

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek Merapi

Vanda tricolor Lindl. merupakan nama latin untuk anggrek Merapi yang merupakan tanaman anggrek spesies asli Indonesia yang tumbuh secara alami di tanah humus hutan yang lembab. Pola pertumbuhan anggrek ini tergolong tipe monopodial dimana batang tumbuh ke atas dan daunnya akan ikut tumbuh seiring dengan pertumbuhan batang selama hidupnya.

Tanaman anggrek Merapi tergolong tanaman anggrek langka dan dalam ancaman kepunahan karena bunganya yang eksotik mencolok dan mempunyai bentuk tubuh yang besar sehingga mudah didapat oleh pemburu bunga. Selain itu, pengembangbiakan anggrek Merapi sulit karena untuk memperoleh biji tanaman ini memerlukan rentang waktu yang lama.

Vanda tricolor Lindl. varietas *suavis forma* Merapi terkenal dengan sebutan anggrek Merapi karena tanaman ini tumbuh subur di lereng Merapi, sehingga tanaman anggrek ini disebut dengan anggrek Merapi. Tanaman ini memiliki bunga berwarna putih dengan bentol berwarna ungu yang menjadi ciri khas dari anggrek ini. Adapun klasifikasi ilmiah dari tanaman anggrek Merapi sebagai berikut : 1. Kerajaan: *plantae*, 2. (unranked) *Angiosperma*, 3. (unranked) : *Monocots*, 4. Ordo : *Asparagales*, 5. Family : *Orchidaceae*, 6. Sub Family : *Epidendroideae*, 7. Genus : *Vanda*, 8. Species: *V.tricolor*.

Tanaman anggrek *V.tricolor* memiliki beberapa varietas seperti varietas *suavis* Merapi dan Bali dari hasil penelitian Semiarti dkk (2009) menunjukkan bahwa anggrek *V.tricolor* Lindl. varietas *suavis forma* Merapi dan Bali yang telah

dikarakterisasi secara morfologi, meliputi: panjang, lebar, dan tebal daun, ukuran bunga, serta diameter buah *Vanda* yang telah masak, menunjukkan hasil yang tidak terlalu berbeda. Begitu pula hasil karakterisasi molekular, keduanya menunjukkan pola morfologi maupun molekular yang sangat mirip satu sama lain. Hasil penelitian Gardiner (2007) dalam Semiarti dkk., (2009), menyatakan bahwa anggrek *V.tricolor Lindl.* varietas *suavis* yang sekarang tersebar di Jawa dan Bali berasal dari satu tetua yang sama yaitu *V.tricolor Lindl.* varietas *suavis* yang ada di Sulawesi dan Filipina. Hasil penelitian ini tentu membawa harapan besar bagi para konservator anggrek sebab jika *V.tricolor Lindl.* varietas *suavis forma* Merapi dan Bali memiliki karakter morfologi dan molekular yang sama, maka ada kemungkinan bahwa *V.tricolor Lindl.* varietas *suavis forma* Bali mampu bertahan hidup jika diintroduksi ke daerah Gunung Merapi (Semiarti dkk., 2009).

Menurut Semiarti dkk., (2009) morfologi *V.tricolor Lindli.* varietas *suavis forma* Merapi memiliki Panjang daun : $31,8 \pm 3,5$ cm, Lebar daun : $4,2 \pm 0,6$ cm, Tebal daun : $0,1 \pm 0,2$ cm, panjang bunga : $6,1 \pm 0,3$ cm, lebar bunga : $6,1 \pm 0,3$ cm, panjang buah : $6,3 \pm 0,2$ cm, dan diameter buah: $2,7 \pm 0,4$ cm.

Perbanyakan tanaman anggrek Merapi ini belum banyak dilaporkan, perbanyakan secara konvensional yang membutuhkan waktu yang lama dan tingkat keberhasilan yang kecil merupakan salah satu faktor perbanyakan tanaman anggrek ini jarang dilakukan. Hasil penelitian Dwiyani (2013) perlakuan tanpa ekstrak tomat, embrio *V.tricolor Lindl.* forma Merapi mencapai hampir 30% memperlihatkan kondisi embrio/protokorm pada medium tanpa ekstrak tomat pada 4 minggu setelah semai. Hal ini disebabkan adanya zat penghambat yang akan

mempengaruhi aktivasi enzim yang menginisiasi proses perkecambahan dan pertumbuhan sehingga penggunaan ekstrak tomat tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

B. Kultur *In vitro* Anggrek

Kultur *in vitro* merupakan suatu teknik pengisolasian bagian tanaman seperti organ, jaringan, sel, protoplasma, menumbuhkannya secara aseptis dalam medium buatan yang kaya akan nutrisi dan mengandung zat pengatur tumbuh sehingga bagian-bagian tersebut memperbanyak diri dan akhirnya beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Pada mulanya orientasi teknik kultur jaringan menjadi sarana pembuktian sifat totipotensi sel (Herawan, 1996). Satu sel dapat tumbuh sendiri walaupun terpisah dengan tanaman induknya karena sel mempunyai kemampuan untuk berkembang. Menurut sifat totipotensi sel dengan pengambilan bagian tubuh manapun dari tanaman akan tumbuh menjadi individu baru yang lengkap apabila diletakkan di medium yang sesuai (Katuuk, 1989). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* yaitu pemberian unsur hara yang lengkap dan tepat sesuai dengan eksplan. Ketepatan dalam pemberian takaran unsur hara karena pertumbuhan eksplan sangat bergantung pada susunan zat makanan yang terlarut dalam medium (Katuuk, 1989). Beberapa keuntungan yang diperoleh dari perbanyakan kultur *in vitro* antara lain : perbanyakan generatif dan vegetatif yang cepat dan efisien, mempermudah seleksi mutan, menghindari sterilitas yang menghambat hibridisasi, produksi tanaman bebas patogen dan sebagai pelestarian plasma nutfah (Widiastoeti dan Santi,1997).

Menurut Daisy dan Ari (1994), teknik kultur jaringan akan berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat-syarat tersebut meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang cocok, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik terutama untuk kultur cair. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem, seperti daun muda, ujung akar, ujung batang, keping biji dan sebagainya. Bila menggunakan embrio bagian biji-biji yang lain sebagai eksplan, yang perlu diperhatikan yaitu kemasakan embrio, waktu imbibisi, temperature dan dormansi.

Dalam kultur *in vitro* terdapat beberapa proses yaitu kultur dengan menggunakan eksplan dari luar maupun kegiatan *over planting* atau sub kultur. Sub kultur (*over planting*) merupakan kegiatan pemindahan planlet (anggrek) ke dalam medium botol kultur baru sehingga memperoleh kebutuhan nutrisi yang baru. Bila medium agar lebih dari 3 bulan tidak diganti, maka medium akan mengalami kecoklatan, menipis, dan mengering. Tanda-tandanya yaitu tanaman anggrek akan mengalami pencoklatan, layu, serta daun yang menguning. Keadaan yang seperti ini akan sangat merugikan apabila planletnya yaitu anggrek silangan. Oleh karena itu sebelum terlambat, anggrek botol harus dipindahkan dalam medium yang baru (Liberty, 2001).

Medium merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan kultur *in vitro*, penggunaan jenis medium akan berpengaruh terhadap kandungan unsur hara yang terkandung didalamnya. Unsur hara yang terkandung dalam suatu medium

yang terdiri dari unsur makro dan mikro serta kandungan bahan organik dan vitamin sehingga mampu merangsang pertumbuhan eksplan.

C. Pupuk Daun Pada Anggrek

Anggrek selalu membutuhkan makanan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya seperti tanaman lainnya dalam hal ini yaitu pemupukan. Unsur-unsur yang dibutuhkan yaitu unsur makro dan unsur mikro. Semua unsur tersebut harus selalu tersedia di dalam medium tanam anggrek (Iswanto, 2010). Habitat anggrek umumnya tidak mampu menyediakan unsur-unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya, untuk mengatasi hal tersebut, biasanya anggrek diberi pupuk baik organik maupun anorganik.

Kebutuhan tanaman anggrek akan unsur hara sama dengan tumbuhan lainnya, hanya saja anggrek membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memperlihatkan gejala-gejala defisiensi, mengingat pertumbuhan anggrek sangat lambat. Di alam bebas atau habitat aslinya, anggrek memperoleh unsur-unsur tersebut dari udara dan bahan-bahan organik yang terakumulasi di sekitar perakaran dan secara konstan jumlah unsur-unsur ini bertambah akibat adanya daun-daun yang gugur dan bahan-bahan lain yang membusuk. Dalam usaha budidaya tanaman anggrek, habitatnya tidak cukup mampu menyediakan unsur-unsur yang dibutuhkan oleh tanaman untuk pertumbuhan. Untuk mengatasi hal tersebut, biasanya tanaman diberi pupuk baik organik maupun anorganik. Pupuk yang digunakan biasanya pupuk majemuk yaitu pupuk yang mengandung unsur makro dan mikro (Tirta, 2006).

Pemberian unsur hara selain diberikan lewat tanah umumnya diberikan lewat daun. Pupuk daun adalah bahan-bahan atau unsur-unsur yang diberikan melalui

daun dengan cara penyemprotan atau penyiraman kepada daun tanaman agar langsung dapat diserap guna mencukupi kebutuhan bagi pertumbuhan dan perkembangan (Lingga, 2004).

Menurut Soedjono (2005), diantara sekian banyak metode pemupukan salah satunya adalah pemupukan lewat daun. Pemupukan lewat daun ini mempunyai beberapa kelebihan diantaranya adalah penyerapan unsur haranya relatif lebih cepat, bisa ditambahkan unsur mikro, karena pupuk (kimia) yang dilewatkan akar kebanyakan hanya mengandung unsur hara makro saja, tidak terjadi pengikatan unsur hara seperti halnya tanah dimana sebagian unsur hara akan diikat dengan kuat oleh partikel tanah dan sulit untuk dilepaskan sehingga tanah akan terhindar dari kerusakan.

Beberapa jenis pupuk daun yang dapat digunakan untuk pertumbuhan vegetatif yakni pupuk *Growmore*, *Hyponex Merah* dan *Gandasil*. Pupuk *Growmore* yang memiliki kandungan N = 32% ; P = 10% ; K = 10%, *Hyponex Merah* memiliki kandungan N = 25% ; P = 5% ; K = 20%, dan *Gandasil D* memiliki kandungan N = 20% ; P = 15% ; K = 15%. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Wangi (2009) menunjukkan bahwa penggunaan pupuk daun bermerk dagang *Growmore* dengan penambahan ekstrak pisang 0 dan 50g/l mampu menghasilkan kalus terhadap planlet anggrek *Dendrodium* sp.

D. Pupuk Organik Cair

Pupuk organik dapat didefinisikan sebagai suatu formulasi yang merupakan perpaduan unsur hara makro dan mikro yang dilengkapi dengan substansi zat pengatur tumbuh sehingga merupakan kesatuan dan fungsi masing-masing unsur di

dalamnya. Pupuk organik memiliki unsur hara makro dan mikro yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman. Salah satu pupuk organik yang cukup lengkap mengandung unsur hara mikro dan makro ialah DI Grow.

Pupuk DI Grow adalah pupuk organik cair kualitas tinggi terbuat dari rumput laut *Acadian Seaweed* dari jenis *Ascophyllum nodosum* (sejenis alga coklat) yang diambil dari Lautan Atlantik Utara, diproses dengan *Nano Technology (USA Formula Technology)*. Pupuk DI Grow mengandung unsur hara lengkap baik makro dan mikro, dalam 250 ml yaitu C-org (8,70 %); N (4,45 %); P (4,92 %); K (4,57 %); Mg (0,03 %); S (0,69 %); Ca (0,005 %); Cl (0,50 %); Fe (397 ppm); Mn (2166 ppm); Cu (507 ppm); Zn (359 ppm); B (149 ppm); Mo (5 ppm); Pb (0,4 ppm); Cd (0,1 ppm); Co (16 ppm); As (0,1 ppm); asam amino, asam humik dan asam Fulfik, dalam pupuk DI Grow juga terkandung Zat Perangsang Tumbuh yaitu auksin, sitokinin, giberellin. Pupuk DI Grow dapat membantu merangsang pertumbuhan batang, tunas dan anak tanaman, meningkatkan penyerapan nutrisi dari dalam tanah oleh akar, mencegah kerontokan daun, bunga dan buah sebelum waktunya, meningkatkan kualitas warna bunga dan rasa buah, memperpanjang masa produktif tanaman, mempercepat masa panen, meningkatkan hasil panen berkisar 30% hingga 300%, memperpanjang masa penyimpanan hasil panen (bunga atau buah tidak cepat busuk), dan meningkatkan daya tahan terhadap serangan hama penyakit. Hasil penelitian Nurika (2016) juga menunjukkan bahwa penggunaan pupuk organik cair 3ml/L menghasilkan pertumbuhan terbaik pada subkultur Anggrek *Vanda tricolor*.

E. Medium MS

Medium kultur jaringan adalah medium tanam yang terdiri dari beberapa komposisi unsur hara. Medium tanam mengandung asam amino esensial, garam-garam organik, vitamin dan glukosa sebagai sumber energi. Medium tanam mampu memberikan pengaruh yang besar terhadap keberhasilan kultur jaringan. Berbagai komposisi medium tumbuh telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Medium tanam kultur jaringan dapat berupa medium cair dan padat (Yusnita, 2004).

Medium tumbuh yang biasa digunakan untuk perkecambahan biji angrek adalah medium *Vacin and Went* (VW), *Knudson C* (KdC), dan *Murashige and Skoog* (MS) (Gunawan, 1995). Medium KdC tidak mengandung vitamin B1, B3, dan B6 sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mengecambahkan benih angrek sedangkan medium VW adalah medium yang paling baik untuk pertumbuhan angrek *Phalaenopsis sp.* medium MS merupakan medium dasar yang banyak mengandung mikronutrien dan vitamin penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. Dari berbagai komposisi dasar medium MS kadangkadang dibuat modifikasi, misalnya hanya menggunakan ½ dari konsentrasi dari garam-garam makro yang digunakan (Marveldani, 2009).

Seperti dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Pasanda, (2016). Penelitian ini menggunakan anak semai angrek hibrida *Phalaenopsis Sogo Yokidian #F1442*, yang dilakukan secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa media MS memberikan respon terbaik terhadap pertumbuhan tinggi anak semai, panjang daun, panjang akar, jumlah daun, jumlah akar, dan berat

segar individu anggrek hibrida *Phalaenopsis* dibandingkan dengan media Knudson C.

Pemilihan medium kultur jaringan adalah salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Hal ini karena setiap tanaman membutuhkan komposisi yang berbeda-beda sehingga menyebabkan banyak diadakan penelitian untuk memodifikasi medium-medium yang memberikan respon berbeda terhadap berbagai macam tanaman (Yusnita, 2004).

F. *Thidiazuron* dan Ekstrak Jagung

Zat Pengatur Tumbuh mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam kultur jaringan. Pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in vitro* diatur oleh keseimbangan zat pengatur tumbuh pada medium dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan.

Thidiazuron merupakan senyawa kimia yang mempunyai sifat termolabil yaitu senyawa yang mampu berkerja pada suhu tertentu dan akan mengalami penurunan kualitas dan rusak pada suhu tinggi, sehingga penggunaan *Thidiazuron* sebaiknya dilakukan menggunakan *milipore* yang berfungsi sebagai penyaring cendawan yang menyebabkan terjadinya kontaminasi dan penggunaan *Thidiazuron* dilakukan di LAF.

Hasil penelitian Rosdiana (2010) menunjukkan bahwa penggunaan 1 mg/l *Thidiazuron* pada *Phalaenopsis amboinensis* menunjukkan hasil terbaik terhadap waktu munculnya tunas, sedangkan konsentrasi 5 mg/l *Thidiazuron* memberikan hasil terbaik pada pengamatan jumlah daun. Hasil penelitian Evo (2018) juga menunjukkan dengan penambahan TDZ 1 mg/L cenderung menghasilkan jumlah

mata tunas Anggrek *vanda tricolor* lebih banyak dari pada perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena kandungan zat pengatur tumbuh thidiazuron dengan konsentrasi 1 mg/L pada media lebih aktif dan memberikan respon untuk merangsang terjadinya pembelahan (sitokinesis) dengan menaikkan laju sintesis protein. Protein tersebut berupa protein pembangun atau enzim yang dibutuhkan sel pada eksplan untuk melakukan mitosis sehingga terjadi pembentukan mata tunas. Hal ini sejalan menurut Rosdiana (2010) 1 mg/l *Thidiazuron* merupakan konsentrasi yang tepat yang dapat mendorong pembelahan sel meristematik pada bagian batang sehingga dapat memacu terbentuknya tunas dalam waktu yang relatif lebih cepat dibandingkan dengan penggunaan Thidiazuron pada konsentrasi lain, yang lebih rendah, ataupun lebih tinggi dari 1 mg/l.

Pada umumnya, *Thidiazuron* digunakan dalam konsentrasi yang rendah karena *Thidiazuron* memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan BA (Yusnita, 2004). Khawar dkk.,(2003) dalam Rosdiana (2010) menyatakan bahwa penambahan *Thidiazuron* dalam konsentrasi yang rendah dapat meningkatkan jumlah pembentukan tunas. Rosdiana (2010) juga menunjukkan interaksi antara 2,4-D dengan *Thidiazuron* dimana hasil terbaik pada perlakuan 2 mg/l dan 2,5 mg/l pada pengamatan hari munculnya tunas *Phalaenopsis amboinensis*. Namun secara umum, interaksi cenderung memberikan reaksi antagonis terhadap pertumbuhan tunas bila dibandingkan dengan konsentrasi *Thidiazuron*.

Ekstrak Jagung muda merupakan bahan alami yang mengandung asam amino, karbohidrat, vitamin, mineral, serta zat pengatur tumbuh auksin, dan sitokinin (Yusnita, 2004). Ekstrak jagung manis mengandung sitokinin yaitu zeatin,

zeatinriboside and C-3 (Letham, 1966). Penelitian ini menggunakan ekstrak Jagung muda. Selain sitokinin buatan, sitokinin alami yang biasa digunakan adalah zeatin. Zeatin dapat diperoleh dari biji tanaman jagung yaitu didalam endosperm cair atau pada cadangan makanan jagung muda (Salisbury dan Roos, 1992). Setiawati dkk (2016) menyebutkan bahwa dalam endosperm jagung muda banyak mengandung sebagian besar karbohidrat, protein, lemak, IAA, zeatin yang merupakan sitokinin alami, myo-inositol dan tiamin.

Pembungaan jagung terjadi umur 49 – 63, lalu rambut tongkol muncul dan selanjutnya penyerbukan mulai berlangsung kemudian dilanjutkan dengan pembentukan dan perkembangan biji (Manwan, 1988). Secara umum jagung dapat dipanen pada saat masak susu pada umur 60 hari, ditandai dengan biji mulai terisi zat pati yang berbentuk seperti cairan santan. Oleh Karena itu, dalam penelitian ini digunakan jagung muda manis dengan mengambil ekstrak jagung muda dari tanaman jagung berumur +/- 65 hari sebagai sumber zeatin dalam berbagai medium. Pemberian ekstrak jagung diharapkan dapat memberikan pertumbuhan pada multiplikasi tunas Anggrek *Vanda tricolor*.

Dalam penelitian Setiawati dkk (2016) juga menunjukkan penggunaan ekstrak jagung muda pada konsentrasi 100ml/L dapat merangsang pertumbuhan tunas anggrek *Dendrobium sp*, dengan parameter waktu muncul tunas, jumlah tunas, dan panjang tunas yang menunjukkan hasil optimal. Seperti yang diungkapkan oleh Andaryani (2010) bahwa penggunaan ekstrak bahan organik yang diberikan ke dalam medium juga mampu menentukan pertumbuhan tunas dan interaksinya dengan hormon endogen yang terdapat pada eksplan.

G. Hipotesis

Diduga perlakuan medium POC serta ekstrak jagung muda dapat menjadi substitusi medium & sitokinin pada multiplikasi tunas Anggrek *Vanda tricolor*.