

SKRIPSI

**MIKROPROPAGASI ANGGREK *VANDA SP*
DENGAN PEMBERIAN BERBAGAI KONSENTRASI
POTASSIUM NITRATE (KNO_3) DAN THIAMIN
PADA MEDIA *Murashige and Skoog* SECARA
*IN-VITRO***

OLEH :

PRAPASTA PUJI ANGGARA
NPM: 190101005



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI
TELUK KUANTAN
2023**

**MIKROPROPAGASI ANGGREK VANDA SP
DENGAN PEMBERIAN BERBAGAI KONSENTRASI
POTASSIUM NITRATE (KNO₃) DAN THIAMIN
PADA MEDIA *Murashige and Skoog* SECARA
*IN-VITRO***

SKRIPSI

OLEH :

PRAPASTA PUJI ANGGARA
NPM. 190101005

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Pertanian*

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI
2023**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI
TELUK KUANTAN
2023**

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis oleh:

PRAPASTA PUJI ANGGARA

MIKROPROPAGASI ANGGREK VANDA SP DENGAN PEMBERIAN
BERBAGAI KONSENTRASI POTASSIUM NITRATE (KNO_3) DAN
THIAMIN PADA MEDIA *Murashige and Skoog* SECARA *IN-VITRO*

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian

Menyetujui :

Pembimbing I

Seprido, S.Si., M.Si
NIDN. 1030129002

Pembimbing II

Tri Nopsagiarti, SP., M.Si
NIDN. 1027117801

Mengetahui :

Tim Penguji	Nama	Tanda Tangan
Ketua	Chairil Ezward, SP., MP	
Sekretaris	A.Haitami, SP., MP	
Pembimbing 1	Seprido, S.Si., M.Si	
Pembimbing 2	Tri Nopsagiarti, SP., M.Si	
Anggota	Wahyudi., SP., MP	

**Dekan
Fakultas Pertanian**



Seprido, S.Si., M.Si
NIDN. 1030129002

**Ketua
Program Studi Agroteknologi**



Besta Andriani, SP., M.Si
NIDN. 1030129002

Tanggal Lulus : 06 April 2023

UCAPAN TERIMAKASIH

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Dia memberikan hikmah (*ilmu yang berguna*) kepada siapa yang dikehendakinya. Barang siapa yang mendapat hikmah itu sesungguhnya ia telah mendapatkan kebaikan yang banyak dan tiadalah yang menerima peringatan melainkan orang-orang yang berakal”

(*Q.S Al-Baqarah;269*)

Alhamdulillahirobil'amin..

Terimakasih ya Allah atas segala rahmat dan karunia serta hidayah mu sehingga saya dapat menyelesaikan sebuah karya kecil yang saya persembahkan untuk superhero dan panutan saya, Ayahanda Desrianto, beliau tidak sempat merasakan pendidikan sampai bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik saya sampai ke titik ini. Dan pintu surga saya, Ibunda Asni Jumiati yang sangat berperan penting memberikan motivasi, semangat, serta do'a untuk saya dapat menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1), karena melalui karya kecil inilah yang bisa saya berikan untuk kedua orang tua saya sebagai bukti saya ingin membahagiakan mereka. Dan terimakasih untuk kedua adik saya tercinta Delon Prasetya & Rafa Naura Ayu yang saat ini sedang sama-sama berjuang. Dan terimakasih kepada teman-teman seperjuangan program studi agroteknologi angkatan 2019, terutama sekali terimakasih untuk Wina Rulhayati yang sangat berjasa dalam menemani proses perkuliahan saya dan banyak membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Saya juga mengucapkan terimakasih kepada Bapak Seprido.,S.,Si.,M.,Si sebagai Pembimbing I dan Ibu Tri Nopsagiarti, SP.,M.Si sebagai Pembimbing II, yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat, terutama untuk saya dan kita semua.

Prapasta Puji Anggara, S.P.

**MIKROPROPAGASI ANGGREK *VANDA SP* DENGAN
PEMBERIAN BERBAGAI KONSENTRASI POTASSIUM
NITRATE (KNO_3) DAN THIAMIN PADA MEDIA *Murashige
and Skoog* SECARA *IN-VITRO***

Prapasta Puji Anggara, Dibawah Bimbingan
Seprido dan Tri Nopsagiarti

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI
TELUK KUANTAN
2023

ABSTRAK

Anggrek *Vanda sp* merupakan tanaman hias bunga endemik yang menyebar luas di seluruh Indonesia. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui Pengaruh pemberian potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin terhadap eksplan anggrek *Vanda sp* pada media murashige and Skoog secara in-vitro. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial terdiri dari 2 taraf perlakuan (K= KNO_3 dan T= Thiamin) dengan 3 kali ulangan. Yaitu : K0 (Tanpa KNO_3), K1 (KNO_3 1.700 mg/l) K2 (KNO_3 1.900 mg/l), K3 (KNO_3 2.100 mg/l), T0 (Tanpa Thiamin), T1 (Thiamin 0,1 mg/l), T2 (Thiamin 0,5 mg/l), T3 (Thiamin 0,9 mg/l). Berdasarkan hasil penelitian Pemberian berbagai konsentrasi Potassium Nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l media MS secara tunggal berpengaruh nyata terhadap semua parameter, dimana perlakuan terbaik terdapat pada K2 dengan rata-rata jumlah tunas 4,08 buah dan tinggi tunas 1,44 cm, jumlah akar 5,56 buah, panjang akar 1,35 cm, perlakuan K3 berpengaruh nyata untuk parameter jumlah daun dengan rata-rata 4,50 helai. Untuk Pemberian berbagai konsentrasi Thiamin secara tunggal berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah daun (4,33 helai) dengan perlakuan terbaik terdapat pada T2, untuk parameter jumlah akar dengan rerata (5,06 buah) perlakuan terbaik terdapat pada T3. Interaksi pemberian KNO_3 dan Thiamin memberikan pengaruh nyata terhadap parameter jumlah daun (5,11 buah) pada perlakuan K3T2 dan jumlah akar (6,22 buah) pada perlakuan K2T1 eksplan anggrek *Vanda Sp*.

Kata kunci : *In-vitro*, KNO_3 , Mikropopagasi, Thiamin, dan *Vanda sp*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Mikropropagasi Anggrek *Vanda Sp* Dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi Potassium Nitrate (KNO_3) Dan Thiamin Pada Media Murashige And Skoog Secara *In-Vitro*”**

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Seprido.,S.,Si.,M.,Si sebagai Pembimbing I dan Ibu Tri Nopsagiarti, SP.,M.Si sebagai Pembimbing II, yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terimah kasih juga di sampaikan kepada Dekan Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi, Ketua Program Studi Agroteknologi, Dosen, Karyawan Tata Usaha Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi, serta rekan-rekan mahasiswa serta semua pihak yang telah membantu baik secara moril maupun materi.

Penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua baik untuk masa kini maupun untuk masa yang akan datang.

TelukKuantan, Februari 2023

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	5
1.3. Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan Umum Tanaman Anggrek Vanda sp.....	6
2.2. Kultur Jaringan	7
2.3. Media <i>Murashige and Schoog</i> (MS)	9
2.4. Potassium Nitrate KNO ₃	10
2.5. Thiamin	11
III. METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1. Tempat dan Waktu	14
3.2. Alat dan Bahan	14
3.3. Metode Penelitian.....	14
3.4. Analisis Statistik.....	16
3.5. Pelaksanaan Penelitian	19
3.6. Pengamatan	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Jumlah Tunas.....	25
4.2. Tinggi Tunas	27
4.3. Jumlah Daun.....	30
4.4. Jumlah Akar	33
4.5 Panjang Akar	37
V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan.....	40
5.2. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kombinasi Perlakuan Pemberian KNO_3 dan Thiamin	15
2. Parameter Pengamatan	17
3. Analisis Sidik Ragam (ANSIRA)	18
4. Rerata jumlah tunas eksplan anggrek <i>Vanda</i> sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin	25
5. Rerata tinggi tunas eksplan anggrek <i>Vanda</i> sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin	29
6. Rerata jumlah daun eksplan anggrek <i>Vanda</i> sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin	30
7. Rerata jumlah akar eksplan anggrek <i>Vanda</i> sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin	34
8. Rerata panjang akar eksplan anggrek <i>Vanda</i> sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Jadwal Kegiatan Penelitian Agustus – Oktober 2022	46
2. Komposisi Media Dasar MS (Murashige and Skoog) dan Pengelompokan senyawa kimia dalam pembuatan larutan stok.....	47
3. <i>Lay Out</i> Dalam Laboratorium Penelitian Dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial	48
4. Data Table Analisis Sidik Ragam Jumlah Tunas (buah)	49
5. Data Table Analisis Sidik Ragam Tinggi Tunas (cm)	51
6. Data Table Analisis Sidik Ragam Jumlah Daun (helai)	53
7. Data Table Analisis Sidik Ragam Jumlah Akar (buah)	55
8. Data Table Analisis Sidik Ragam Panjang Akar (cm).....	57
9. Dokumentasi Penelitian	59

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia terkenal sebagai negara yang memiliki banyak spesies anggrek alam. Diperkirakan setengah dari spesies ini terdapat di Papua, sedangkan 2.000 spesies lainnya terdapat di Kalimantan dan sisanya tersebar di pulau-pulau lain di Indonesia (Dasuha, 2022). Anggrek merupakan tanaman hias bunga endemik yang menyebar luas di seluruh Indonesia. Spesies anggrek yang menyebar di seluruh Indonesia mencapai sekitar 5000 spesies. Anggrek adalah tanaman epifit yang memiliki nilai estetika yang tinggi sehingga memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Anggrek sudah dikenal sejak 200 tahun lalu, sejak 50 tahun terakhir mulai dibudidayakan secara luas di Indonesia. Salah satu varietas anggrek yang mulai dibudidayakan yaitu anggrek Vanda (Nuzullah and Firgiyanto, 2021).

Genus Vanda diperkirakan berjumlah lebih dari 40 spesies dengan penyebaran yang sangat luas (Rupawan, Basri and Bustami, 2014). Anggrek secara umum dapat diperbanyak secara generatif maupun vegetatif. Perbanyakan anggrek secara generatif sering menghadapi kendala pada rendahnya kemampuan dan lamanya waktu yang diperlukan biji untuk berkecambah. Hal ini dikarenakan ukuran biji anggrek sangat kecil dan tidak mempunyai endosperm sebagai cadangan makanan pada awal perkecambahan biji, secara alami biji anggrek bersimbiosis dengan jamur mikoriza, dan jamur ini juga terbatas kebutuhannya, untuk itu perlu di perbanyak menggunakan kultur kultur jaringan.

Menurut Hariadi *et al.*, (2019), Teknik kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti sel, jaringan atau organ serta menumbuhkannya secara aseptik di dalam suatu medium buatan eksplan sehingga

bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Teknik ini dicirikan dengan kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan zpt (zat pengatur tumbuh), serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol. Keberhasilan kultur jaringan tanaman dalam memperbanyak tanaman tergantung pada media yang digunakan, salah satunya Media Murashige and Skoog (MS).

Media Murashige and Skoog (MS) merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman, media MS sering digunakan karena cukup memenuhi unsur hara makro, mikro dan vitamin untuk pertumbuhan tanaman. Menurut (Rodinah and Nisa, 2005) dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, tampaknya media MS (Murashige dan Skoog) mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Pratama, 2018).

Kandungan unsur hara makro dan mikro pada media MS diformulasikan untuk tanaman secara umum, sementara itu tanaman anggrek *Vanda sp* memiliki kebutuhan hara yang spesifik, sehingga membutuhkan konsentrasi yang berbeda dari konsentrasi standar MS, untuk itu perlu adanya penambahan Potassium nitrate (KNO_3) dalam memacu pertumbuhan eksplan anggrek *Vanda sp*.

Pertumbuhan vegetatif Anggrek *Vanda sp* sangat lambat, untuk itu diperlukan perlakuan khusus dalam memacu pertumbuhannya, salah satunya dengan menambahkan unsur hara makro sehingga mendapatkan pertumbuhan yang optimal. Salah satu senyawa yang mengandung unsur hara makro adalah

KNO_3 . Nitrogen pada KNO_3 ini merupakan hara yang paling banyak dibutuhkan karena nitrogen merupakan protein, asam nukleat, dan substansi lainnya yang dibutuhkan untuk pembentukan protoplasma dan berperan dalam pertumbuhan vegetatif tanaman. Unsur hara N diberikan dalam bentuk Potassium nitrate (KNO_3) pada media kultur (Widiastoety, 2008).

Kandungan unsur N pada KNO_3 berfungsi untuk merangsang pertumbuhan vegetatif dan meningkatkan jumlah anakan, Unsur N juga meningkatkan kandungan protein dan meningkatkan jumlah bulir pada dan rumpun. Unsur hara N diberikan pada media kultur dalam bentuk KNO_3 . Nitrogen dalam nitrat merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan karena dibutuhkan untuk pembentuk protein dan klorofil (Ulya, Sedjati and Yudiati, 2018).

Hasil penelitian Hamzah, (2022) pemberian unsur hara Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l pada media berpengaruh signifikan terhadap parameter pertumbuhan dan perkembangan multiplikasi eksplan anggrek *Ceologyne rochussenii* De Vriese Secara *In-Vitro*. Dimana perlakuan terbaik terdapat pada 1.900 mg/l dengan rata-rata yang didapat yaitu, jumlah tunas 4,69 buah, tinggi tunas 1,41 cm, jumlah daun 4,83 buah, jumlah akar 7,94 buah, dan panjang akar 1,27 cm pada eksplan anggrek *Coelogyne rochussenii* De Vriese. senyawa penting lainnya yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan pada teknik kultur jaringan adalah vitamin dari golongan Thiamin.

Thiamin (vitamin B1) merupakan vitamin yang esensial untuk semua kultur *in vitro* yang berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel, dan sebagai koenzim dalam metabolisme karbohidrat serta meningkatkan aktivitas hormon yang

terdapat dalam jaringan tanaman, selanjutnya hormon tersebut akan mendorong pembelahan sel-sel baru (Pembangunan and Veteran, 2020). Thiamin (vitamin B1) pada tanaman anggrek dapat meningkatkan aktivitas hormon yang terdapat dalam jaringan tanaman sehingga dapat mempercepat pembelahan sel-sel yang baru. Thiamin dapat menginduksi pertumbuhan biji anggrek *Dendrobium laxiflorum* tertinggi daripada niasin dan peridoksin (Yustitia, 2017)

Penambahan Thiamin kedalam media kultur dapat merangsang pertumbuhan jaringan dan organ tanaman anggrek, Vitamin B1 ini diperlukan sebagai katalisator sekaligus berfungsi sebagai co-enzim. Katalisator merupakan suatu zat yang mampu mempercepat laju reaksi dan ikut bereaksi serta akan kembali ke posisi semula setelah reaksi selesai, sedangkan co-enzim adalah senyawa-senyawa non-protein yang dapat terdialisa, termostabil dan terikat secara “longgar” dengan bagian protein dari enzim (Aini and Jariah, 2016).

Hasil penelitian Sari, (2022) pemberian Thiamin terhadap subkultur anggrek *dendrobium sp* pada konsentrasi 0,2 mg/l media berpengaruh terhadap jumlah tunas 3,44 buah, tinggi tunas 0,98,cm, jumlah daun 6,14 buah, dan panjang akar 1,28 pada eksplan anggrek *Dendrobium sp.*

Berdasarkan pemikiran diatas, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “Mikropropagasi anggrek vanda sp dengan pemberian berbagai konsentrasi Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin pada media Murashige and Skoog Secara *In-Vitro*”.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pemberian berbagai konsentrasi Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin terhadap eksplan anggrek *Vanda SP* pada media Murashige And Skoog secara in-vitro.

1.3 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, diharapkan mampu memberi manfaat bagi berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Adapun manfaat penelitian ini sebagai berikut:

1. Sebagai bacaan bagi peneliti, mahasiswa, petani maupun bagi pihak-pihak yang memerlukan untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap tanaman anggrek *Vanda sp.*
2. Sebagai rujukan dalam penggunaan perlakuan konsentrasi Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin terhadap kultur jaringan tanaman anggrek pada media MS.
3. Serta sebagai masukan bagi pihak pemerintah dalam upaya pengembangan atau perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan di Kuantan Singingi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anggrek *Vanda sp*

Anggrek *Vanda sp* digemari karena keindahan dan kecantikan bunganya. Kata “Vanda” sendiri berasal dari bahasa Sanskrit yang artinya indah. Genus vanda diperkirakan berjumlah lebih dari 40 spesies dengan penyebaran yang sangat luas. Terdapat lebih dari 30 000 spesies anggrek alam di, dan 5000 spesies di antaranya terdapat di Indonesia. Anggrek merupakan tanaman hias yang sangat prospektif dan mempunyai nilai ekonomis tinggi, karena bentuk dan warna bunga menarik serta mempunyai daya tahan lama, Ketersediaan anggrek *Vanda sp* masih terbatas dan sulit ditemukan di pasaran sehingga nilai jual menjadi lebih tinggi dibandingkan jenis anggrek lain. Bunga *Vanda sp* berukuran besar dan bulat serta sangat beragam sehingga sangat cocok bila digunakan sebagai bahan induk silangan (Hartati, Cahyono and Lestari, 2018).

Klasifikasi anggrek dalam kelompok *Vandaceous* adalah : Kingdom : Plantae, Divisi : Spermatophyta, Sub Divisi : *Angiospermae*, Kelas : *Monocotyledoneae*, Ordo : *Orchidales*, Familia : *Orchidaceae* , Genus : *Vanda*, Spesies : *Vanda*. Karakteristik anggrek *vanda* terdiri atas akar, batang, daun, bunga, dan buah. Umumnya, akar anggrek lunak dan mudah patah, ujungnya meruncing, licin dan sedikit lengket. Akar anggrek mempunyai lapisan velamen yang bersifat spongy (berongga) dan dibawahnya terdapat lapisan mengandung klorofil. Batang anggrek ada yang berbentuk tunggal dengan bagian ujung batang tumbuh lurus tidak terbatas. Daun-daun yang tua pada batang sebelah bawah akan mengalami gugur daun, setelah daunnya gugur maka batang akan tampak seperti mati (Ana, 2022).

Anggrek Vanda merupakan tanaman monopodial, yaitu anggrek yang memiliki pola tumbuh dengan batang utamanya akan terus tumbuh ke atas dan akan memunculkan bunga di ketiak daunnya sebagai cabang samping, anggrek vanda merupakan genus anggrek yang termasuk kelompok *vandaceous*. Anggrek ini tersebar luas mulai dari daerah pantai hingga pegunungan dan jenis anggrek ini dapat tumbuh pada iklim yang beragam (Widyastoety and Santi, 2012).

Anggrek berbeda dengan tanaman berbunga pada umumnya karena memiliki embrio yang sangat kecil, berdiameter $\pm 0,1$ mm. Biji anggrek tidak mempunyai endosperm, karena tidak terjadi penyerbukan ganda secara sempurna. Bunga anggrek memiliki kelebihan dibandingkan bunga-bunga yang lain, mempunyai keragaman atau variasi bunga, baik bentuk, ukuran, dan warna. Mempunyai masa berbunga yang cukup lama. Sekitar 1-3 bulan. walaupun beberapa jenis anggrek ada yang berbunga dalam satu hari. Banyak digunakan untuk berbagai kegiatan, seperti pernikahan, parcel, rangkaian bunga, bunga potong, bunga anggrek dalam pot, dan anggrek koleksi. Mempunyai jaringan pemasaran yang cukup luas dan beragam, baik di pasar nasional maupun pasar internasional. Anggrek termasuk ke dalam familia orchidaceae, suatu family besar yang memiliki 17.000-25.000 spesies (Kurzweil, & Arditti, 2002)

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan memiliki dasar dari dikemukakannya suatu teori oleh Schleiden dan Schwann tahun 1833, yaitu “teori totipotensi sel”. Teori tersebut menyatakan bahwa setiap sel tanaman bersifat otonom dan mampu tumbuh menjadi satu tanaman sempurna, hal ini dapat tercapai jika eksplan ditempatkan pada lingkungan dan media yang sesuai. Perbanyak dengan teknik kultur

jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi eksplan pada lingkungan yang terkontrol secara aseptik, eksplan yang kemudian di tanam pada media yang mengandung unsur hara makro maupun mikro dan zat pengatur tumbuh (Heriansyah, 2020).

Kultur jaringan tanaman adalah salah satu bidang bioteknologi yang tidak hanya didominasi oleh kalangan akademis, tetapi telah menjadi alat utama bagi perbanyakan tanaman dan pencaharian varietas tanaman baru oleh industri hortikultura dan tanaman pangan. Bidang bioteknologi pertanian kultur jaringan selain dimanfaatkan sebagai cara untuk perbanyakan tanaman juga dimanfaatkan plasma nutfah, variasi monoklonal dan sebagai sarana bagi rekayasa genetika untuk memperoleh tanaman yang bernilai tinggi (Sudrajad, Suharto and Rahmawati Wijaya, 2016).

Kultur jaringan merupakan suatu upaya mengisolasi eksplan yang akan di kultur pada bagian tanaman terdiri dari sel, jaringan, dan organ, kemudian mengulturnya pada nutrisi buatan yang steril dibawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian – bagian tanaman tersebut dapat bergenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Manfaat prospek kultur jaringan dibandingkan vegetatif konvensional adalah produksi banyak klon, suatu alternatif bagi jenis tanaman yang resisten dengan perlakuan manipulasi terhadap faktor-faktor lingkungan (ZPT), kemungkinan mempercepat pertukaran bahan tanaman di tingkat internasional, dan tidak tergantung pada musim (Zulkarnain, 2009)

Eksplan merupakan bagian dari tanaman yang di isolasi pada media kultur jaringan. Eksplan yang akan di kultur haruslah eksplan yang bebas dari virus maupun patogen untuk mencegah terjadinya kontaminasi yang dapat

mengakibatkan kematian pada eksplan. Bagian tanaman yang biasanya di di ambil adalah batang, daun, buah, akar, dan bagian lain yang berpotensi untuk di jadikan eksplan untuk mengatasi kontaminan maka perlu dilakukan sterilisasi eksplan sebelum di perbanyak melalui kultur jaringan.

2.3 Media *Murashige and Skoog* (MS)

Media merupakan faktor penentu dalam keberhasilan kultur jaringan pada tanaman, komposisi pembuatan media yang digunakan juga tergantung pada jenis tanaman yang akan diperbanyak. Menurut (Harahap, 2011), Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon dan juga bahan tambahan lain seperti agar dan gula. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenis nya dan jumlahnya tergantung dari tujuan kultur in-vitro yang dilakukan (Zakaria, 2010). Media kultur yang baik seharusnya menyediakan unsur hara baik makro maupun mikro, sumber vitamin dan asam amino, sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh, senyawa organik, salah satu media yang sering digunakan pada kultur jaringan adalah media Murashige & Skoog (MS)

Pada tahun 1962, Murashige dan Skoog pertama kali memperkenalkan medium Murashige & Skoog (MS) berawal pada tahun 1944, Skoog sebagai mahasiswa doktoral melakukan kultur tembakau pertama kali untuk mempelajari pembentukan tunas adventif (Silalahi, 2015).

Media Murashige & Skoog (MS) adalah media yang paling sering digunakan pada kultur jaringan, karena media tersebut lebih kompleks mengandung hampir semua unsur hara yang dibutuhkan pada tanaman. Komposisi Media MS terdiri dari unsur hara makro dan mikro, unsur hara makro pada MS

terdiri dari KNO_3 , NH_4NO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan KH_2PO_4 . Dan unsur hara mikro pada media MS terdiri dari $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_4 , KI , $\text{Na}_2\text{MO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 dan $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Media ini juga mengandung komposisi unsur hara makro dan unsur mikro lainnya seperti myoinositol, niacin, pyridoxin HCl, thiamin HCl, glycine, glukosa Dan terdiri dari kandungan lainnya yang dibutuhkan oleh tanaman (Yusnita, E., & Sc, 2003)

Media Murashige & Skoog (MS) merupakan media padat berbentuk agar/jeli yang dapat mengikat molekul air dan nutrisi sehingga diserap oleh jaringan. Formulasi dasar dari garam mineral buatan *Murashige and Schoog* merupakan media kultur jaringan yang khas dan bisa digunakan dalam propagasi tanaman. Media MS merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman (Mardin, 2002)

2.4 Potassium Nitrate (KNO_3)

Potassium Nitrate (KNO_3) mengandung unsur K dan N yang biasanya disebut kalium nitrat. Kandungan unsur Nitrogen dalam KNO_3 juga berguna untuk merangsang pertumbuhan tunas, batang, cabang, daun serta pembelahan sel, pembesaran sel pada kultur jaringan. Unsur hara N dan K lebih banyak dibutuhkan tanaman dibandingkan unsur hara lain, karena nitrogen dan kalium dapat digunakan dalam waktu yang singkat digunakan untuk pertumbuhan vegetative, terutama perkembangan akar, batang, dan daun (Anggraini *et al.*, 2018).

Kalium diberikan pada medium dalam bentuk KNO_3 ; KH_2PO_4 atau, KCl ; dan K_2SO_4 . Ion K^+ total yang diberikan pada medium bervariasi antara 1,837-

25.18 mM/l. Unsur K sangat diperlukan untuk memacu pembelahan sel, sintesa karbohidrat dan protein, pembuatan klorofil serta untuk mereduksi nitrat. Kalium berpengaruh pada hidrasi, menambah atau mengurangi hidrasi pada misel sehingga mempengaruhi keluar masuknya nutrien ke dalam sel (Apriliyani, R., & Wahidah, 2021).

Nitrogen bersumber dari protein, senyawa-senyawa amino, nitrat, dan amonium. Nitrogen diserap dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ . Ion nitrat di dalam jaringan tanaman akan diubah menjadi ion amonium, kemudian ion amonium tersebut akan berperan dalam pembentukan asam amino menjadi zat yang dapat diangkut melalui amonium untuk membentuk protein. Sebagian ion nitrat dapat pula diangkut langsung ke daun dan titik tumbuh. Protein yang terbentuk diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Dalam jaringan tanaman amonium diperoleh antara lain dari reduksi NO_3 , peningkatan penggunaan NH_4 atau fotorespirasi. KNO_3 merupakan suatu senyawa garam yang disusun oleh kation K^+ dan anion NO_3^- . Senyawa ini bersifat elektrolit kuat dan merupakan suatu sumber nitrogen paling penting dalam, biasanya kalium nitrat, kalium nitrat memiliki kelarutan yang tinggi di dalam air, namun kelarutannya tidak sebesar NaNO_3 . Senyawa ini bersifat senyawa ion yang disusun oleh ion K^+ dan NO_3^- (Widiastoety, 2008).

Penelitian terdahulu pada kultur jaringan tanaman anggrek vanda oleh Widiastoety, (2008), pertumbuhan tinggi bibit, panjang daun dan luas daun tertinggi, serta pembentukan jumlah daun dan jumlah akar tertinggi terdapat pada perlakuan dengan 0,5% / 1 media KNO_3 . Penelitian yang dilakukan oleh Karyanti, Immanuella and Sofia, (2017), menunjukkan pemberian unsur Potassium

nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l media berpengaruh signifikan terhadap Pertumbuhan Tunas, daun, serta akar

Hasil penelitian lainnya dilakukan oleh Afrisco,(2022), .menyatakan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) 1.800 mg/l media MS berpengaruh signifikan terhadap parameter pertumbuhan sub kultur anggrek *Dendrobium spesies* secara *in-vitro*.

2.5 Thiamin

Penambahan vitamin ke dalam media kultur dapat merangsang pertumbuhan jaringan dan organ tanaman anggrek. vitamin berperan dalam proses pertumbuhan sebagai katalisator dalam proses metabolisme, vitamin yang sering digunakan dalam kultur *in-vitro* salah satunya adalah Thiamin. Dalam kultur jaringan keberadaan Thiamin sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan pada tanaman.

Thiamin (vitamin B1) merupakan vitamin yang esensial untuk hampir semua kultur *in vitro* untuk mempercepat pembelahan sel. Thiamin berfungsi sebagai koenzim dalam metabolisme karbohidrat serta meningkatkan aktivitas hormon yang terdapat dalam jaringan tanaman, selanjutnya hormon tersebut akan mendorong pembelahan sel-sel baru, penelitian yang menggunakan thiamin (vitamin B1) dengan konsentrasi tertentu dalam kultur *in vitro* yaitu penelitian tentang thiamin antara 0,5-1,0 ppm pada media Vacin and Went dapat meningkatkan tinggi planlet, panjang akar, jumlah akar, jumlah daun dan luas daun anggrek (Cryssanti, Wijayani and Wahyurini, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian Amalia, Nurhidayati and Nurfadillah, (2013) Perlakuan penambahan thiamin (vitamin B1) dengan konsentrasi 0 ppm; 0,1 ppm;

0,3 ppm 0,5 ppm menunjukkan persentase pertumbuhan biji *D. laxiflorum* berturut-turut yaitu 2,48%; 75,66%; 56,22%; 65,82% dengan pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* hanya mencapai fase 2. Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji pada fase 2 terlihat berbeda nyata yaitu pada perlakuan thiamin 0,5 ppm memiliki notasi yang berbeda dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Fase 2 merupakan tahapan dimana biji anggrek tumbuh dan berkembang menjadi protocorm dengan primordium daun.

III. METODOLOGI PENELITIAN

1.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium kultur jaringan. UPT pembenihan dan sertifikasi benih Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Riau, Jalan Kaharudin Nasution No. 33 Kelurahan Simpang Tiga, Kecamatan Bukit Raya, Kota Pekanbaru. Penelitian ini insya'Allah akan dilaksanakan selama 3 bulan, terhitung mulai September 2022 sampai dengan Desember 2022. Jadwal kegiatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

1.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah laminar air flow cabinet, gelas ukur, gelas piala, petridish, pipet, autoclave, timbangan analitik, erlenmayer, magnetic stirrer, pengaduk kaca, pinset, skarpel, lampu spritus, hand sprayer, pH meter, pisau, botol kultur, kompor gas, labu ukur, tabung reaksi, karet plastik, gunting, aluminium foil, alat tulis dan perlengkapan pencucian yang mendukung kegiatan dalam penelitian kultur jaringan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan Anggrek Vanda sp, bahan kimia Sukrosa dan thiamin, media MS, alkohol, tepung agar, arang aktif, aquades steril, deterjen, twin, fungisida, karet gelang, kertas label dan bahan- bahan lain yang mendukung pembuatan media tanam kultur jaringan. Untuk lebih lengkapnya alat dan bahan dapat dilihat pada lampiran 2.

1.3 Metode Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial yang terdiri dari dua factor yaitu KNO_3 dan Thiamin. Factor pertama pemberian KNO_3 (factor K) dan Thiamin (factor T), Pemberian

KNO_3 dari 4 taraf perlakuan dan pemberian Thiamin terdiri dari 4 taraf perlakuan, sehingga terdapat 16 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan. Dengan demikian penelitian ini terdiri dari 48 unit (botol) percobaan.

Setiap unit percobaan terdiri dari 1 botol kultur yang masing-masing terdiri dari 4 eksplan. Adapun perlakuan nya adalah :

1. KNO_3 (Faktor K) terdiri dari 4 taraf yaitu

- K0 : Tanpa Potassium nitrate (KNO_3)
- K1 : Potassium nitrate (KNO_3) 1.700 mg/l
- K2 : Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l
- K3 : Potassium nitrate (KNO_3) 2.100 mg/l

2. Aplikasi Thiamin (Faktor T) terdiri dari 4 taraf :

- T0 : Tanpa Thiamin
- T1 : Thiamin 0,1 mg/l
- T2 : Thiamin 0,5 mg/l
- T3 : Thiamin 0,9 mg/l

Tabel 1. Kombinasi perlakuan KNO_3 dan Thiamin

KNO_3	Thiamin			
	T0	T1	T2	T3
K0	K0T0	K0T1	K0T2	K0T3
K1	K1T0	K1T1	K1T2	K1T3
K2	K2T0	K2T1	K2T2	K2T3
K3	K3T0	K3T1	K3T2	K3T3

Data hasil pengamatan dari masing-masing perlakuan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANSIRA). Jika F hitung yang diperoleh lebih besar dari F tabel, maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5 %.

1.3 Analisis Statistik

Data hasil penelitian yang diperoleh dari lapangan dianalisis secara statistik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$H_{ijk} = \mu + F_i + T_j + (FT)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

H_{ijk} = Nilai hasil pengamatan dari faktor K pada taraf ke-i dan faktor T taraf ke-j serta ulangan sampai ke-k

μ = Efek pengaruh nilai tengah

F_i = Pengaruh faktor K pada taraf ke-i

T_j = Pengaruh faktor T pada taraf ke-j

$(FT)_{ij}$ = Pengaruh faktor interaksi antara faktor K pada taraf ke-i dan faktor T pada taraf ke-j

ϵ_{ijk} = Efek error dari faktor K pada taraf ke-i dan faktor T pada taraf ke-j pada ulangan ke-k

Keterangan:

i : 0,1,2,3 (banyaknya taraf pemberian KNO_3)

j : 0,1,2,3 (banyaknya taraf pemberian Thiamin)

k : 1,2,3 (ulangan)

Tabel 2. Parameter pengamatan

Faktor K	Ulangan	Faktor T				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	K0T0	K0T1	K0T2	K0T3	J0...	H0...
	2	K0T0	K0T1	K0T2	K0T3		
	3	K0T0	K0T1	K0T2	K0T3		
Jumlah		J00.	J01.	J02.	J03.		
Rerata		H00.	H01.	H03.	H04.		
K1	1	K1T0	K1T1	K1T2	K1T3	J1...	H1...
	2	K1T0	K1T1	K1T2	K1T3		
	3	K1T0	K1T1	K1T2	K1T3		
Jumlah		J10.	J11.	J12.	J13.		
Rerata		H10.	H11.	H12.	H13.		
K2	1	K2T0	K2T1	K2T2	K2T3	J2...	H2...
	2	K2T0	K2T1	K2T2	K2T3		
	3	K2T0	K2T1	K2T2	K2T3		
Jumlah		J20.	J21.	J22.	J23.		
Rerata		H20.	H21.	H22.	H23.		
K3	1	K3T0	K3T1	K3T2	K3T3	J3...	H3...
	2	K3T0	K3T1	K3T2	K3T3		
	3	K3T0	K3T1	K3T2	K3T3		
Jumlah		J30.	J31.	J32.	J33.		
Rerata		H30.	H31.	H32.	H33.		
Jumlah besar		J.0.	J.1.	J.2.	J.3.	J...	
Rerata besar		H.0.	H.1.	H.2.	H.3.		H...

Analisis sidik ragam :

$$FK = \frac{(J...)^2}{a.b.r}$$

$$JKT = (H001)^2 + \dots (H002)^2 - FK$$

$$JK K = \frac{(J0...)^2 + (J1...)^2 + (J2...)^2 + (J3...)^2 - FK}{J_{xr}}$$

$$JK T = \frac{(J0...)^2 + (J1...)^2 + (J2...)^2 + (J3...)^2 - FK}{I_{xr}}$$

$$JKKT = \frac{(J00...)^2 + (J01...)^2 + \dots (J33...)^2 - FK - JKA - JKB}{r}$$

$$JKE = JKT - JKF - JKT - JKFT$$

Keterangan:

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKF = Jumlah Kuadrat untuk semua faktor K (pemberian KNO₃)

JKT = Jumlah Kuadrat untuk semua faktor T (pemberian Thiamin)

JKKT = Jumlah Kuadrat untuk interaksi faktor K dan T

JKE = Jumlah Kuadrat Error

r = Ulangan

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam (ANSIRA)

Sumber Variasi	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel 5%
K	a-1=3	JKK	JKK/3	KTK/KTE	DBK ; DBE
T	b-1=3	JKT	JKT/3	KTT/KTE	DBT ; DBE
FT	(a-1)(b-1)=9	JKFT	JKKT/9	KTKT/KTE	DBKT;DBE
Error	a.b(r-1)=32	JKE	JKE/32		
Total	a.b.r-1=47	JKT			

$$KK = \frac{\sqrt{KTE_{\text{Error}}}}{\bar{y}} \times 100\%$$

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

JK = Jumlah Kuadrat

KT = Kuadrat Tengah

KK = Koefisien Keragaman

Jika dalam analisa sidik ragam memberikan pengaruh yang berbeda nyata dimana F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilanjutkan dengan uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan dengan pengujian rumus sebagai berikut :

1. Menghitung nilai BNJ faktor K dengan rumus:

$$\text{BNJ K} = \alpha (i ; \text{DBE}) \times \sqrt{\frac{K\text{TErrror}}{jxr}}$$

2. Menghitung nilai BNJ faktor T dengan rumus :

$$\text{BNJ T} = \alpha (j ; \text{DBE}) \times \sqrt{\frac{K\text{TErrror}}{ixr}}$$

3. Menghitung nilai BNJ faktor K dan T dengan rumus:

$$\text{BNJ KT} = \alpha (i,j ; \text{DBE}) \times \sqrt{\frac{K\text{TErrror}}{r}}$$

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Sterilisasi Alat

Alat – alat yang digunakan untuk penanaman harus dalam keadaan steril. Alat yang bersifat logam dan kaca atau gelas disterilkan dalam *autoklaf*. Alat – alat tersebut dibungkus dengan kertas aluminium foil kemudian disterilisasi pada suhu 121⁰C selama satu jam pada tekanan 17.5 psi Sterilisasi botol dilakukan setelah botol dicuci terlebih dahulu. Botol kultur steril selanjutnya disimpan pada tempat yang bersih dan siap digunakan. Alat –alat tanam yang digunakan seperti pinset dan scalpel dapat disterilkan kembali dengan pemanasan diatas api spiritus, setelah dicelupkan pada alkohol 90% sebelum penanaman eksplan dilakukan.

3.5.2. Sterilisasi Aquades

Aquades yang digunakan terlebih dahulu disterilkan dalam *autoklaf*. Aquades disterilisasi menggunakan *erlenmeyer* yang berisi 1000 ml aquades dan ditutup dengan aluminium foil dan plastik setelah itu di *autoklaf* selama 1 jam pada suhu 121⁰C dengan tekanan 17,5 psi.

3.5.3. Sterilisasi Ruang Inokulasi (LAFB)

Bagian dalam *laminar air flow cabinet* disemprot dengan alkohol 90%, kemudian lampu ultraviolet (UV) dinyalakan selama 1 jam saat akan digunakan lampu neon dan blower dinyalakan.

3.5.4 Pemasangan Label

Pemasangan label dilakukan sebelum pemberian perlakuan, label ditempel pada masing-masing botol kultur, yang bertujuan untuk memudahkan pada saat pemberian perlakuan dan pengamatan. Pemasangan label disesuaikan dengan layout penelitian (Lampiran 3).

3.5.5 Pembuatan Media *Murashige and Skoog*

Media kultur yang digunakan ialah media *Murashige and Skoog* (MS) modifikasi yang terdiri dari sukrosa, vitamin, agar, ZPT (NAA dan BAP), unsur-unsur makro (KNO_3 , NH_4NO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4), dan unsur-unsur mikro ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_4 , KI , $\text{Na}_2\text{MO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 dan $(\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$. Larutan stok ini diambil sesuai dengan volume yang ditetapkan dan dimasukkan kedalam gelas ukuran 1000 ml dengan ditambahkan glukosa 30 gram/l dan tepung agar 7 gram/l, kemudian dicukupkan volumenya menjadi 1000 ml dengan menambahkan aquades steril, modifikasi media ini disesuaikan dengan taraf perlakuan.

Langkah selanjutnya yaitu mengukur pH dengan menggunakan kertas lakmus pH yang di gunakan yaitu 5 pH meter. pH kisaran 4,6 maka di tambahkan NaOH hingga mencapai pH 5 pH meter. Kemudian media *Murashige and skoog* di didihkan dan diaduk hingga agar-agar larut dan tercampur rata kemudian dimasukkan sekitar 20 ml/botol kedalam botol kultur dalam keadaan masih cair.

Botol kultur ditutup rapat dengan penutup plastik dan diikat menggunakan karet gelang. Media *Murashige and skoog* selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoklaf* selama kurang lebih 15 menit pada tekanan 17,5 psi dengan suhu 121⁰C. Media *Murashige and skoog* (MS) yang telah disterilisasi dibiarkan membeku, lalu disimpan selama 1 minggu di ruang transfer sebelum dilakukan penanaman eksplan, untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

3.5.6 Pemberian Perlakuan

a. Pemberian Potassium Nitrate (KNO₃)

Perlakuan KNO₃, diawali dengan pembuatan larutan stok, yaitu dengan cara menimbang bahan berupa tepung Potassium Nitrate (KNO₃) sebanyak 1.700 mg/l, 1.900 mg/l dan 2.100 mg/l, kemudian masing-masing formulasi dilarutkan dengan 100 ml aquades baru kemudian di cukupkan sampai volume larutan 1.000 ml. Setelah larutan sempurna selanjutnya larutan stok disimpan didalam lemari pendingin.

Rumus pengenceran $V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$

Keterangan:

V_1 = KNO₃ Stok

V_2 = Volume pengenceran yang akan dibuat

K_1 = Konsentrasi larutan stok

K_2 = Konsentrasi KNO₃ sesuai perlakuan

b. Pemberian Larutan Thiamin

Pemberian perlakuan Thiamin, dilakukan dengan cara pembuatan larutan stok dengan menimbang 100 mg Thiamin, kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades steril, setelah itu baru ditambah menjadi 1000 ml atau 1 liter, kemudian

larutan stok diambil sesuai dengan lay out rancangan sebanyak 0,1mg/l , 0,5 mg/l dan 0,9 mg/l, Setelah larutan sempurna selanjutnya larutan stok disimpan didalam lemari pendingin.

Rumus pengenceran $V_1 \times K_1 = V_2 \times K_2$

Keterangan :

V1 = Volume Thiamin stok

V2 = Volume pengenceran yang akan dibuat

K1 = Konsentrasi larutan stok

K2 = Konsentrasi Thiamin sesuai perlakuan

3.5.7 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah eksplan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Riau, eksplan yang masih berupa planlet di keluarkan dari botol kultur dan di letakan di cawan petri, planlet tersebut lalu dipotong dengan menggunakan pisau scalpel, organ yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas, kemudian potongan eksplan yang diambil selanjutnya ditanam pada media baru.

3.5.8 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC), yang disterilkan dengan cara menyalakan lampu UV (*ultra violet*) selama satu jam dan disemprot alkohol 90% sebelum digunakan. Sedangkan semua alat yang digunakan dalam penanaman disemprot dengan alkohol 70% terlebih dulu.

Pinset disterilisasikan dengan teknik pembakaran yaitu dilewatkan diatas api bunsen dan di celupkan di dalam aquades steril. Eksplan anggrek *Vanda sp* yang ada pada cawan petri diambil dengan menggunakan pinset dan ditanam di dalam

media botol kultur. Kemudian mulut botol dibakar dengan lampu bunsen secara perlahan-lahan sambil memutar nya, teknik tersebut bertujuan untuk mencegah mikroba untuk tidak masuk kedalam botol. Lalu botol ditutup dengan alumunium foil dan plastik dan diikat erat dengan karet gelang. Setelah selesai botol kultur dikeluarkan dari dalam LAFC, dan setiap botol kultur diberi label dan tanggal. Setelah itu letakkan didalam ruangan rak kultur yang disinari lampu 15 watt dan 20 watt selama 16 jam/hari, intensitas cahaya rata-rata 100 ft-c, suhu 18⁰C.

3.5.9 Pemeliharaan

Pemeliharaan eksplan dilakukan dengan mengatur kondisi ruangan (temperature dan penyinaran). Suhu ruangan kultur dijaga dengan bantuan alat pendingin (AC) tetap stabil lebih kurang 18⁰C. Untuk mencegah kontaminasi, ruangan kultur dijaga agar tetap steril dengan cara memisahkan eksplan yang terkontaminasi oleh jamur atau bakteri dan juga menjaga kebersihan ruangan dengan cara mengepel ruangan kultur.

3.6. Pengamatan

3.6.1 Jumlah Tunas (buah)

Pengamatan terhadap jumlah tunas dilakukan pada akhir penelitian dengan cara menghitung jumlah tunas dengan mengeluarkan tanaman dari dalam botol. Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel jika F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

3.6.2 Tinggi Tunas (cm)

Pengamatan terhadap jumlah tunas dilakukan pada akhir penelitian dengan cara menghitung tinggi tunas tanaman. Data hasil pengamatan dianalisis secara

statistik dan disajikan dalam bentuk tabel jika F hitung lebih besar dari F tabel dilanjutkan dengan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

3.6.3 Jumlah Daun (helai)

Pengamatan jumlah daun dilakukan pada akhir penelitian, dengan cara menghitung seluruh daun yang tumbuh pada setiap eksplan. Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik kemudian disajikan dalam bentuk tabel jika F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

3.6.4 Jumlah Akar (buah)

Pengamatan terhadap jumlah akar diukur pada akhir penelitian, dengan cara menghitung jumlah akar tanaman yang tumbuh pada setiap eksplan. Data hasil pengamatan ini dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel jika F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

3.6.5 Panjang Akar (cm)

Pengamatan terhadap panjang akar diukur pada akhir penelitian, dengan cara mengukur akar tanaman terpanjang mulai dari pangkal muncul akar hingga pada ujung akar dengan menggunakan penggaris. Data hasil pengamatan ini dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel jika F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Jumlah Tunas (Buah)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda*, setelah dilakukan analisis (lampiran 4) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) secara tunggal berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda* sp, sedangkan pada perlakuan Thiamin secara tunggal tidak berpengaruh nyata, demikian juga dengan kombinasi perlakuan KNO_3 dan Thiamin menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas eksplan tanaman anggrek *Vanda* sp. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rerata jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda* sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin (Buah)

Faktor K (KNO_3)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,33	3,22	3,33	3,44	3,33b
K1	3,33	3,56	3,44	3,56	3,47b
K2	4,11	3,89	4,22	4,11	4,08a
K3	3,44	4,00	4,33	4,00	3,94a
Rerata T	3,56	3,67	3,83	3,78	
KK=	9,38%	BNJ K=	0,38		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Data pada Tabel 4. dapat dilihat bahwa pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan K2 dengan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 1.900 mg/l kedalam media MS yaitu dengan jumlah tunas 4,08 buah. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan K2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K3 tetapi berbeda nyata dengan perlakuan K1 dan K0. Pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) sebanyak

1.900 mg/l kedalam media MS mampu memunculkan jumlah tunas 4,08 buah dibandingkan kontrol (K0), artinya dengan penambahan Potassium nitrate (KNO_3) kedalam media MS dapat mempengaruhi jumlah tunas pada eksplan anggrek *Vanda* sp.

Perlakuan K2 (Pemberian KNO_3 1.900 mg/l media MS) memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pemberian konsentrasi pada perlakuan K3, K1 dan K0, hal ini disebabkan perlakuan K2 dengan Pemberian konsentrasi KNO_3 1.900 mg/l pada media MS merupakan konsentrasi yang pas untuk diberikan pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Karena KNO_3 mengandung unsur hara makro K dan N yang mampu diserap tanaman dengan baik dan maksimal. Dimana menurut Nugroho, (2001) bahwasanya KNO_3 mengandung unsur hara kalium dan nitrogen sekaligus yang akan berperan dalam mengatur osmotik sel sehingga dapat meningkatkan pemanjangan sel yang ditunjukkan secara visual.

Perlakuan K0 (Tanpa Pemberian KNO_3) menghasilkan jumlah tunas paling sedikit karena Potassium nitrate (KNO_3) merupakan unsur hara makro yang sangat dibutuhkan eksplan untuk proses pertumbuhannya. Jika suatu tanaman tidak diberikan KNO_3 maka proses pertumbuhannya akan terganggu dan memungkinkan akan terjadi pertumbuhan yang tidak normal.

Jika dibandingkan hasil penelitian Hamzah, (2022), maka didapati hasil yang sama dimana pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 1.900 mg/l dalam media MS dapat mempengaruhi jumlah tunas pada pembentukan tunas tanaman anggrek *Coelogyne rochussenii* De Vriese secara in vitro.

Berdasarkan Tabel 4. menunjukkan bahwa pemberian Thiamin secara tunggal tidak berpengaruh nyata terhadap parameter yang di amati. Hal ini

diduga karena pemberian konsentrasi Thiamin belum mampu memberikan respon yang baik terhadap pertumbuhan jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda* sp.

Namun jika dilihat dari nilai rerata nya hasil tertinggi jumlah tunas pada penelitian ini diperoleh pada perlakuan (T2) dengan pemberian konsentrasi Thiamin 0,5 mg/l yaitu 3,83 buah. jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari, (2022), memiliki perbandingan yang berbeda, pemberian konsentrasi Thiamin 0,2 mg/l berpengaruh terhadap pertumbuhan tunas eksplan anggrek *Dendrobium* sp yaitu 3,44 buah. hal ini disebabkan karena setiap tanaman memiliki respon yang berbeda terhadap setiap unsur hara yang di butuhkan.

Berdasarkan Tabel 4. hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin memberikan pengaruh tidak nyata terhadap parameter jumlah tunas pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Namun kombinasi perlakuan yang menghasilkan nilai rerata tertinggi ada pada perlakuan K3T2 yaitu 4,33 buah tunas, sedangkan rerata yang terendah ada pada perlakuan K0T1 yaitu 3,22 buah tunas.

4.2. Tinggi Tunas (cm)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter tinggi tunas eksplan anggrek *Vanda* sp, setelah dilakukan analisis (lampiran 4) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) secara tunggal berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas eksplan anggrek *Vanda* sp, sedangkan pada perlakuan Thiamin secara tunggal tidak berpengaruh nyata, dan pada kombinasi perlakuan KNO_3 dan Thiamin menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas eksplan tanaman anggrek *Vanda* sp. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata tinggi tunas eksplan anggrek *Vanda* sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO₃) dan Thiamin (cm)

Faktor K (KNO ₃)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	1,18	1,18	1,32	1,27	1,24b
K1	1,26	1,33	1,31	1,34	1,31b
K2	1,39	1,46	1,51	1,39	1,44a
K3	1,29	1,32	1,37	1,41	1,35a
Rerata T	1,28	1,32	1,38	1,35	
KK=	9,19%	BNJ K=	0,13		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Data pada Tabel 5. dapat dilihat bahwa pemberian Potassium nitrate (KNO₃) dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan K2 dengan pemberian Potassium nitrate (KNO₃) sebanyak 1.900 mg/l kedalam media MS yaitu dengan tinggi tunas 1,44 cm. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan K2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K3 tetapi berbeda nyata dengan perlakuan K0 dan K1. Pemberian Potassium nitrate (KNO₃) sebanyak 1.900 mg/l kedalam media MS mampu menghasilkan tinggi tunas 1,44 cm, dibandingkan kontrol (K0), artinya dengan penambahan Potassium nitrate (KNO₃) kedalam media MS dapat mempengaruhi tinggi tunas pada eksplan anggrek *Vanda* sp.

Unsur hara makro yang terdapat pada KNO₃ berfungsi sebagai perangsang pertumbuhan vegetatif pada tanaman, hal ini sesuai dengan pernyataan Immanuella and Sofia, (2017) unsur N yang terdapat pada KNO₃ dapat menginduksi pertumbuhan tunas lebih cepat karena unsur N pada KNO₃ banyak dibutuhkan karena dapat mempengaruhi pertumbuhan vegetatif suatu tanaman.

Perlakuan K0 (Tanpa Pemberian KNO₃) mendapatkan hasil tinggi tunas paling rendah karena pada perlakuan K0 tidak ada pemberian Potassium nitrate

(KNO₃). Potassium nitrate (KNO₃) merupakan unsur hara makro yang sangat dibutuhkan eksplan untuk proses pertumbuhannya. Karena jika suatu tanaman tidak diberikan KNO₃ maka proses pertumbuhannya akan terganggu dan tidak berkemungkinan akan terjadi pertumbuhan yang tidak normal. Sesuai yang disampaikan Suharto and Rahmawati Wijaya, (2016), nitrogen merupakan salah satu unsur mineral esensial dan merupakan komponen unsur hara utama pada sejumlah media dasar kultur jaringan tanaman. Nitrogen sangat efektif dalam memberikan respon pertumbuhan kultur kalus, organogenesis maupun multiplikasi tanaman pada kultur jaringan.

Penelitian terdahulu yang dilakukan Karyanti *et al.* (2017), jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini memiliki perbandingan hasil yang sama, pemberian unsur Potassium nitrate (KNO₃) 1.900 mg/l pada media MS berpengaruh signifikan terhadap Pertumbuhan Tunas pada multiplikasi *Colocasia esculenta* (L).

Berdasarkan Tabel 5. menunjukkan bahwa pemberian Thiamin secara tunggal tidak berpengaruh nyata terhadap parameter tinggi tunas eksplan anggrek *Vanda* sp. Hal ini diduga karena konsentrasi Thiamin yang diberikan belum mampu memberikan respon yang baik terhadap jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda* sp. Namun jika dilihat dari nilai rerata nya hasil tertinggi jumlah tunas pada penelitian ini diperoleh pada perlakuan (T2) dengan pemberian konsentrasi Thiamin 0,5 mg/l yaitu 1,38 cm. Jika dibandingkan dengan penelitian Sari, (2022) pada parameter yang sama eksplan anggrek *Dendrobium* sp dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan T0 (pemberian Thiamin 0 mg/l kedalam media MS) yaitu 1,19 cm, dari hasil uji beda lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada

taraf 5 %, hal ini diduga karena respon pada tanaman yang berbeda terhadap unsur hara yang diberikan.

Berdasarkan Tabel 5. hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin memberikan pengaruh tidak nyata terhadap tinggi tunas pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Namun kombinasi perlakuan yang menghasilkan nilai rerata tertinggi ada pada perlakuan K2T2 yaitu tinggi tunas tanaman 1,51 cm, sedangkan rerata yang terendah ada pada perlakuan K0T0 dan K0T1 dengan tinggi tunas 1,18 cm.

4.3. Jumlah Daun (helai)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter jumlah daun eksplan anggrek *Vanda* sp, setelah di lakukan analisis (lampiran 6) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin secara tunggal memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun eksplan anggrek *Vanda* sp, dan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin juga berpengaruh nyata terhadap jumlah daun eksplan tanaman anggrek *Vanda* sp. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dapat di lihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rerata jumlah daun eksplan anggrek *Vanda* sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin (helai)

Faktor K (KNO_3)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,33bc	3,22c	3,89bc	3,78bc	3,56b
K1	3,22c	3,89bc	4,11bc	3,56bc	3,69b
K2	3,11c	4,22bc	4,22bc	4,56ab	4,03b
K3	4,00bc	4,33b	5,11a	4,56ab	4,50a
Rerata T	3,42b	3,92b	4,33a	4,11a	
KK=	8,55%	BNJ K=	0,37	BNJ T=	0,37 BNJ KT = 1,02

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Data pada Tabel 6. dapat dilihat bahwa pemberian Potassium nitrate (KNO_3) secara tunggal dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan K3 dengan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 2.100 mg/l kedalam media MS yaitu dengan jumlah daun 4,50 buah. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan K3 berbeda nyata dengan perlakuan K2, K1 dan K0. Pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 2.100 mg/l kedalam media MS mampu menghasilkan jumlah daun 4,50 helai, di bandingkan dengan perlakuan lainnya, artinya dengan penambahan Potassium nitrate (KNO_3) kedalam media MS dapat mempengaruhi jumlah daun pada eksplan anggrek *Vanda* sp.

Perlakuan K3 (Pemberian KNO_3 2.100 mg/l media MS) memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pemberian konsentrasi pada perlakuan K2, K1 dan K0, hal ini disebabkan perlakuan K3 dengan Pemberian konsentrasi KNO_3 2.100 mg/l media MS mampu untuk menghasilkan jumlah daun pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Menurut Soetrisno, (2013), kombinasi antara nitrogen dan kalium yang terkandung pada KNO_3 dapat meningkatkan pembentukan pigmen hijau daun (klorofil) organ daun.

Perlakuan K0 (Pemberian KNO_3 0 mg/l) mendapatkan hasil jumlah daun paling rendah karena pada perlakuan K0 tidak ada pemberian Potassium nitrate (KNO_3). Potassium nitrate (KNO_3) merupakan unsur hara makro yang sangat dibutuhkan eksplan untuk proses pertumbuhannya. Jika suatu tanaman tidak diberikan KNO_3 maka proses pertumbuhannya akan terganggu dan tidak berkembang secara normal, hal ini juga dijelaskan pada penelitian Zulkarnain, (2009), bahwasanya KNO_3 Berperan penting dalam merangsang pertumbuhan

batang, cabang, daun serta pembelahan sel, sebab unsur kalium dan nitrogen sangat berperan penting dalam pembentukan daun pada fase pertumbuhan tanaman.

Penelitian sebelumnya jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Afrisco, (2022) pada parameter yang sama menyatakan bahwa pemberian potassium Nitrate (KNO_3) dengan perlakuan terbaik terdapat pada A3 (Pemberian KNO_3 2.000 mg/l media MS) yaitu dengan jumlah daun 5,33 helai pada tanaman anggrek *dendrobium* sp. Dan juga terdapat perbedaan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Karyanti, (2017) dengan perbandingan hasil yang tidak sama, pemberian unsur Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l media berpengaruh signifikan terhadap Pertumbuhan daun pada multiplikasi *Colocasia esculenta* (L). Hal ini disebabkan karena beberapa faktor respon yang berbeda dari tanaman maupun kombinasi yang digunakan.

Berdasarkan Tabel 6. menunjukkan bahwa pemberian Thiamin berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah daun eksplan anggrek *Vanda* sp dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan T2 (pemberian Thiamin sebanyak 0,5 mg/l dalam media MS) yaitu 4,33 helai, dari hasil uji beda lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5 % menunjukkan bahwa perlakuan T2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan T3 namun berbeda nyata dengan perlakuan T0 dan T1.

Perlakuan T2 dengan pemberian konsentrasi Thiamin (0,5 mg/l) memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pemberian konsentrasi pada perlakuan T0, T1 dan T3. Hal ini disebabkan perlakuan T2 dengan konsentrasi Thiamin (0,5 mg/l media MS) merupakan konsentrasi yang pas untuk diberikan pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Karena pemberian vitamin terhadap eksplan dapat memberikan pertumbuhan yang bagus terhadap eksplan anggrek *Vanda* sp.

Dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari, (2022), maka didapatkan hasil yang berbeda, bahwa pemberian 0,3 mg/l thiamin kedalam media MS berpengaruh nyata terhadap jumlah daun eksplan Anggrek *Dendrobium sp* dengan rata-rata jumlah daun 6,50 buah, hal ini disebabkan oleh konsentrasi unsur hara Thiamin yang diberikan berbeda maka respon yang dihasilkan oleh juga berbeda.

Berdasarkan Tabel 6. hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun pada eksplan anggrek *Vanda sp*. Kombinasi perlakuan yang menghasilkan nilai rerata tertinggi ada pada perlakuan K3T2 lebih banyak jumlah daun dibandingkan perlakuan secara tunggal yaitu 5,11 helai. Dan kombinasi perlakuan yang menghasilkan nilai rerata terendah ada pada perlakuan K2T0 dengan rerata jumlah daun 3,11 helai, hal ini disebabkan oleh perbedaan respon terhadap kombinasi perlakuan tanaman. Karena menurut Garuda *et al.*, (2015) Thiamin merupakan vitamin yang berfungsi meningkatkan aktivitas hormon yang terdapat dalam jaringan sehingga dapat mempercepat pembelahan sel.

4.4 Jumlah akar (Buah)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter jumlah akar eksplan anggrek *Vanda sp*, setelah dilakukan analisis (lampiran 7) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin secara tunggal berpengaruh nyata terhadap jumlah akar eksplan anggrek *Vanda sp*, dan secara interaksi perlakuan Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) dan Thiamin

berpengaruh nyata terhadap jumlah akar eksplan tanaman anggrek *Vanda* sp. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Rerata jumlah akar eksplan anggrek *Vanda* sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO₃) dan Thiamin (buah)

Faktor K (KNO ₃)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,44c	3,67bc	4,11bc	4,78b	4,00c
K1	3,56c	4,56bc	4,44bc	4,44bc	4,25c
K2	4,78b	6,22a	5,67ab	5,56ab	5,56a
K3	5,11ab	4,67bc	5,22ab	5,44ab	5,11b
Rerata T	4,22c	4,78ab	4,86ab	5,06a	
KK=	7,96%	BNJ K=	0,42	BNJ T=	0,42
					BNJ KT=1,14

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Data pada Tabel 7. dapat dilihat bahwa pemberian Potassium nitrate (KNO₃) dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan K2 dengan pemberian Potassium nitrate (KNO₃) sebanyak 1.900 mg/l kedalam media MS yaitu dengan jumlah akar 5,56 buah. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan K2 berbeda nyata dengan perlakuan K3, K0, dan K1 tetapi K0 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K1. Pemberian Potassium nitrate (KNO₃) sebanyak 1.900 mg/l kedalam media MS mampu menghasilkan jumlah akar 5,56 buah di bandingkan kontrol (K0), artinya dengan penambahan Potassium nitrate (KNO₃) kedalam media MS dapat mempengaruhi jumlah akar pada eksplan anggrek *Vanda* sp.

Perlakuan K2 (Pemberian KNO₃ 1.900 mg/l media MS) memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pemberian konsentrasi pada perlakuan K3, K1 dan K0, hal ini disebabkan perlakuan K2 dengan Pemberian konsentrasi KNO₃ 1.900 mg/l media MS dapat memberikan pengaruh nyata pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Kandungan Unsur makro Potassium nitrate (KNO₃) terdapat unsur hara

Nitrogen (N). Menurut Andalasari, (2017) pada fase pertumbuhan vegetatif pemberian unsur nitrogen dapat mempercepat pertumbuhan tanaman, karena unsur tersebut merupakan bahan utama untuk menyusun protein yang dibutuhkan dalam pembelahan sel.

Perlakuan K0 (Tanpa Pemberian KNO_3) menghasilkan jumlah akar paling rendah karena pada perlakuan K0 tidak ada pemberian Potassium nitrate (KNO_3). Potassium nitrate (KNO_3) hal ini menjadi bukti bahwa unsur hara makro yang sangat dibutuhkan eksplan untuk proses pertumbuhannya. Apabila suatu tanaman tidak diberikan KNO_3 maka proses pertumbuhannya akan terganggu dan akan terjadi pertumbuhan yang tidak normal. Untuk itu suatu tanaman harus diberikan unsur hara dengan konsentrasi yang pas dan cukup untuk kebutuhan tanaman tersebut sehingga proses perkembangan tanaman akan baik dan subur. Suharto and Rahmawati Wijaya, (2016) menyatakan bahwasanya dengan penambahan unsur nitrogen kedalam media tumbuh planlet dalam bentuk amonium nitrat dapat merangsang pertumbuhan organ vegetatif pada tanaman.

Penelitian yang telah dilakukan D. Widiastoety, (2008), mengemukakan bahwa penambahan Potassium nitrate (KNO_3) dapat mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, terutama pembentukan jumlah akar tanaman secara in-vitro. Jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Afrisco, (2022) pada parameter yang sama pemberian potassium Nitrate (KNO_3) dengan perlakuan terbaik terdapat pada A1 (Pemberian KNO_3 1.800 mg/l media MS) yaitu dengan jumlah akar 3,11 buah.

Berdasarkan Tabel 7. menunjukkan bahwa pemberian Thiamin berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah akar eksplan anggrek *Vanda sp*

dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan T3 (pemberian Thiamin 0,9 mg/l kedalam media MS) yaitu 5,06 buah, dari hasil uji beda lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5 % menunjukkan bahwa perlakuan T3 tidak berbeda nyata dengan perlakuan T2 dan T1 namun berbeda nyata dengan perlakuan T0.

Jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kartikaningrum, (2015) didapatkan hasil yang berbeda yaitu pemberian tiamin 0,5-1,0 ppm ke dalam media kultur mampu menghasilkan akar lebih banyak pada eksplan anggrek *oncidium* dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan kontrol (tanpa pemberian tiamin). Hal ini disebabkan oleh respon olehtumbuhan yang berbeda-beda.

Berdasarkan Tabel 7. hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin berbeda nyata terhadap jumlah akar pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Dilihat dari rerata perlakuan yang menghasilkan nilai rerata tertinggi ada pada perlakuan K2T1 lebih banyak jumlah akar dibandingkan perlakuan secara tunggal yaitu 6,22 buah. Dimana K2 (Pemberian KNO_3 1.900 mg/l) menurut Widiastoety, (2008) Potassium nitrate (KNO_3) berfungsi dalam proses pembentukan sel jaringan tanaman dan merangsang pertumbuhan tanaman.

Berdasarkan penelitian ini, rerata yang terendah terdapat pada perlakuan K0T0 dengan rerata jumlah akar 3,44 buah, hal ini dikarenakan tidak adanya pemberian KNO_3 dan Thiamin pada media.

4.5 Panjang Akar (cm)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter panjang akar eksplan anggrek *Vanda* sp, setelah dilakukan analisis (lampiran 8) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) secara tunggal berpengaruh nyata terhadap panjang akar eksplan anggrek *Vanda* sp, sedangkan pada perlakuan Thiamin secara tunggal tidak berpengaruh nyata, dan pada kombinasi perlakuan KNO_3 dan Thiamin menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar eksplan tanaman anggrek *Vanda* sp. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rerata panjang akar eksplan anggrek *Vanda* sp dengan pemberian Potassium Nitrate (KNO_3) dan Thiamin (Cm)

Faktor K	Faktor T				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	1,06	1,06	1,11	1,14	1,09b
K1	1,09	1,10	1,23	1,21	1,16b
K2	1,27	1,39	1,42	1,33	1,35a
K3	1,29	1,26	1,33	1,27	1,29a
Rerata T	1,18	1,20	1,28	1,24	
KK=	7,76%	BNJ K=	0,10		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Data pada Tabel 8. dapat dilihat bahwa pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan K2 dengan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 1,900 mg/l kedalam media MS yaitu dengan panjang akar 1,35 cm. Hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan K2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K3 tetapi berbeda nyata dengan perlakuan K1 dan K0. Pemberian Potassium nitrate (KNO_3) sebanyak 1,900 mg/l kedalam media MS mampu menghasilkan panjang akar 1,35 cm di bandingkan kontrol (K0), artinya dengan penambahan Potassium nitrate

(KNO₃) kedalam media MS dapat mempengaruhi panjang akar pada eksplan anggrek *Vanda* sp.

Perlakuan K2 (Pemberian KNO₃ 1,900 mg/l media MS) memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pemberian konsentrasi pada perlakuan K3, K1 dan K0, hal ini disebabkan perlakuan K3 dengan Pemberian konsentrasi KNO₃ 1,900 mg/l media MS dapat memberikan pengaruh nyata pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Menurut Wijayanto, (2019) Kandungan Kalium (K) dan Nitrogen (N) pada KNO₃ merupakan kombinsai unsur N (nitrogen) dan Kalium dalam bentuk K₂O (potasium oxide atau kalium oxide) yang berfungsi sebagai nutrisi yang sangat penting bagi tanaman, unsur hara N dan K lebih banyak dibutuhkan tanaman dibandingkan unsur hara lain, karena nitrogen dan kalium dapat digunakan dalam waktu yang singkat digunakan untuk pertumbuhan vegetative, terutama perkembangan akar, batang, dan daun.

Perlakuan K0 (Tanpa pemberian KNO₃) menghasilkan panjang akar paling rendah karena pada perlakuan K0 tidak ada pemberian Potassium nitrate (KNO₃). Potassium nitrate (KNO₃) merupakan unsur hara makro yang sangat dibutuhkan eksplan untuk proses pertumbuhannya. Jika suatu tanaman tidak diberikan sumber unsur hara utamanya maka proses pertumbuhannya akan terganggu. Menurut Anggraini *et al.* (2018), unsur hara N dan K lebih banyak dibutuhkan tanaman dibandingkan unsur hara lain, karena nitrogen dan kalium dapat digunakan dalam waktu yang singkat digunakan untuk pertumbuhan vegetatif, terutama perkembangan akar tanaman.

Penelitian ini jika dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Karyanti *et al.* (2017), memiliki perbandingan hasil yang sama, pemberian unsur

Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l media berpengaruh signifikan terhadap Perkembangan akar pada multiplikasi *Colocasia esculenta* (L).

Berdasarkan Tabel 8 menunjukkan bahwa pemberian Thiamin tidak berpengaruh nyata terhadap parameter panjang akar eksplan anggrek *Vanda* sp. Hal ini diduga karena konsentrasi Thiamin yang diberikan belum mampu memberikan respon yang baik terhadap jumlah tunas eksplan anggrek *Vanda* sp jika di kombinasikan dengan Potassium nitrate (KNO_3). Namun jika dilihat dari nilai rerata nya hasil tertinggi panjang akar pada penelitian ini diperoleh pada perlakuan (T2) dengan pemberian konsentrasi Thiamin 0,5 mg/l yaitu 1,28 cm.

Berdasarkan Tabel 8. hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan secara interaksi pemberian Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin memberikan pengaruh tidak nyata terhadap panjang akar pada eksplan anggrek *Vanda* sp. Namun kombinasi perlakuan yang menghasilkan nilai rerata tertinggi ada pada perlakuan K2T2 yaitu 1,42 cm, sedangkan rerata panjang akar terendah ada pada perlakuan K0T0 dan K0T1 yaitu 1,06 cm.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian berbagai konsentrasi Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l media MS secara tunggal berpengaruh nyata terhadap parameter penelitian, K2 perlakuan terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 4,08 buah , tinggi tunas 1,44 cm, jumlah akar 5,56 buah, dan panjang akar 1,35 cm, pada parameter jumlah daun perlakuan K3 berpengaruh nyata terhadap jumlah daun 4,50 helai pada eksplan.
2. Pemberian berbagai konsentrasi Thiamin secara tunggal berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah daun dan jumlah akar dengan perlakuan terbaik terdapat pada T2 (0,5 mg/l media MS) dengan rerata 4,33 helai pada jumlah daun, dan T3 (0,9 mg/l media MS) dengan rerata 5,06 buah pada jumlah akar, dan pemberian konsentrasi Thiamin tidak berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah tunas, tinggi tunas, dan panjang akar pada eksplan.
3. Perlakuan secara interaksi pemberian konsentrasi Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin secara interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah tunas, tinggi tunas, dan panjang akar. Namun berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah daun dan jumlah akar dengan rerata tertinggi 5,11 buah pada interaksi kombinasi K3T2 pada parameter jumlah daun dan rerata tertinggi 6,22 pada interaksi kombinasi K2T1 pada parameter jumlah akar eksplan anggrek *Vanda* sp.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka dapat dilihat untuk mendapatkan pertumbuhan eksplan anggrek *Vanda* sp yang optimal, disarankan dengan pemberian Potassium nitrate (KNO_3) 1.900 mg/l, namun diperlukan penelitian lebih lanjut terkait konsentrasi interaksi antara Potassium nitrate (KNO_3) dan Thiamin terhadap tanaman anggrek *Vanda* sp pada media MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrisco, jordi den (2022) 'Pengaruh pemberian potassium nitrate (KNO₃) dan potassium dihydrogen phospate (KH₂PO₄) pada konsentrasi berbeda terhadap sub kultur anggrek Dendrobium spesies secara in-vitro'Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi
- Aini, F. and Jariah, S. (2016) 'Pengaruh Kadar Thiamine (Vitamin B1) Terhadap Pertumbuhan Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus)', Jurnal Biota UIN Raden Fatah, 2(2), pp. 158–165.
- Amalia, R., Nurhidayati, T. and Nurfadillah, S. (2013) 'Pengaruh jenis dan konsentrasi vitamin', Jurnal sains dan seni pomits, 1(1), pp. 1–6. Availableat:http://index.php/sains_seni/article/view/2581/715.
- Ana, E. T. (2022) 'Pengaruh Penambahan Suplemen Alami (Air Kelapa Muda, Ekstrak Pisang Ambon Dan Ekstrak Tomat) Terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek Vanda Secara In Vitro'Skripsi, Universitas Hasanuddin.
- Andalasari, T. D., Yafisham, Y. and Nuraini, N. (2017) 'Respon Pertumbuhan Anggrek Dendrobium Terhadap Jenis Media Tanam dan Pupuk Daun', Jurnal Penelitian Pertanian Terapan, 14(3), pp. 76–82. doi: 10.25181/jppt.v14i3.156.
- Anggraini, P. D. et al. (2018) 'Pengaruh Pemberian Senyawa NH₄NO₃ (Ammonium Nitrat) Terhadap Pertumbuhan Kecambah Sorgum (Sorgum Bicolor (L.) Moench). Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati, 5(1), 43–48.
- Apriliyani, R., & Wahidah, B. F. (2021) 'Perbanyak anggrek Dendrobium sp. secara in vitro: Faktor-faktor keberhasilannya' Filogeni: *Jurnal Mahasiswa Biologi*, vol. 1, no. 2, pp. 33-46, 2021
- Cryssanti, A. D., Wijayani, A. and Wahyurini, E. (2021) 'in Vitro Planlet Induction of Tropical Pitcher Plant (Nepenthes Ampullaria Jack) By Various Thiamin and Benzyl Amino Purine Concentrate', Agrivet, 25(2), p. 78. doi: 10.31315/agrivet.v25i2.4285.
- Dasuha, D. R. (2022) 'Penerapan Media MS Secara In Vitro Terhadap Konsentrasi Air Kelapa dan Hormon Kinetin Pertumbuhan Planlet Tanaman Anggrek (Orchidaceae)', Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian [JIMTANI], 2(1), pp. 1–11.
- Garuda, S. R. et al. (2015) 'Pengaruh Berbagai Senyawa Organik Kompleks Terhadap Planlet Anggrek Dendrobium Effect of Complex Organic Compounds on Growth Planlet of Dendrobium Orchid', Agros, 17(1), pp. 121–131.
- Hamzah (2022) Multiplikasi Anggrek Coelogyne Rochussenii De Vriese Dengan

Pemberian Potassium Nitrate (KNO₃) Dan Potassium Dihydrogen Phosphate (KH₂PO₄) Pada Media Murashige and Skoog. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi.

- Harahap, F. (2011) Kultur jaringan tanaman: Penerbit Unimed Press, Medan.
- Hariadi, H. et al. (2019) 'Pengaruh Arang Aktif, Benziladenin, Dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Tunas Jati Solomon (*Tectona Grandis* Linn. F) In Vitro', *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 5(2), pp. 21–30. doi: 10.23960/jbekh.v5i2.48.
- Hartati, S., Cahyono, O. and Lestari, N. P. (2018) 'Uji Tingkat Kompatibilitas Dan Umur Mekar Bunga Pada Persilangan Intergenerik Anggrek Vanda Sp Dan *Phalaenopsis* sp', *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*, 32(1), p. 24. doi: 10.20961/carakatani.v32i1.15924.
- Heriansyah, P. (2020) *Rahasia Mudah Menguasai Kultur Jaringan Tanaman: Teori dan Praktiknya*. Penerbit Lindan Bestari.
- Kartikaningrum, S. (2015) 'Pengaruh tiamin terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Oncidium* secara in vitro Pengaruh Tiamin terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek *Oncidium* Secara In Vitro', *J. Hort*, 19(1), 35-39.
- Karyanti, Immanuella, E. L. and Sofia, D. Y. (2017) 'Pengaruh benzilaminopurin dengan penambahan KNO₃ pada multiplikasi tunas *Colocasia esculenta* (L.) Schott VAR. *Antiquorum*', *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UMJ*, 8 November 2017, pp. 237–244.
- Kurzweil, & Arditti, J. (2002) *Ontogeny of orchid flowers. Orchid Biology: Reviews and Perspectives*, Viii, 83-138.
- Mardin, S. (2002) 'Media tumbuh pada kultur jaringan tanaman. Kultur Jaringan Tanaman PS Agronomi Unsoed: Purwokerto Agrin, 11(1).'
- Nugroho, A., & Sugito, H. (2001) 'Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan. Penebar Swadaya, Jakarta'.
- Nuzullah, A. F. and Firgiyanto, R. (2021) 'Aplikasi Berbagai Jenis Media dan ZPT Terhadap Aklimatisasi Anggrek Vanda (*Vanda* sp.)', pp. 10–24. doi: 10.25047/agropross.2021.202.
- Pembangunan, U. and Veteran, N. (2020) 'in Vitro Dengan Menggunakan Macam Media Dan Thiamin Induction of Abaca Banana Roots By in Vitro Using Kinds of Media and Thiamin', *Agrivet Vol 26, No 1 (2020)* pp. 1–7.
- Pratama, J. (2018) 'Modifikasi Media MS Dengan Penambahan Air Kelapa Untuk Subkultur I Anggrek *Cymbidium*', *Jurnal Agrium*, 15(2), p. 96. doi: 10.29103/agrium.v15i2.1071.
- Rodinah and Nisa, C. (2005) 'Kultur Jaringan dengan beberapa Kultivar Berbeda (*Musa paradisiaca* L.)', *Bioscientiae*, 2(2), pp. 23–36.

- Rupawan, I. M., Basri, Z. and Bustami, M. (2014) 'Pertumbuhan Anggrek Vanda (Vanda sp) pada Berbagai Komposisi Media secara In Vitro', *Agrotekbis*, 2(5), pp. 488–494.
- Sari, N. R. (2022) Uji Konsentrasi Fero Sulfat (Feso4) Dan Thiamin Pada Media Murashige And Skoog Terhadap Subkultur Anggrek Dendrobium sp Secara In-Vitro. Skripsi Universitas Islam Kuantan Singingi
- Silalahi, M. (2015) Bahan Ajar Kultur Jaringan, universitas kristen indonesia, jakarta.
- Soetrisno, R. D., Ngadiyono, N. and Suwignyo, B. (2013) 'Produksi Tanaman Sorgum (Sorghum Bicolor (L.) Moench) Varietas Lokal Rote Sebagai Hijauan Pakan Ruminansia Pada Umur Panen Dan Dosis Pupuk Urea Yang Berbeda', *Buletin Peternakan*, 36(3), p. 150. doi: 10.21059/buletinpeternak.v36i3.1622.
- Sudrajad, H., Suharto, D. and Rahmawati Wijaya, N. (2016) 'Inisiasi Kalus Sanrego (Lunasia Amara Blanco.) dalam Kultur Jaringan', *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), pp. 619–623. Available at: https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/ddeec13c19c352d21ccca286966a08ec.pdf.
- Ulya, S., Sedjati, S. and Yudiati, E. (2018) 'Kandungan Protein Spirulina platensis Pada Media Kultur Dengan Konsentrasi Nitrat (KNO₃) Yang Berbeda', *Buletin Oseanografi Marina*, 7(2), p. 98. doi: 10.14710/buloma.v7i2.20109.
- Widiastoety (2008) 'Pengaruh KNO₃ dan (NH₄)₂SO₄ terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek', *Jurnal Hortikultura*, 18(3), pp. 307–311.
- Widiastoety, D. (2008) 'Pengaruh KNO₃ Dan (NH₄)₂SO₄ Terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek Vanda', *Jurnal Hortikultura*, 18(3), p. 84922. doi: 10.21082/jhort.v18n3.2008.p.
- Widiastoety, D. (2008). 'Pengaruh KNO₃ Dan (NH₄)₂SO₄ terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek Vanda.', *Jurnal Hortikultura*, 18(3), p. 84922. doi: 10.21082/jhort.v18n3.2008.p.
- Widyastoety, D. and Santi, A. (2012) 'Keunggulan Kelompok Anggrek Vanda dalam Meningkatkan Variasi dan Kualitas Anggrek Bunga Potong', *Prosiding Seminar Nasional Anggrek*, pp. 117–128.
- Wijayanto, B. and Sucahyo, A. (2019) 'Analisis Aplikasi Penggunaan Pupuk KNO₃ Pada Budidaya Kedelai', *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 26(1), pp. 25–35. doi: 10.55259/jiip.v26i1.205.
- Yusnita, E., & Sc, M. (2003) 'Kultur Jaringan: Cara memperbanyak tanaman secara efisien. Agro Media Pustaka. Jakarta.'
- Yustitia, R. I. (2017) Penambahan Vitamin B1 (Thiamin) Pada Media Tanam

(Arang Kayu Dan Sabut Kelapa) Untuk Meningkatkan pertumbuhan bibit anggrek dendrobium sp pada tahap aklimatisasi. '*Skripsi Universitas Nusantara PGRI Kediri*', 01(11).

Zakaria, D. (2010) Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan BAP (Benzil Amino Purine) Dalam Media Murashige Skoog (MS) Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Reserpin Kalus Pule Pandak (*Rauvolfia verticillata* Lour.). *Skripsi* Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret

Zulkarnain, Z. (2009) *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi perbanyakan tanaman budi daya*. Bumi Aksara.

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Penelitian September – November 2022

No	Kegiatan	Bulan															
		September				Oktober				November				Desember			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Sterilisasi alat	X															
2	Sterilisasi aquades	X															
3	Sterilisasi ruang inokulasi (LAFC)	X															
4	Pemasangan label	X															
5	Pembuatan stok perlakuan a.KNO ₃ b.Thiamin		X														
6	Pembuatan media MS dan pemberian perlakuan a. KNO ₃ b.Thiamin			X													
7	Persiapan bahan tanam (eksplan)			X													
8	Penanaman eksplan			X													
9	Pemeliharaan			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
10	Pengamatan													X			
11	Laporan														X	X	X

Lampiran 2. Komposisi Media Dasar MS (Murashige dan Skoog) dan Pengelompokan Senyawa Kimia Dalam Pembuatan Larutan Stok

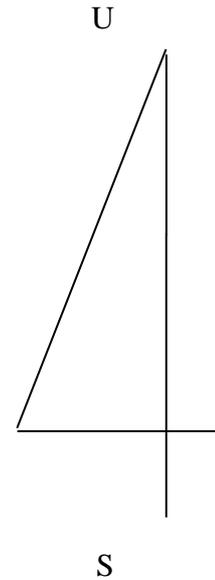
Nama stok	Senyawa dalam larutan stok	Konsentrasi dalam media MS	Konsentrasi dalam larutan Stok (mg/l)	Volume larutan Stok yang dibutuhkan per liter media (ml)
Makro (10x)	KNO ₃ *	1900	19000	20
	NH ₄ NO ₃	1650	16500	20
	MgSO ₄ 7H ₂ O	370	3700	20
	KH ₂ PO ₄	170	1700	20
Ca (100x)	CaCl ₂ 2H ₂ O	440	44000	10
Mikro (100x)	A MnSO ₄ 4H ₂ O	16,9	1690	1
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6	860	1
	H ₃ BO ₄	6,2	620	1
Mikro (1000x)	B KI	0,83	830	1
	CuCO ₄ 5H ₂ O	0,025	25	1
	Na ₂ MO ₄ 2H ₂ O	0,25	250	1
	CaCl ₂ 6H ₂ O	0,025	25	1
Fe (100x)	FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	2780	10
	Na ₂ EDTA	37,8	3780	1
Vitamin (1000x)	Nicotinamic acid	0,5	500	1
	Pyrodoksin-HCl	0,5	500	1
	Thiamin-HCl*	0,1	100	1
	Glisin	2,0	200	1
Mio-inositol (50x)	Mio – inositol	100	5000	20

Sumber : (Yusnita, E., & Sc, 2003)

* : Modifikasi KNO₃ dan Thiamin disesuaikan dengan taraf perlakuan

Lampiran 3. Lay out Dalam Laboratorium Penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial

K2T3 b	K1T0 c	K1T1 b	K2T2 a
K2T1 c	K2T3 c	K2T2 c	K2T1 b
K2T3 a	K1T1 a	K1T0 b	K3T1 c
K1T1 c	K0T2 c	K0T1 b	K0T0 c
K0T0 b	K1T0 a	K0T3 c	K3T3 c
K3T0 a	K1T2 c	K0T3 b	K1T2 b
K0T3 a	K3T3 b	K3T2 b	K3T1 b
K3T0 c	K0T1 a	K1T3 a	K1T3 c
K3T3 a	K2T0 a	K3T2 c	K3T2 a
K0T0 a	K3T1 a	K2T0 c	K0T2 a
K1T3 b	K2T1 a	K2T0 b	K2T2 b
K1T2 a	K0T1 c	K3T0 b	K0T2 b



Keterangan :

K : KNO_3

T : Thiamin

a, b, c : Ulangan

0, 1, 2, 3 : Taraf Perlakuan

Lampiran 4. Data Tabel Analisis Sidik Ragam Jumlah Tunas (buah)

A. Data Parameter Pengamatan Jumlah tunas

Faktor K (KNO ₃)	Ulangan	Faktor T (Thiamin)				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	3,33	3,33	3,67	3,67		
	2	3,67	3,33	3,33	3,33		
	3	3,00	3,00	3,00	3,33		
Jumlah		10,00	9,67	10,00	10,33	40,00	
Rerata		3,33	3,22	3,33	3,44		3,33
K1	1	3,67	3,67	4,00	3,67		
	2	3,33	3,67	3,00	3,67		
	3	3,00	3,33	3,33	3,33		
Jumlah		10,00	10,67	10,33	10,67	41,67	
Rerata		3,33	3,56	3,44	3,56		3,47
K2	1	4,33	4,00	4,33	4,00		
	2	4,33	3,67	4,33	4,33		
	3	3,67	4,00	4,00	4,00		
Jumlah		12,33	11,67	12,67	12,33	49,00	
Rerata		4,11	3,89	4,22	4,11		4,08
K3	1	3,33	3,67	4,00	3,67		
	2	3,00	4,33	4,67	4,33		
	3	4,00	4,00	4,33	4,00		
Jumlah		10,33	12,00	13,00	12,00	47,33	
Rerata		3,44	4,00	4,33	4,00		3,94
Jumlah Besar		42,67	44,00	46,00	45,33	178,00	
Rerata Besar		3,56	3,67	3,83	3,78		3,71

B. Analisis Sidik Ragam (ANSIRA)

SK	DB	JK	KT	F.HITUNG	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
K	3	4.300	1.433	11.890**	2,90	4,46
T	3	0.359	0.120	0.992tn	2,90	4,46
KT	9	0.689	0.077	0.635tn	2,19	3,01
Error	32	3.857	0.121			
Total	47	9.205				

KET : *= Berpengaruh nyata. tn= Tidak berpengaruh nyata

C. Rerata hasil parameter pengamatan jumlah tunas

Faktor K (KN ₀₃)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,33	3,22	3,33	3,44	3,33b
K1	3,33	3,56	3,44	3,56	3,47b
K2	4,11	3,89	4,22	4,11	4,08a
K3	3,44	4,00	4,33	4,00	3,94a
Rerata T	3,56	3,67	3,83	3,78	
KK=	9,38%	BNJ A=	0,38		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Lampiran 5. Data Tabel Analisis Sidik Ragam Tinggi Tunas (cm)

A. Data parameter pengamatan tinggi tunas

Faktor	Ulangan	Faktor T				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	1,00	1,30	1,33	1,23		
	2	1,23	1,00	1,30	1,33		
	3	1,30	1,23	1,33	1,23		
Jumlah		3,53	3,53	3,97	3,80	14,83	
Rerata		1,18	1,18	1,32	1,27		1,24
K1	1	1,00	1,23	1,33	1,33		
	2	1,33	1,33	1,30	1,40		
	3	1,43	1,43	1,30	1,30		
Jumlah		3,77	4,00	3,93	4,03	15,73	
Rerata		1,26	1,33	1,31	1,34		1,31
K2	1	1,40	1,30	1,43	1,40		
	2	1,43	1,40	1,67	1,33		
	3	1,33	1,67	1,43	1,43		
Jumlah		4,17	4,37	4,53	4,17	17,23	
Rerata		1,39	1,46	1,51	1,39		1,44
K3	1	1,30	1,23	1,30	1,33		
	2	1,33	1,33	1,40	1,23		
	3	1,23	1,40	1,40	1,67		
Jumlah		3,87	3,97	4,10	4,23	16,17	
Rerata		1,29	1,32	1,37	1,41		1,35
Jumlah besar		15,33	15,87	16,53	16,23	63,97	
Rerata besar		1,28	1,32	1,38	1,35		1,33

B. Analisis sidik ragam (ANSIRA)

SK	DB	JK	KT	F.HITUNG	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
K	3	0.251	0.084	5.478**	2,90	4,46
T	3	0.068	0.023	1.475tn	2,90	4,46
KT	9	0.050	0.006	0.361tn	2,19	3,01
Error	32	0.488	0.015			
Total	47	0.856				

*KET : *= Berpengaruh nyata. tn= Tidak berpengaruh nyata*

C. Rerata hasil parameter pengamatan tinggi tunas

Faktor K (KNO ₃)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	1,18	1,18	1,32	1,27	1,24b
K1	1,26	1,33	1,31	1,34	1,31b
K2	1,39	1,46	1,51	1,39	1,44a
K3	1,29	1,32	1,37	1,41	1,35a
Rerata T	1,28	1,32	1,38	1,35	
KK=	9,19%	BNJK=	0,13		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Lampiran 6. Data Tabel Analisis Sidik Ragam Jumlah Daun (helai)

A. Data parameter pengamatan jumlah daun

Faktor	Ulangan	Faktor T				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	3,00	3,33	4,00	3,67		
	2	3,67	3,00	3,33	3,67		
	3	3,33	3,33	4,33	4,00		
Jumlah		10,00	9,67	11,67	11,33	42,67	
Rerata		3,33	3,22	3,89	3,78		3,56
K1	1	3,00	4,00	4,33	3,67		
	2	3,67	3,33	4,00	3,67		
	3	3,00	4,33	4,00	3,33		
Jumlah		9,67	11,67	12,33	10,67	44,33	
Rerata		3,22	3,89	4,11	3,56		3,69
K2	1	3,33	4,33	4,00	4,67		
	2	3,00	4,00	4,00	4,33		
	3	3,00	4,33	4,67	4,67		
Jumlah		9,33	12,67	12,67	13,67	48,33	
Rerata		3,11	4,22	4,22	4,56		4,03
K3	1	4,67	4,00	5,33	4,67		
	2	3,67	4,33	5,33	4,67		
	3	3,67	4,67	4,67	4,33		
Jumlah		12,00	13,00	15,33	13,67	54,00	
Rerata		4,00	4,33	5,11	4,56		4,50
Jumlah besar		41,00	47,00	52,00	49,33	189,33	
Rerata besar		3,42	3,92	4,33	4,11		3,94

B. Analisis sidik ragam (ANSIRA)

SK	DB	JK	KT	F.HITUNG	F.TABEL	F.TABEL
					5%	1%
K	3	6.369	2.123	18.679**	2,90	4,46
T	3	5.488	1.829	16.095**	2,90	4,46
KT	9	2.370	0.263	2.317*	2,19	3,01
Error	32	3.637	0.114			
Total	47	17.865				

KET : *= Berpengaruh nyata. tn= Tidak berpengaruh nyata

C. Rerata hasil parameter pengamatan jumlah daun

Faktor K (KNO ₃)	Faktor T (Thiamin)				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,33bc	3,22c	3,89bc	3,78bc	3,56b
K1	3,22c	3,89bc	4,11bc	3,56bc	3,69b
K2	3,11c	4,22bc	4,22bc	4,56ab	4,03b
K3	4,00bc	4,33b	5,11a	4,56ab	4,50a
Rerata T	3,42b	3,92b	4,33a	4,11a	
KK=	8,55%	BNJ K=	0,37	BNJ T=	0,37 BNJ KT = 1,02

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Lampiran 7. Data Tabel Analisis Sidik Ragam jumlah Akar (buah)

A. Data parameter pengamatan jumlah akar

Faktor	Ulangan	Faktor T				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	3,33	4,00	4,33	5,33		
	2	3,33	3,33	4,00	5,00		
	3	3,67	3,67	4,00	4,00		
Jumlah		10,33	11,00	12,33	14,33	48,00	
Rerata		3,44	3,67	4,11	4,78		4,00
K1	1	3,67	4,33	4,33	4,33		
	2	3,67	4,67	4,33	4,33		
	3	3,33	4,67	4,67	4,67		
Jumlah		10,67	13,67	13,33	13,33	51,00	
Rerata		3,56	4,56	4,44	4,44		4,25
K2	1	5,33	6,00	5,33	6,00		
	2	5,00	6,33	5,33	5,33		
	3	4,00	6,33	6,33	5,33		
Jumlah		14,33	18,67	17,00	16,67	66,67	
Rerata		4,78	6,22	5,67	5,56		5,56
K3	1	5,00	5,33	5,33	5,33		
	2	5,00	4,33	5,00	5,33		
	3	5,33	4,33	5,33	5,67		
Jumlah		15,33	14,00	15,67	16,33	61,33	
Rerata		5,11	4,67	5,22	5,44		5,11
Jumlah besar		50,67	57,33	58,33	60,67	227,00	
Rerata besar		4,22	4,78	4,86	5,06		4,73

B. Analisis sidik ragam (ANSIRA)

SK	DB	JK	KT	F.HITUNG	F.TABEL	F.TABEL
					5%	1%
K	3	19.034	6.345	44.834**	2,90	4,46
T	3	4.588	1.529	10.807**	2,90	4,46
KT	9	4.617	0.513	3.625**	2,19	3,01
Error	32	4.528	0.142			
Total	47	32.767				

KET : *= Berpengaruh nyata. *tn*= Tidak berpengaruh nyata

C. Rerata hasil parameter pengamatan jumlah akar

Faktor K	Faktor T				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	3,44c	3,67bc	4,11bc	4,78b	4,00c
K1	3,56c	4,56bc	4,44bc	4,44bc	4,25c
K2	4,78b	6,22a	5,67ab	5,56ab	5,56a
K3	5,11ab	4,67bc	5,22ab	5,44ab	5,11b
Rerata T	4,22c	4,78ab	4,86ab	5,06a	
KK=	7,96%	BNJ K=	0,42	BNJ T=	0,42 BNJ KT=1,14

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Lampiran 8. Data Tabel Analisis Sidik Ragam Panjang Akar (cm)

A. Data parameter pengamatan panjang akar

Faktor	Ulangan	Faktor T				Jumlah	Rerata
		T0	T1	T2	T3		
K0	1	1,03	1,03	1,10	1,20		
	2	1,03	1,03	1,03	1,13		
	3	1,10	1,10	1,20	1,10		
Jumlah		3,17	3,17	3,33	3,43	13,10	
Rerata		1,06	1,06	1,11	1,14		1,09
K1	1	1,13	1,03	1,33	1,23		
	2	1,10	1,13	1,23	1,20		
	3	1,03	1,13	1,13	1,20		
Jumlah		3,27	3,30	3,70	3,63	13,90	
Rerata		1,09	1,10	1,23	1,21		1,16
K2	1	1,33	1,23	1,33	1,43		
	2	1,33	1,50	1,50	1,33		
	3	1,13	1,43	1,43	1,23		
Jumlah		3,80	4,17	4,27	4,00	16,23	
Rerata		1,27	1,39	1,42	1,33		1,35
K3	1	1,33	1,33	1,23	1,43		
	2	1,20	1,20	1,43	1,33		
	3	1,33	1,23	1,33	1,03		
Jumlah		3,87	3,77	4,00	3,80	15,43	
Rerata		1,29	1,26	1,33	1,27		1,29
Jumlah besar		14,10	14,40	15,30	14,87	58,67	
Rerata besar		1,18	1,20	1,28	1,24		1,22

B. Analisis sidik ragam (ANSIRA)

SK	DB	JK	KT	F.HITUNG	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
K	3	0.503	0.168	18.721**	2,90	4,46
T	3	0.070	0.023	2.588tn	2,90	4,46
KT	9	0.051	0.006	0.637tn	2,19	3,01
Error	32	0.287	0.009			
Total	47	0.911				

KET : *= Berpengaruh nyata. tn= Tidak berpengaruh nyata

C. Rerata hasil parameter pengamatan panjang akar

Faktor K	Faktor T				Rerata K
	T0	T1	T2	T3	
K0	1,06	1,06	1,11	1,14	1,09b
K1	1,09	1,10	1,23	1,21	1,16b
K2	1,27	1,39	1,42	1,33	1,35a
K3	1,29	1,26	1,33	1,27	1,29a
Rerata T	1,18	1,20	1,28	1,24	
KK=	7,76%	BNJ K=	0,10		

Ket : angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata (BNJ) pada taraf 5%

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Penimbangan media MS



Gambar 2. Sterilisasi dengan autoclave



Gambar 3. Bahan kimia KNO₃



Gambar 4. Bahan kimia Thiamin



Gambar 9. Penanaman eksplan



Gambar 10. Pengamatan eksplan 1 bulan setelah tanam



Gambar 11. Pengamatan jumlah tunas



Gambar 12. Pengukuran tinggi tunas



Gambar 13. Pengamatan jumlah daun



Gambar 14. Pengamatan jumlah akar



Gambar 15. Pengukuran panjang akar