^a
5 mg/L	1,0 ± 0,0 ^a
10 mg/L	1,0 ± 0,0 ^a
15 mg/L	1,0 ± 0,0 ^a
20 mg/L	1,0 ± 0,0 ^a

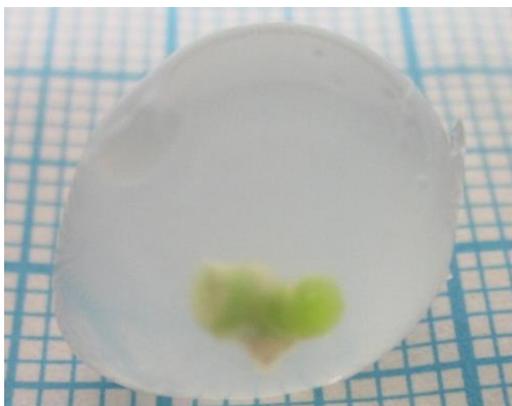
Keterangan: Angka diikuti huruf sama pada kolom tidak berbeda nyata pada DMRT taraf 5%



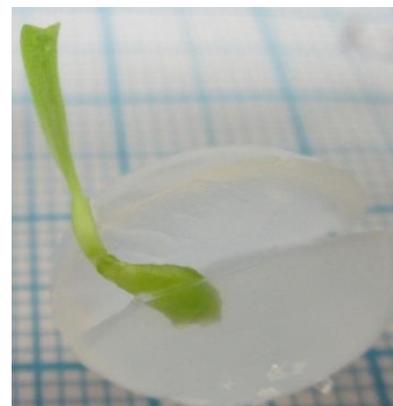
Gambar 4. Waktu perkecambahan biji sintetik dengan variasi ABA setelah penyimpanan kering. Keterangan: A0: tanpa penambahan ABA, A1: konsentrasi ABA 5 mg/L, A2: konsentrasi ABA 10 mg/L, A3: konsentrasi ABA 15 mg/L, A4: konsentrasi ABA 20 mg/L



Gambar 6. Jumlah tunas biji sintetik anggrek *G. scriptum* pada minggu ke-8: A. Tanpa penambahan konsentrasi ABA, B. Konsentrasi ABA 5 mg/L, C. Konsentrasi ABA 10 mg/L, D. Konsentrasi ABA 15 mg/L, E. Konsentrasi ABA 20 mg/L



Gambar 5. Biji sintetik dengan perkembangan *plb* baru pada akhir pengamatan



Gambar 7. Panjang tunas optimal pada pengamatan minggu ke-8

Tabel 3. Rata-rata panjang tunas biji sintetik *G. scriptum* yang terbentuk pada minggu ke-8. Keterangan: Angka diikuti huruf sama pada kolom berbeda nyata pada DMRT taraf 5%.

Perbedaan konsentrasi ABA	Rata-rata panjang tunas minggu ke-8 (mm ± SD)
0 mg/L	10,8 ± 2,3 ^b
5 mg/L	12,0 ± 7,6 ^b
10 mg/L	9,2 ± 7,8 ^{ab}
15 mg/L	3,2 ± 1,8 ^a
20 mg/L	2,8 ± 1,1 ^a

Berdasarkan data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai signifikansi untuk banyak tunas yang muncul adalah 0,431. Ini menunjukkan bahwa nilai signifikansi > 0,05 tidak beda nyata yang artinya pemberian variasi konsentrasi ABA pada biji sintetik tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan jumlah tunas yang muncul pada setiap perlakuan. Dari Tabel 2 diketahui bahwa

biji sintetik tanpa penambahan ABA memiliki pertumbuhan jumlah tunas yang paling banyak yaitu 1,2 mm daripada keempat perlakuan lain yang ditambahkan konsentrasi ABA.

Pertumbuhan tunas

Pengamatan terhadap tinggi tunas dilakukan pada minggu ke-2 setelah penanaman hingga minggu ke-8. Pertumbuhan tunas untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6. Tampak pada gambar tersebut tunas yang muncul berwarna kehijau-hijauan dengan panjang yang bervariasi dari masing-masing perlakuan yang diberikan. Pemberian ABA konsentrasi rendah pada biji sintetik menghasilkan pertumbuhan tunas yang lebih panjang dibandingkan dengan pemberian ABA pada konsentrasi tinggi. Dari Gambar 7 tampak pula bahwa tunas optimal ditunjukkan oleh A1 dan A2 dengan konsentrasi pemberian ABA 10 mg/L.

Berdasarkan hasil analisis varian dan DMRT menunjukkan bahwa konsentrasi ABA yang diberikan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan panjang tunas. Hasil pengamatan panjang tunas yang terbentuk disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata pertumbuhan tunas paling optimal adalah pada konsentrasi pemberian ABA 5 mg/L yaitu sebesar 12,0 mm. Sementara pada pemberian ABA konsentrasi tinggi menyebabkan pertumbuhan tunas terhambat dan menghasilkan tunas dengan rata-rata paling sedikit yaitu 2,8 mm. Akan tetapi pada biji sintetik yang tidak diberi penambahan ABA menunjukkan rata-rata tinggi tunas yang lebih baik dibandingkan dengan biji sintetik yang diberi ABA dalam konsentrasi tinggi. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi tinggi ABA akan menunjukkan fungsinya sebagai hormon penghambat bagi pertumbuhan tunas biji sintetik. Menurut Lyold dan Jackson (1986), pemberian ABA pada konsentrasi 5-10 mg/L akan meningkatkan pertumbuhan kalus pada tanaman *Cassava* sementara konsentrasi yang tinggi 20 mg/L dapat menyebabkan kematian pada kalusnya.

Pada Tabel 3 nilai signifikansi untuk panjang tunas yang muncul adalah 0,022. Ini menunjukkan bahwa nilai signifikansi < 0,05 yang artinya pemberian variasi konsentrasi ABA berpengaruh terhadap pertumbuhan panjang tunas. Menurut Wattimena (1988), pemberian zat penghambat tumbuh dapat menyebabkan pemendekan batang diikuti ketebalan pada batang.

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa (i) Proses penyimpanan kering mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan *plb* biji sintetik *G. scriptum* selama 2 minggu. (ii) Konsentrasi ABA paling optimal pada kapsul hidrogel kalsium alginat untuk mempertahankan viabilitas *plb* pada biji sintetik *G. scriptum* dan dapat tumbuh dengan baik adalah 5 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar ML, Espadas FL, Coello J. 2000. The role of abscisic acid in controlling leaf water loss, survival and growth of micropropagated *Tagetes erecta* plant when transferred directly to the field. *J Exp Bot* 51: 1861-1866.
- Arditti J, Ernst R. 1993. *Micropropagation of Orchid*. John Wiley and Sons, New York.
- Aridha SD, Irfan S, Gustian. 2009. Upaya penyimpanan plasma nutfah planlet pisang buai (*Musa paradisiaca* L.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi asam absisat dan paclobutrazol. *Jerami* 2 (3): 126-133.
- Ballester A, Janeiro LV, Vieitez AM. 1997. Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulata* Lindley. *Scientia Horticulturae* 71: 67-78.
- Benzing H. 1981. Why is Orchidaceae so large, its seeds so small, and its seedling mycotrophic? *Selbyana* 5 (3/4): 241-242.
- Danso KE, Llyold BVF. 2008. The effect of abscisic acid and sucrose on post-thaw embryogenic competence and subsequent plant recovery from embryogenic calli of cassava. *Amer-Eur J Agric Environ Sci* 3 (4): 663-671.
- Khoddamzadeh AA, Sinniah UR, Lynch P, Kadir MA, Kadzimin SB, Mahmood M. 2011. Cryopreservation of protocorm-like bodies (PLBs) of *Phalaenopsis bellina* (Rchb.f.) Christenson by encapsulation-dehydration. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 107: 471-481.
- Knudson L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. *Bot Gaz* 73 (1): 1-25.
- Larkin PJ, Davies PA, Tanner GJ. 1998. Nurse culture of low number of *Medicago* and *Nicotiana* protoplasts using calcium alginate beads. *Plant Sci* 58: 203-210.
- Lestari EG, Harran S, Mariska I, Megia R. 2000. Penyimpanan tunas nilam hasil variasi somaklonal dengan enkapsulasi. *Prosiding Seminar hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*. Cibinong, 7-9 Maret 2000.
- Lestari EG, Purnamaningsih R. 2005. Penyimpanan in vitro tanaman obat daun dewa melalui pertumbuhan minimal. *Jurnal AgroBiogen* 2: 68-72.
- Lloyd FB, Jackson M. 1986. *Plant Genetic Resources An Introduction to Their Conservation and Use*. Univ. Bermingham & Edward Arnold, London.
- Machii H. 1992. In vitro growth of encapsulated adventitious buds in mulberry (*Morus alba*). *J Breed* 42: 553-559.
- Redenbaugh K, Brian DP, James WN. 1985. Somatic seeds: encapsulation of asexual plant embryos. *Nature Biotechnol* 4: 797-801.
- Saiprasad GVS, Polisetty R. 2003. Propagation of three orchid genera using encapsulated protocorm-like bodies. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 8: 42-47.
- Salisbury FB, Ross CW. 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth Publishing Co., Belmont, CA.
- Wattimena GA. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU IPB, Bogor.