

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kultur *In vitro* Anggrek *Vanda tricolor*

Vanda tricolor merupakan anggrek endemik yang tumbuh di kawasan lereng Gunung Merapi. *Vanda tricolor* hidup secara epifit dengan cara menempel pada batang pohon yang ada di hutan Gunung Merapi (Republika, 2015). *Vanda tricolor* dapat tumbuh baik pada ketinggian 800-1.700 mdpl, khususnya di hutan-hutan yang agak terbuka. Spesies ini juga mampu untuk beradaptasi dan berbunga dengan sempurna pada ketinggian 200-300 mdpl. Ada beberapa varietas dari *Vanda tricolor* ini, tergantung dari asal mula keberadaannya. Misalnya, *Vanda tricolor* var. *suavis*, *Vanda tricolor* var. *arrow lips*, *Vanda tricolor* var. Gunung Kawi dan lain-lain. *Vanda tricolor* sering dimanfaatkan sebagai indukan dalam proses persilangan untuk menghasilkan spot-spot warna ungu, warna ungu kemerahan pada labellum, tandan bunga yang panjang serta dapat mengeluarkan aroma yang harum (Arie dan Endang, 2009).

Menurut Metusala (2006), *Vanda tricolor* memiliki batang berbentuk bundar, panjang dan kokoh, ketinggian tanaman dapat mencapai 2 m. Daun *Vanda tricolor* berbentuk pita agak melengkung dengan ujung daun rumpang bersudut tajam dengan lebar sekitar ± 3 cm dan panjang mencapai 45 cm yang tersusun saling bergantian pada batang yang tumbuh tegak. Tandan bunga dapat mencapai ukuran 50 cm menyangga 10–20 kuntum bunga yang tumbuh dari ketiak daun. Sepal dan petal bunga *Vanda tricolor* memiliki warna dasar antara putih dan kuning dengan corak totol berwarna coklat hingga kuning, dengan totol-totol merah keunguan. Bunga *Vanda tricolor* berbau harum, aroma harum ini sangat

dipengaruhi oleh ketinggian tempat hidupnya, di dataran tinggi aromanya sangat kuat dan semakin turun kedataran rendah aromanya semakin berkurang. Diameter bunga *Vanda tricolor* dapat mencapai ukuran 10 cm, serta dapat bertahan hingga 20-25 hari.

Bibit *Vanda tricolor* dapat diperbanyak secara generatif dan juga vegetatif. Perbanyakan generatif *Vanda tricolor* ialah dengan menggunakan biji. Lamanya waktu dan rendahnya kemampuan biji untuk berkecambah menjadi kendala dalam usaha perbanyakan anggrek secara generatif. Menurut Gunawan (2002), Perkecambahan anggrek pada kondisi *in vivo* memiliki daya kecambah yang rendah yaitu kurang dari 1 %. Anggrek mengandung ribuan biji yang sangat halus. Selain itu biji anggrek tidak memiliki endosperma atau cadangan makanan untuk pertumbuhan embrionya (Yulia, 2016). Di habitat aslinya pertumbuhan biji anggrek harus bersimbiosis dengan mikoriza, sehingga laju pertumbuhan dari fase biji sampai menjadi tanaman dewasa yang siap berbunga membutuhkan proses yang lama (Roni *et al.*, 2018). Perbanyakan anggrek secara konvensional dilakukan dengan cara memisahkan anakan (*split*), stek dan kultur *in vitro*. Perbanyakan secara vegetatif *Vanda tricolor* masih dinilai kurang efektif karena jumlah anakan yang dihasilkan terbatas.

Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur *in vitro* memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan teknik perbanyakan vegetatif secara konvensional, yaitu menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang singkat, tidak tergantung dengan musim dan dihasilkan bibit yang seragam (sifat sama persis dengan tanaman induknya). Dari teknik kultur jaringan ini diharapkan

juga memperoleh tanaman baru dengan sifat unggul. Keberhasilan kegiatan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti eksplan (bahan tanam), medium tanam dan zat pengatur tumbuh serta faktor lingkungan. Semua faktor tersebut sangat perlu diperhatikan karena apabila terdapat kesalahan dalam pemilihan dan penempatannya akan menyebabkan kegagalan pada kultur *in vitro* (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

B. Multiplikasi

Multiplikasi merupakan tahap lanjutan dalam kegiatan kultur *in vitro*. Menurut Hendaryono dan Wijayanti (1994) multiplikasi merupakan tahap pemisahan bagian-bagian tumbuhan dari hasil penanaman atau induksi awal tanam kedalam medium yang baru. Tujuan dari multiplikasi adalah untuk menggandakan bahan tanam yang akan diperbanyak, seperti tunas atau embrio. Proses multiplikasi secara *in vitro* umumnya terjadi pada sel yang belum mengalami pertumbuhan sekunder. Bagian tanaman atau eksplan yang diisolasi berpengaruh terhadap pertumbuhan sel tersebut. Pada umumnya sel yang belum mengalami pertumbuhan sekunder terdapat pada bagian meristem (Hidayat, 1995). Teknik terpenting dalam proses multiplikasi adalah proliferasi meristem, dimana nodus yang menghasilkan tunas aksiler dikulturkan dengan tujuan untuk meregenerasi perbanyak tunas tanpa fase kalus (Ozel and Arslan, 2006).

1. Medium NDM

New Dogashima Medium (NDM) merupakan mediumkultur *in vitro* yang mengandung banyak komponen organik. Medium NDM mengandung beberapa vitamin dan bahan organik kompleks seperti asam-asam amino yang dapat

membantu pertumbuhan eksplan anggrek. Medium NDM dikembangkan untuk mikropropagasi anggrek seperti spesies *Phalaenopsis* (Tokuhara dan Mii, 1993). Penelitian mengenai medium NDM sebagai medium untuk kultur *in vitro* telah dilakukan oleh Tokuhara dan Mii (1993).

Hasil penelitian didapatkan lebih dari 10.000 PLB pada anggrek *Phalaenopsis* dan *Doritaenopsis* selama 1 tahun dengan mengkulturkan eksplan potongan pucuk. Hasil penelitian Wahyuni (2018), penggunaan medium NDM dengan konsentrasi TDZ 0,5 ml/L + NAA 0,5 mg/L merupakan perlakuan terbaik untuk pertumbuhan PLB *Vanda tricolor* yang dibuktikan dengan peningkatan diameter, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan persentase eksplan berakar. Saputra (2018) melaporkan penggunaan medium NDM dengan penambahan BAP 0,5 mg/L menunjukkan hasil yang paling baik untuk pertumbuhan multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* pada parameter diameter *Protocorm Like Bodies* (PLB). Untuk mempertahankan stok bahan tanam (eksplan) perlu dilakukan kegiatan multiplikasi ke dalam medium yang baru, sehingga ketika diperlukan stok bahan tanam masih tersedia.

2. Zat Pengatur Tumbuh

Salah satu faktor keberhasilan dalam proses multiplikasi yaitu peranan ZPT. ZPT berperan dalam proses pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan. Sitokinin merupakan hormon tumbuhan yang berperan dalam proses pembelahan, diferensiasi apikal dan dormansi apikal. Penambahan ZPT ke dalam medium menyebabkan terjadinya pembelahan sel serta diferensiasi tunas adventif dari kalus menjadi organ

(Abbas, 2011). Menurut Gunawan (1995) salah satu golongan sitokinin yang tergolong aktif adalah Thidiazuron (TDZ). TDZ merupakan pengatur pertumbuhan tanaman yang digunakan dalam mikropropagasi untuk melengkapi medium seperti *Murashige and Skoog*.

Thidiazuron termasuk salah satu jenis sitokinin tipe *phenylurea* sintetik yang memiliki kemampuan lebih baik dalam proses menginduksi tunas diantara sitokinin lain seperti, kinetin, zeatin dan benzylaminopurin (Kou *et al.*, dalam Kusmianto, 2008). Menurut Guo *et al.*, (2011) Kombinasi TDZ dan fitohormon lainnya termasuk sitokinin lainnya) akan lebih efektif jika diberikan secara bersamaan dari pada diberikan secara tunggal. Hasil penelitian Rineksane dkk.(2017) menunjukkan pemberian TDZ pada medium dapat mendorong pembelahan ataupun pemanjangan sel yang menyebabkan eksplan memanjang serta mendorong peningkatan sintesis klorofil pada daun yang ditandai adanya perubahan warna daun dari hijau muda ke hijau tua. Sitokinin memacu sitokinesis yang meningkatkan jumlah sel. Sitokinesis merupakan proses pembelahan sel dimana sel-sel menyerap air dalam jumlah yang lebih banyak sehingga plasma sel bertambah dan sel memanjang. Perkembangan jaringan atau sel-sel yang mendapat spesialisasi fungsi menyebabkan spesialisasi alat-alat atau organ sehingga membentuk, akar, tunas dan sebagainya (Kasli, 2009). Penambahan hormon sitokinin pada umumnya didampingi dengan hormon dari kelompok auksin untuk meningkatkan pemanjangan sel.

Penggunaan ZPT sintetik dalam kegiatan kultur jaringan membutuhkan biaya yang mahal, sehingga perlu dicari alternatif ZPT yang lebih ekonomis tetapi

mampu menghasilkan bahan tanam yang berkualitas. ZPT alternatif yang sering ditambahkan ke dalam medium kultur *in vitro* untuk mendorong pertumbuhan dan multiplikasi anggrek yaitu ZPT organik dari ekstrak buah-buahan seperti:

3. Air Kelapa

Air kelapa telah lama digunakan dalam kegiatan kultur jaringan sebagai sumber yang kaya akan zat-zat aktif yang diperlukan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Air kelapa merupakan endosperm cair atau cadangan makanan yang terbentuk dari pembuahan atau peleburan antara inti sel telur dan inti sperma sehingga menghasilkan embrio atau zigot yang nantinya akan menghasilkan tanaman baru. Endosperma pada buah kelapa sangat kaya akan nutrisi, sehingga air kelapa yang ditambahkan pada medium kultur jaringan akan membuat eksplan yang ditanam dapat tumbuh dengan baik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Di dalam air kelapa terkandung hormon auksin dan sitokinin. Dalam kegiatan kultur jaringan, hormon auksin berperan merangsang pertumbuhan dan pemanjangan sel, pembentukan kalus dan pembentukan akar adventif. Auksin juga berperan dalam menghambat perkembangan tunas aksilar dan pembentukan embrio somatik dari kultur kalus. Sitokinin berperan dalam menginduksi perkembangan tunas aksilar dan tunas adventif serta meningkatkan pembelahan sel (Acram *et al.*, 2006). Menurut hasil analisis Kristina dan Syahid (2012) kandungan kimia di dalam air kelapa muda menunjukkan komposisi ZPT kinetin (sitokinin) sebesar 273,62 mg/L dan zeatin 290,47 mg/L, sedangkan kandungan IAA (auksin) 198,55 mg/L. Tingginya kandungan sitokinin maupun auksin

dikarenakan ZPT tersebut diproduksi dari jaringan meristematik yang aktif membelah. Selain kandungan ZPT, air kelapa juga mengandung vitamin yang cukup beragam seperti thiamin, piridoksin dan inositol yang dapat dijadikan substitusi vitamin sintetik yang terkandung dalam medium MS.

Kandungan hara makro (N, P dan K) serta beberapa unsur mikro juga berpeluang untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai upaya substitusi hara makro dan mikro serta sukrosa sebagai sumber karbon. Air kelapa yang baik untuk digunakan dalam kultur jaringan yaitu berasal dari buah kelapa yang daging buahnya tidak terlalu lunak dan tidak terlalu keras. Konsentrasi air kelapa yang biasa digunakan untuk medium kultur jaringan adalah 10-15 %/L atau setara dengan 100-150 ml/L, dapat juga sampai 200 ml/L (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Jainol dan Jualang (2015) melaporkan penambahan air kelapa 150 ml/L dalam medium KC merupakan perlakuan terbaik multiplikasi tunas anggrek *Dimorphochi slowii* ketika eksplan ditempatkan secara horizontal dengan persentase maksimum eksplan membentuk tunas, jumlah tunas dan panjang tunas.

4. Ekstrak Pisang

Ekstrak pisang merupakan salah satu komponen tambahan yang sering digunakan pada kultur jaringan tanaman untuk memperkaya nutrisi. Penambahan ekstrak pisang ataupun zat nabati lainnya yang mengandung karbohidrat tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel pada tanaman tertentu (Djajanegara, 2010). Menurut Widiastoety dan Purbadi (2003) pada umumnya jenis pisang yang sering digunakan sebagai bahan tambahan medium kultur jaringan yaitu jenis pisang ambon. Secara umum kandungan yang terdapat dalam

1 buah pisang matang, yaitu protein 1,2 g, lemak 0,2 g, karbohidrat 25,8 mg, kalsium 8 mg, fosfor 28 mg dan besi 0,5 mg. Penambahan ekstrak pisang yang memiliki kandungan karbohidrat tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel pada tanaman tertentu (Djajanegara 2010). Hasil penelitian Handayani dan Isnawan (2014) menunjukkan penggunaan medium Hyponex merah 3 g/L + ekstrak pisang ambon 150 g/L dan air kelapa 150 ml/L mampu memberikan pengaruh terhadap tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah tunas pada anggrek *Cattleya pastoral Innocene*.

5. Ekstrak Tomat

Tomat merupakan salah satu jenis buah yang dapat ditambahkan pada medium kultur *in vitro* sebagai bahan alami yang mengandung senyawa organik yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman. Zat pengatur tumbuh berupa auksin dapat diperoleh secara alami dari buah tomat. Kandungan auksin yang terdapat di dalam buah tomat dapat menstimulasi embriogenesis somatik, organogenesis dan pertumbuhan tunas dalam mikropropagasi pada berbagai spesies tanaman (Dwiyani *et al.*, 2009). Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan planlet adalah vitamin.

Vitamin berperan sebagai katalisator dalam proses metabolisme. Buah tomat mengandung beberapa jenis vitamin salah satunya yaitu vitamin B1 (tiamin). Tiamin merupakan vitamin yang berfungsi mempercepat pembelahan sel pada meristem akar, koenzim dalam metabolisme karbohidrat dan meningkatkan aktivitas hormon yang terdapat di dalam jaringan tanaman, kemudian hormon tersebut akan mendorong pembelahan sel-sel baru (Amalia, 2013). Menurut

Hendaryono (1994), vitamin C pada buah tomat berfungsi untuk mencegah terjadinya *browning* (pencoklatan) pada planlet. Hasil penelitian Devina *et al.*, (2015), penambahan ekstrak tomat 150 ml/L pada medium KC merupakan perlakuan terbaik pada perkecambahan anggrek *Vanda helvova*.

C. Hipotesis

Perlakuan air kelapa 150 ml/L pada medium NDM dapat menggantikan peran ZPT sintesis thidiazuron pada multiplikasi anggrek *Vanda tricolor* sebagai ZPT alternatif.