

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Anggrek *Vanda tricolor*

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang mempunyai bentuk dan penampilan yang indah (Iswanto, 2002). Tanaman anggrek merupakan tanaman berbunga yang memiliki famili terbesar di dunia, yang mencakup kurang lebih 800 genera yaitu meliputi lebih dari 3000 species dan diantaranya terdapat di Indonesia (Widiastoety, 2012). Secara umum, klasifikasi anggrek *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis* menurut Dressler dan Dodson (1960) sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Sub Divisi: Angiospermae, Kelas: Monocotyledoneae, Ordo: Orchidales, Familia: Orchidaceae, Genus: *Vanda*, Spesies: *Vanda tricolor* Lindl. var. *Suavis*.

Anggrek *Vanda tricolor* habitusnya kokoh dan bunganya menarik, selain itu tanaman ini juga mempunyai kisaran suhu yang sangat luas, dapat tumbuh di dataran rendah sampai dataran tinggi, dan mampu bersifat sangat toleran terhadap suhu tinggi sehingga mampu bertahan hidup pada kondisi terpapar sinar matahari dan awan panas yang secara fluktuatif sering keluar dari kubah Gunung Merapi (Widyastoety, 2012). Bunga Anggrek *Vanda tricolor* memiliki bau yang harum, aroma harum ini dipengaruhi oleh ketinggian tempat hidupnya, pada dataran tinggi aromanya sangat kuat dan makin turun ke dataran rendah aromanya semakin berkurang (Metusala, 2007).

Menurut pola pertumbuhannya *Vanda tricolor* termasuk monopodial artinya mempunyai batang utama dengan pertumbuhan ke atas tidak terbatas. Bentuk batangnya lurus, ramping, dan tidak berumbi yang memiliki tinggi mencapai 2

meter (Metusala, 2007). Daun tanaman anggrek *Vanda* berbentuk pita agak melengkung, dengan posisi daun yang berhadapan dan lebar kurang lebih 3 cm dengan panjang daun mencapai 45 cm maka dari itu, *Vanda tricolor* masuk dalam jenis anggrek *strap-leaf* karena memiliki daun yang lebar serta warna dan bentuk yang indah (Widiastoety, 2012).

Bunga *Vanda tricolor* tersusun dalam rangkaian tandan serta terdiri dari *sepal* (berjumlah tiga), *labelum* (mempunyai tiga taji) dan di bagian tengah terdapat alat reproduksi jantan dan betina. Tandan bunga muncul di setiap ketiak daunnya dengan panjang tandan bisa mencapai 50 cm, dan menyangga 10-20 kuntum bunga dengan diameter bunga mencapai 10 cm. Bunga anggrek *V. tricolor* mempunyai corak yang sangat umum di jumpai yaitu putih keunguan dengan bercak – bercak ungu kemerahan (Metusala, 2007).

Perbanyakan anggrek *Vanda tricolor* dapat dilakukan dengan cara generatif (biji) dan vegetatif. Perbanyakan generatif menggunakan biji dapat secara alami terjadi di sekitar akar atau tempat tumbuh ketika buah terbelah dan biji bertebaran. Dapat pula diperbanyak dengan mengambil biji dan menempatkannya pada medium tanam. Namun pertumbuhan biji anggrek *Vanda tricolor* menjadi bibit membutuhkan waktu yang relatif lama. Sementara itu penyebaran biji dengan teknologi yang cukup modern bisa dilakukan di laboratorium khusus (Pranata, 2005). Perbanyakan vegetatif dapat dilakukan dengan cara mengambil bagian tanaman lalu menanamnya secara terpisah dengan induknya. Beberapa cara perbanyakan vegetatif yang biasa dilakukan adalah dengan pemisahan rumpun,

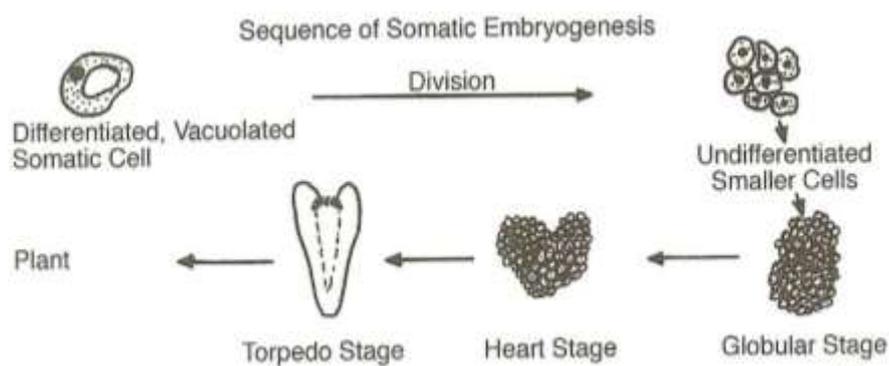
menggunakan anakan yang tumbuh liar di ujung umbi, menggunakan stek, dan kultur *in vitro*.

B. Embriogenesis Somatik

Perbanyakan melalui kultur *in vitro* adalah metode perbanyakan bagi spesies langka untuk tujuan konservasi dan hal ini sangat berguna untuk tanaman anggrek. Kultur *in vitro* adalah salah satu metode dalam perbanyakan tanaman anggrek, dengan mengambil bagian-bagian tanaman anggrek (eksplan) serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik (Hernandez, 2005).

Regenerasi tanaman dengan menggunakan teknik *in vitro* dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik. Perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik Kultur *in vitro* melalui jalur embriogenesis somatik lebih menguntungkan dibandingkan melalui organogenesis karena dapat menghasilkan tanaman baru dengan jumlah yang lebih banyak. Selain itu, karena embrio berasal dari sel tunggal maka akan lebih mudah untuk memonitor proses pertumbuhan setiap individu tanaman (Jimenez, 2001).

Embriogenesis somatik adalah menumbuhkan embrio (calon tanaman) dari sel somatik atau sel tanpa dibuahi atau dapat juga didefinisikan sebagai proses



regen

erasi

ekspl

an

melal

ui

pembentukan struktur menyerupai embrio (embrioid)

Gambar 1. Tahap Pembentukan embrio somatik

dari sel somatik yang telah memiliki calon akar dan tunas. Hal tersebut mengakibatkan perbanyakan melalui embrio somatik lebih menguntungkan dari pada pembentukan tunas adventif. Pembentukan embrio somatik melalui beberapa tahap seperti yang tertera pada Gambar 1, yaitu tahap globular, tahap hati, tahap torpedo, tahap kotiledon, tahap kecambah dan tahap planlet (Purwaningsih, 2002).

Menurut Wiendi dkk. (1991), embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung dan tidak langsung (melewati fase kalus). Embriogenesis somatik langsung adalah proses perkembangan embrio yang terjadi secara langsung pada potongan eksplan tanpa melalui fusi gamet dan terjadi pada eksplan yang masih muda (George dan Sherrington, 1984). Embriogenesis tidak langsung adalah proses perkembangan embrio melalui pembentukan kalus yang berasal dari akar, tangkai daun, tangkai bunga, daun, batang, atau embrio zigot yang mampu membentuk kalus embriogenik (Chawla, 2000). Menurut Ramos dkk. (1993), embriogenesis langsung memerlukan waktu lebih singkat untuk menghasilkan planlet dan kemungkinan terjadinya

penyimpangan akibat keragaman somaklonal lebih kecil dibandingkan embriogenesis tidak langsung.

Perbanyakkan tanaman dengan teknik kultur *in vitro* melalui embriogenesis somatik dapat berhasil apabila diperoleh persentase kalus embriogenik yang cukup tinggi dari eksplan yang dikulturkan ke dalam medium tertentu. Proses embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adalah genotip tanaman, sumber eksplan, komposisi medium, zat pengatur tumbuh dan keadaan fisiologi sel.

Pemilihan medium tergantung pada jenis tanaman yang digunakan. Hal tersebut dikarenakan keadaan medium akan mempengaruhi pertumbuhan kultur, maka dari itu isi dan komposisi dari medium kultur dirancang secara khusus untuk tujuan yang berbeda. Salah satu medium yang umum digunakan dalam kultur *invitro* yaitu medium padat dan cair. Medium padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar dimana nutrisi dicampurkan pada agar sedangkan medium cair adalah nutrisi yang dilarutkan dalam air. Medium cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi yang selalu bergerak, tergantung kebutuhan. Komposisi medium yang digunakan dalam kultur jaringan dapat berbeda komposisinya. Perbedaan komposisi medium dapat mengakibatkan perbedaan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditumbuhkan secara kultur *in vitro*

Pada zat pengatur tumbuh yang perlu diperhatikan adalah ketepatan memilih jenis dan konsentrasi yang sesuai dengan jenis tanaman dan kondisi fisiologis dari eksplan atau jaringan yang ditumbuhkan. Hal ini dikarenakan setiap jenis dan

jaringan tanaman mempunyai respon tersendiri terhadap pemberian zat pengatur tumbuh.

Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Secara umum diketahui bahwa auksin dalam konsentrasi tinggi mendorong embrio somatik secara efektif. Pada umumnya pemberian auksin ke dalam medium padat tanpa sitokinin dapat menginduksi kalus embriogenik, tetapi dengan penambahan hormon sitokinin dapat meningkatkan poliferasi kalus embriogenik.

C. 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid

2,4-D merupakan auksin kuat yang mampu merangsang pertumbuhan kalus dengan cepat dibandingkan terjadinya *browning* pada eksplan sehingga eksplan dapat merespon zat pengatur tumbuh dan unsur hara yang terkandung dalam medium. 2,4-D merupakan jenis auksin sintesis yang sering digunakan dalam kultur jaringan (Abidin, 1982).

Menurut Bhojwani dan Razdan (1989), untuk induksi kalus embriogenik kultur umumnya ditumbuhkan pada medium yang mengandung auksin kuat dengan konsentrasi yang tinggi. Pada tahap inisiasi embrio somatik, sel embriogenik akan dihasilkan jika dikulturkan pada medium yang mengandung auksin (Wattimena, 1992). Peran auksin dalam embriogenesis somatik antara lain untuk inisiasi embriogenesis somatik, induksi kalus embriogenik, poliferasi kalus embriogenik, dan induksi embrio somatik.

Menurut Salisbury dan Ross (1995), auksin menyebabkan sel penerima pada potongan eksplan akan mengeluarkan H^+ ke dinding sel primer yang

mengelilinginya dan menurunkan pH sehingga terjadi pengenduran dinding dan pertumbuhan yang cepat. pH rendah diduga bekerja dengan cara mengaktifkan beberapa enzim perusak dinding sel, yang tidak aktif pada pH tinggi. Enzim tersebut diduga memutuskan ikatan pada polisakarida dinding, sehingga memungkinkan dinding lebih mudah meregang. Menurut Schiavone dan Cooke (1987), auksin mempunyai peranan yang besar dalam proses diferensiasi sel menjadi embrio somatik.

2,4-D merupakan auksin terbaik untuk menginduksi pembentukan embrio somatik dari eksplan dibandingkan dengan tipe auksin yang lain (Ranch dkk., 1986). Hal ini dikarenakan sifat 2,4-D yang mudah diserap oleh tanaman, tidak mudah terurai dan menjadi tidak aktif, berfungsi sebagai auksin yang kuat dan mampu mendorong aktivitas morfogenetika (perkembangan bentuk). Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk menginduksi kalus embriogenik.

Hasil Winarto dkk (2013), menunjukkan bahwa 2,5 mg/l 2,4-D, 1,0 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, 1,0 mg/l IAA dan 3 % sukrosa pada medium 1/2 MS mampu menginduksi pembentukan kalus lebih cepat dengan persentase regenerasi mencapai 32% dan jumlah embrio hingga 20 embrio per eksplan terhadap persilangan Angrek *Vanda tricolor*.

D. TDZ (Thidiazuron)

Thidiazuron atau TDZ merupakan salah satu contoh ZPT golongan sitokinin. TDZ merupakan senyawa yang dapat diserap secara langsung dari medium oleh eksplan atau tanaman *in vitro*. Oleh karena pengaruhnya yang sangat kuat,

hormon ini digunakan dalam konsentrasi yang rendah dibanding jenis sitokinin yang lain. Fungsi sitokinin dalam kultur *in vitro* adalah mendorong pembelahan sel-sel.

Menurut Rineksane dan Sukarjan (2015), Thidiazuron merupakan senyawa kimia yang mempunyai sifat termolabil, yaitu senyawa yang bekerja pada suhu tertentu dan akan mengalami penurunan kualitas bahkan rusak pada suhu tinggi.

Thidiazuron mempunyai karakteristik yang tidak dimiliki oleh zat pengatur tumbuh lain, yaitu efektif bila digunakan pada konsentrasi rendah $\leq 1\mu\text{M}$ (Huetterman dan Preece 1993; Mithila *et al.*, 2003). Konsentrasi TDZ yang lebih rendah dibandingkan dengan sitokinin dapat lebih aktif menstimulasi proliferasi tunas aksilar tanaman berkayu (Huetteman dan Preece 1993. Youmbi *et al.*, (2006) dan Guo *et al.*, (2011) menyatakan bahwa TDZ merupakan molekul baru yang memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan sitokinin. Mok *et al.* (1987) juga mengatakan bahwa TDZ bersifat stabil dan lebih aktif apabila diberikan dalam konsentrasi rendah dibandingkan sitokinin. TDZ konsentrasi tinggi, yaitu 1-50 μM , dapat menstimulasi pembentukan kalus pada beberapa tanaman (Lee 2005).

Penelitian kultur *in vitro* anggrek *Vanda ticolor* yang dilakukan oleh Rineksane dan Sukarjan (2015) terkait penggunaan TDZ menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak memberikan pertumbuhan kalus kecuali pada eksplan yang ditanam dalam medium NDM + 0 mg/l TDZ (kontrol) dan NDM + 0,5 mg/l TDZ. Kalus tumbuh pada medium NDM kontrol tanpa TDZ 2 minggu setelah

tanam (MST), sedangkan pada perlakuan NDM + 0,5 mg/l TDZ kalus tumbuh setelah 6 MST.

E. Hipotesis

Diduga pemberian 4 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l TDZ mampu merangsang pertumbuhan kalus terbaik Anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro*.