

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Anggrek *Vanda tricolor*

Anggrek merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan RI yang memiliki prospek untuk dikembangkan (Departemen Pertanian RI, 2007). Banks, (1999) melaporkan lebih dari 30.000 spesies anggrek alam terdapat di dunia, 5000 spesies diantaranya terdapat di Indonesia (Irawati, 2002). Salah satu contoh spesies anggrek yang terdapat di Indonesia adalah jenis anggrek *Vanda tricolor*.

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan spesies anggrek endemik yang berada di kawasan lereng Gunung Merapi Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Anggrek *Vanda tricolor* tumbuh baik pada ketinggian 800-1.700 mdpl, khususnya di hutan yang cukup terbuka. Namun demikian, spesies ini mampu beradaptasi seperti pada saat fase berbunga dengan sempurna pada ketinggian 200-300 mdpl. Selain di lereng Merapi, anggrek *Vanda tricolor* juga dapat dijumpai di Jawa Barat hingga Pulau Bali, bahkan dilaporkan anggrek *Vanda tricolor* juga ditemukan di Negara Laos (Metusala, 2006). 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* berbatang bundar, panjang dan kokoh. Tinggi tanaman dapat mencapai 2 m, daun berbentuk pita agak melengkung dengan ujung daun rumpang bersudut tajam dengan lebar sekitar 3 cm dan panjang

mencapai 45 cm, tersusun saling bergantian pada batang yang tumbuh tegak. Tandan bunga bisa mencapai 50 cm yang menyangga 10-20 kuntum bunga yang muncul dari ketiak daun, sepal (kelopak bunga) dan petal (helai mahkota bunga) berwarna dasar antara putih dan kuning dengan corak totol berwarna coklat kekuningan, dengan totol merah keunguan. Diameter bunga mencapai 10 cm, aroma harum sangat kuat jika berada di dataran tinggi. Semakin rendah keberadaan bunga, maka aroma harum semakin berkurang (Metusala, 2006). Rineksane dkk. (2017) menyebutkan bahwa pola pertumbuhan anggrek merupakan golongan tipe monopodial, dimana batang tumbuh ke atas dan daunnya akan ikut tumbuh seiring dengan pertumbuhan batang selama hidupnya.

Budidaya anggrek *Vanda tricolor* sebenarnya cukup mudah, tetapi tetap membutuhkan keterampilan dalam proses budidayanya. Banyak cara untuk memperbanyak anggrek *Vanda tricolor*. Namun secara garis besar ada dua cara yang sering digunakan, yaitu cara generatif menggunakan biji dan cara vegetatif menggunakan mata tunas, daun dan batang. Perbanyak generatif menggunakan biji dapat dilakukan dengan cara modern, seperti di laboratorium khusus. Perbanyak vegetatif dapat dilakukan dengan mengambil bagian tanaman seperti tunas, lalu ditanam secara terpisah dengan induknya. Perbanyak vegetatif maupun generatif biasanya dilakukan secara *in vitro*. Perbanyak secara kultur *in vitro* dapat menghasilkan jumlah tanaman yang lebih banyak dan seragam dibandingkan dengan cara perbanyakannya lainnya (Republika, 2003).

Hasil penelitian Nurika dkk. (2016) menunjukkan bahwa penggunaan Pupuk Organik 3ml/liter + Sukrosa 30g/liter dapat menggantikan medium VW +

Sukrosa 30g/liter dan menghasilkan pertumbuhan terbaik pada subkultur anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro*.

## **B. Kultur *in vitro***

Kultur *in vitro* atau kultur jaringan adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu dikultur dalam medium buatan yang steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009).

Saat ini kultur *in vitro* merupakan cara yang paling sering dilakukan untuk memperbanyak bibit anggrek, selain dapat menghasilkan jumlah bibit dalam jumlah banyak, tingkat keberhasilannya pun cukup tinggi. Tujuan utama dilakukan perbanyakan secara *in vitro* antara lain, yaitu adanya keseragaman bibit/tanaman, dan dapat dihasilkan jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional (Mutafawwaqin, 2012).

Keberhasilan dari kultur *in vitro* juga sangat dipengaruhi oleh jenis medium tumbuh. Medium tumbuh tidak hanya mengandung unsur hara makro, tetapi juga karbohidrat sebagai sumber karbon atau bahan organik lainnya. Medium tumbuh yang umum digunakan untuk penanaman anggrek adalah medium *Vacin and Went* (VW) dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang ditambahkan ke dalam medium tanam berguna untuk mendorong pertumbuhan anggrek. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang sering ditambahkan ke dalam medium kultur *in vitro* ialah Giberelin, Sitokinin, Auksin,

inhibitor, dan Etilen, namun auksin dan sitokinin yang paling banyak digunakan (Widiastoeti dan Syafril, 1989).

Hasil penelitian Tyas (2014) menyebutkan bahwa pemberian TDZ dengan konsentrasi 1 ppm pada anggrek *Dendrobium sp.* dapat membentuk tunas secara langsung. Sementara itu, jumlah PLB pada anggrek *Oncidium sp.* dapat ditingkatkan melalui pemberian TDZ dengan konsentrasi 1 ppm secara *in vitro*.

### C. Eksplan PLB dan Tunas

Menurut Teixeira da Silva (2012) produksi *Protocorm Like Bodies* (PLB) adalah salah satu metode perbanyakan klonal anggrek secara cepat. PLB adalah massa sel yang menyerupai *protocorm*, sedangkan *protocorm* adalah suatu struktur yang merupakan perkembangan dari perkecambahan biji pada anggrek. Perlakuan pemberian *Thidiazuron* (TDZ) efektif untuk menginduksi *embriogenesis* pada *P. amabilis* (Chen dan Chang, 2004). Latip *et al.* (2010) menunjukkan bahwa persentasi pertumbuhan PLB *P. gigantea* yang terbentuk dengan penambahan *Benziladenin* (BAP) secara tunggal lebih rendah dibandingkan dengan penambahan TDZ pada konsentrasi yang sama.

Perbanyakan anggrek secara kultur *in vitro* juga dapat menggunakan organ vegetatif seperti batang, mata tunas, daun dan organ tanaman lainnya. Perbanyakan vegetatif juga dapat dilakukan secara konvensional melalui stek, namun jumlah anakan yang dihasilkan dari tanaman induknya sangat sedikit berkisar 2-3 tanaman saja. Oleh karena itu, perbanyakan secara *in vitro* adalah cara yang efektif untuk perbanyakan vegetatif anggrek.

Rineksane dan Sukarjan (2015) telah melakukan perbanyakan anggrek *Vanda tricolor* secara *in vitro* dengan menggunakan eksplan daun. Kalus telah diperoleh dari eksplan daun steril *Vanda tricolor* yang dikulturkan pada medium NDM dengan penambahan 0,5 mg/l *Thidiazuron*. Namun demikian, kalus tersebut belum berkembang dan beregenerasi membentuk tunas. Hasil penelitian Setiawati dkk. (2016) menggunakan eksplan tunas anggrek secara *in vitro* menyebutkan rata-rata jumlah tunas tertinggi yaitu 14 tunas terdapat pada perlakuan BAP 3 ppm + ekstrak tomat dan rata-rata panjang tunas tertinggi yaitu 2,06 cm pada perlakuan BAP 2 ppm + ekstrak tomat.

#### **D. Medium Vacin and Went (VW)**

Menurut Marlina (2009) dan Yusnita (2003) medium kultur *in vitro* merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro*. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman didukung oleh jenis dan kombinasi unsur hara yang berbeda-beda, bila unsur hara yang diperlukan oleh tanaman tidak terpenuhi maka pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut akan terhambat. Komposisi medium *Vacin and Went* (VW) merupakan komposisi medium yang paling umum digunakan dalam perbanyakan anggrek secara *in vitro*. Bey dkk. (2006) melaporkan bahwa penggunaan medium VW yang ditambahkan Zat Pengatur Tumbuh Giberelin dapat mempercepat pembentukan *Protocorm Like Bodies* (PLBs) pada tanaman anggrek. Giberelin merupakan senyawa organik yang berperan penting dalam

pertumbuhan karena dapat mengaktifkan reaksi enzimatik, terutama pada benih (Wilkins, 1989).

Medium *Vacin and Went* (VW) sangat sering digunakan dalam penelitian kultur jaringan dengan beberapa komposisi didalamnya. Seperti hasil penelitian Rupawan dkk. (2014) menunjukkan komposisi medium VW yang ditambahkan 2 PPM Giberelin dan 250 ml air kelapa per liter medium lebih sesuai bagi pertumbuhan anggrek bulan. Rata-rata tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar anggrek bulan yang tumbuh pada komposisi media tersebut masing-masing 1,82 cm, 2,55 tunas, 2,00 helai daun dan 2,25 helai akar per planlet. Selain jenis medium, Zat Pengatur Tumbuh seperti Sitokinin dan Auksin juga berpengaruh terhadap pertumbuhan anggrek secara *in vitro*.

### **E. Zat Pengatur Tumbuh**

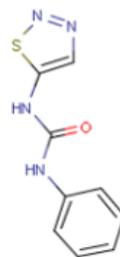
Zat Pengatur Tumbuh umumnya selalu diberikan dalam media kultur *in vitro* untuk mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan dalam perbanyakan tanaman umumnya dari golongan Sitokinin dan Auksin (Husni, 1997). Kombinasi Sitokinin dan Auksin dapat memperbaiki efisiensi regenerasi eksplan, tergantung konsentrasi yang ditambahkan. Kebutuhan Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin dan Auksin diperlukan untuk induksi tunas (Harni, 2003).

#### **1. Thidiazuron (TDZ)**

Huetteman dan Preece (1993) menyatakan pada umumnya media yang mengandung TDZ akan menghasilkan tunas yang berbentuk roset.

Hal ini karena TDZ menginduksi dan mengaktifkan etilen endogen yang memberikan respon terhadap penghambatan pemanjangan batang terutama pada tanaman dikotil (Salisbury dan Ross, 1992). *Thidiazuron* yang terdapat di dalam media menyebabkan sel aktif untuk membelah, sehingga jumlah tunas yang dihasilkan banyak namun menghambat pemanjangan tunasnya.

*Thidiazuron* juga masuk dalam kelompok ZPT Sitokinin sintetik sama seperti BAP. Menurut Kusmianto (2008), TDZ dapat berperan dalam menstimulasi produksi Sitokinin endogen. Kusmianto (2008) lebih lanjut menjelaskan bahwa TDZ juga memiliki peran sebagai inhibitor Sitokinin oksidase yang merupakan enzim menghilangkan keaktifan Sitokinin tipe adenin bebas.



Gambar 1. Struktur kimia TDZ

Oleh karena itu TDZ dapat meningkatkan kerja Sitokinin lain, baik Sitokinin eksogen ataupun Sitokinin endogen. *Thidiazuron* merupakan salah satu Sitokinin tipe *phenylurea* sintetik pada gambar 1 yang memiliki kemampuan lebih baik dalam menginduksi tunas, di antara Sitokinin lain seperti Zeatin, Benzylaminopurin dan Kinetin (Kusmianto, 2008).

*Thidiazuron* (TDZ) merupakan senyawa kimia yang mempunyai aktivasi hampir sama dengan Sitokinin, yaitu dapat meningkatkan proliferasi tunas dan pembentukan embrio somatik. *Thidiazuron* (TDZ) mempunyai aktivasi tinggi pada konsentrasi rendah, yaitu 0,1-0,5 mg/l. Huetteman dan Preece (1993) menyebutkan bahwa konsentrasi *Thidiazuron* (TDZ) yang lebih rendah dibandingkan dengan Sitokinin dapat lebih aktif menstimulasi proliferasi tunas aksilar tanaman berkayu. Mok *et al.*, (1987) juga menyatakan bahwa *Thidiazuron* (TDZ) bersifat stabil dan lebih aktif apabila diberikan dalam konsentrasi rendah dibanding Sitokinin lainnya.

*Thidiazuron* (TDZ) telah banyak dimanfaatkan dalam penelitian kultur *in vitro*, hal ini dapat dilihat dari jumlah publikasi yang diterbitkan. Data *ISI Web Science* menunjukkan bahwa pada tahun 1992 terdapat 45 hasil penelitian tentang *Thidiazuron* (TDZ), tahun 2005 sebanyak 80 publikasi, dan tahun 2009 meningkat menjadi 100 publikasi. *Thidiazuron* dapat diberikan secara tunggal atau dikombinasikan dengan Zat Pengatur Tumbuh lain, seperti Sitokinin dan Auksin.

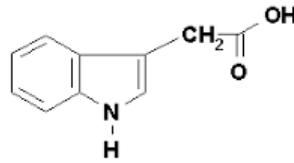
Proliferasi dan pemanjangan tunas pada kultur *in vitro Robinia pseudoacacia* L., *Sorbus aucuparia* L., dan *Tilia cordata* Mill meningkat setelah BA, IBA atau NAA ditambahkan pada media yang mengandung TDZ (Chalupa, 1987). Penambahan TDZ pada media yang mengandung Sitokinin dapat mempercepat pembelahan sel kalus kedelai (Thomas dan Katterman., 1986; Hutchinson *et al.*, 2010). Penambahan TDZ ke dalam

media yang mengandung BA juga dapat meningkatkan proliferasi tunas aksilar *Acer x Fremanii* (Kern and Meyer, 1986). Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa TDZ yang dikombinasikan dengan Zat Pengatur Tumbuh lain hasilnya lebih baik dibanding diberikan secara tunggal (Huetteman and Preece, 1993).

Penggunaan TDZ untuk percobaan kultur *in vitro* terus berkembang pada berbagai jenis tanaman. Syahid dan Kristina (2008) menggunakan TDZ untuk meningkatkan proliferasi tunas tanaman daun encok (*Plumbago zeylanica* L.). Penambahan TDZ 0,01 - 0,15 mg/1 pada media yang mengandung BA 0,1 mg/1 meningkatkan pembentukan tunas dibanding tanpa TDZ. Dalam penelitian kali ini akan dilakukan menggunakan TDZ dikombinasikan dengan NAA untuk perbanyak anggrek *Vanda tricolor* melalui 2 jenis eksplan (PLB dan tunas) secara *in vitro*.

## **2. *Napthalene Acetic Acid* (NAA)**

*Napthalene Acetic Acid* (NAA) merupakan Zat Pengatur Tumbuh yang termasuk dalam golongan Auksin (Zulkarnain, 2009). Auksin berperan merangsang pembelahan sel dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan tumbuhnya pucuk-pucuk baru. Secara alami beberapa eksplan memproduksi Auksin endogen dalam jumlah yang cukup, akan tetapi untuk induksi eksplan perlu dilakukan penambahan Auksin (Staba, 1982).



Gambar 2. Struktur kimia NAA

NAA tidak akan mengalami kerusakan apabila ikut tersterilisasi dengan *autoklaf*, karena NAA memiliki sifat yang stabil dibandingkan dengan *Indole Acetic Acid* (IAA). Menurut Pierik (1987), NAA pada gambar 2 lebih stabil dibandingkan IAA karena tidak mudah terurai oleh enzim - enzim yang dikeluarkan oleh sel. NAA juga memiliki titik leleh 135°C sehingga tidak rusak oleh pemanasan saat sterilisasi dengan *autoklaf* pada suhu 121°C. NAA tidak bersifat toksik dan bukan termasuk Auksin herbisida. NAA banyak digunakan untuk penelitian *in vitro*, seperti penelitian yang dilakukan oleh Sharma *et al.* (2005) mendapatkan bahwa komposisi media VW yang ditambahkan dengan 0,1 mg/l NAA dan 150 ml/l air kelapa memberikan respon yang baik terhadap pertumbuhan biji anggrek *D.fimbriatum*.

Hubungan jenis eksplan, media tumbuh dan Zat Pengatur Tumbuh sangat berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro*. Eksplan daun dan tunas membutuhkan media tumbuh dengan komposisi unsur hara di dalamnya agar dapat tumbuh dan berkembang. Zat Pengatur Tumbuh seperti TDZ berpengaruh terhadap pembentukan kalus pada eksplan tunas,

NAA berpengaruh terhadap pembelahan sel dan pembesaran sel pada pucuk tanaman.

### **F. Hipotesis**

Diduga eksplan tunas merupakan jenis eksplan yang memberikan respon paling baik terhadap pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor* dengan penambahan kombinasi Zat Pengatur Tumbuh antara 1 mg/l TDZ dengan 0,5 mg/l NAA.