

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl)

Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) masuk dalam Divisi Magnoliophyta, Subdivisi Angiospermae, Kelas Liliopsida, Subkelas Lilidae, Ordo orchidales, Family *Orchidaceae* Genus *Coelogyne* Spesies *Coelogyne pandurata* Lindl. Anggrek hitam merupakan anggrek alam endemik Kalimantan timur. Anggrek ini tersebar tidak hanya di Kalimantan, namun hingga ke Papua dan Sumatra. Anggrek jenis ini merupakan anggrek simpodial (Adi *et al.*, 2014).



Gambar 1. (a) Bunga anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) (b) tanaman anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl) (Anonim I, 2019)

Spesies anggrek endemik Kalimantan ini memiliki ciri khas berupa bentuk lidah (labellum) yang berwarna hitam pada bagian dalam dan mahkota bunga berbentuk lanset, lancip dan berwarna hijau cerah. Batang anggrek hitam berbentuk umbi semu dan pipih dengan panjang 10-15 centimeter. Mahkota bunga berbentuk rangkaian tandan dengan panjang 15-20 centimeter dan kuntum sebanyak 14 pada setiap tandannya. Pertumbuhan anggrek hitam membentuk rumpun dan masing- masing tanaman saling terhubung dengan akar tinggal (*rhizome*). Umbi semu pada batang memiliki fungsi sebagai penyimpan air dan cadangan makanan, sehingga tanaman tersebut akan bertahan lebih lama pada saat kekeringan (Saputri, 2015).



Gambar 2. Struktur bunga Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) (1) mahkota, (2) labellum, (3) tangkai bunga.

Penelitian tentang anggrek hitam telah dilakukan Lestari dan Deswiniyanti (2015) tentang perbanyakan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dengan media organik dan *Vacin Went* (VW) secara *In vitro*. Hasil penelitian Lestari dan Deswiniyanti (2015) menunjukkan bahwa media VW dan media organik dapat digunakan sebagai media perbanyakan anggrek hitam dengan waktu yang sama yaitu pada minggu ke-5 setelah masa tanam. Media VW memiliki unsur hara lebih lengkap dibandingkan dengan media organik yang ditunjukkan melalui jumlah eksplan yang tumbuh pada minggu ke-5 pada media VW dengan rata-rata sebanyak 235,55 eksplan dan media organik sebanyak 191 eksplan. Pada minggu ke -16 media VW rata-rata sebanyak 308,85 eksplan dan media organik sebanyak 256,65 eksplan. Pengamatan pada jumlah daun media VW rata-rata 2,75 daun dan media organik 2,05. Penelitian anggrek hitam secara kultur juga telah dilakukan oleh Serliana *et al* (2017) tentang pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) secara *In vitro* dengan penambahan ekstrak tomat (*Solanum lycopersicum* L) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP).

Hasil penelitian multiplikasi anggrek hitam dengan perlakuan kombinasi NAA dan BAP menunjukkan bahwa kombinasi BAP dan NAA mampu memberikan pertumbuhan pada tunas dan jumlah daun. Tunas dapat tumbuh lebih baik dalam media dengan penambahan BAP tanpa NAA, sedangkan penambahan akar pada media tanpa NAA dan BAP. Penambahan BAP sampai $0,3 \text{ mgL}^{-1}$ mampu meningkatkan jumlah daun, namun menurun dengan penambahan diatas konsentrasi tersebut (Kartiman *et al.*, 2018).

Penelitian tanaman anggrek hitam (*Coelogyne pandurata Lindl*) perlu terus dilakukan untuk tujuan keberlanjutan konservasi sehingga keberadaan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata Lindl*) tetap lestari dalam dunia plasma nutfah. Penelitian- penelitian tersebut menjadiantisipasi terhadap kepunahan anggrek (*Coelogyne pandurata Lindl*) dan permasalahan-permasalahan mendatang dimana upaya untuk menjaga jenis tanaman ini salah satunya adalah konservasi *ex situ* melalui *In vitro* (Warseno, 2015).

B. Kultur *In vitro*

Kultur *In vitro* adalah metode perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman (potongan daun, akar dan lainnya) dan menumbuhkannya pada media yang mengandung nutrisi serta zat pengatur tumbuh dalam kondisi dan lingkungan steril, sehingga bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh. Teknik kultur *In vitro* bermanfaat dalam beberapa hal khusus seperti perbanyakan klon secara cepat, keseragaman genetik, seleksi tanaman, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun (produksi bibit tidak tergantung musim), dan dapat memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif (Prabaningrum *et al.*, 2016).

Kultur In vitro tanaman dilakukan untuk memperbanyak diri

hingga terbentuk tanaman baru. Tahapan kultur *In vitro* meliputi inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar serta aklimatisasi. Tahapan inisiasi meliputi persiapan eksplan, sterilisasi eksplan untuk mendapatkan eksplan yang bersih dari mikroorganisme dan sumber kontaminan. Sedangkan multiplikasi merupakan kegiatan perbanyakan eksplan dengan subkultur yaitu pemindahan eksplan dalam media baru yang berisi zat pengatur tumbuh (ZPT) secara terus menerus untuk mempertahankan eksplan. Perpanjangan dan induksi akar merupakan kegiatan pemanjangan akar dalam botol kultur sebelum dilakukan aklimatisasi yaitu pemindahan planlet dari botol kultur ke kondisi lapangan atau alam dengan tujuan adaptasi (Prabaningrum *et al.*, 2016).

Metode perbanyakan *In vitro* memiliki beberapa keuntungan yaitu bahan tanam dapat diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat, memiliki keseragaman dan sama dengan tanaman induk, efisiensi tempat dan waktu serta lebih ekonomis dalam jumlah besar. Menggunakan metode *In vitro*, kegiatan perbanyakan tanaman dapat dilakukan secara terus menerus dan tidak tergantung pada musim, selain itu efektif untuk perbanyakan tanaman yang sulit beregenerasi. Perbanyakan secara *in vitro* juga digunakan untuk menyimpan plasma nutfah dalam bentuk planlet sebagai bentuk dari konservasi *ex situ* sehingga keragaman hayati jenis tertentu dapat terlindungi dan terhindar dari kepunahan (Warseno, 2015).

Dalam perbanyakan tanaman secara *In vitro* terdapat beberapa komponen yang dapat mempengaruhi proses pertumbuhan tanaman diantaranya yaitu zat pengatur tumbuh (ZPT) dan media tanam. Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik dan dalam jumlah tertentu dapat merangsang, menghambat dan mempengaruhi pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh ada yang berasal dari tumbuhan itu sendiri (ZPT endogen) dan yang berasal dari luar tumbuhan (ZPT eksogen). Zat pengatur tumbuh eksogen dapat berasal dari bahan-bahan organik dan sintetis. Dalam kultur *in vitro* ZPT eksogen sangat dibutuhkan untuk membantu dan merangsang pertumbuhan dan

diferensiasi sel (Armini *et al.*, 1992).

Menurut Imelda *et al.*, (2008) zat pengatur tumbuh memiliki beberapa golongan antara lain sitokinin, auksin, dan giberalin. Zat pengatur tumbuh golongan auksin yaitu asam indol asam asetat (IAA), indol asam butirat (IBA), naftalen asam asetat (NAA), 2,4 Diklorofenoksi asetat (2,4 D), sedangkan golongan sitokinin yaitu Kinetin, Zeatin, Ribosil, Benzil Amino Purin (BAP), Benziladenin (BA). Giberalin adalah jenis zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk merangsang munculnya bunga, pemanjangan batang dan pembungaan serempak. Contoh ZPT jenis Giberalin yaitu GA 1, GA 2, GA 3, GA 4. (GA3). Zat pengatur tumbuh sitokinin berperan dalam pengggandaan dan pembentukan tunas, sedangkan auksin berperan dalam pembentukan akar dan perpanjangan sel (Lestari, 2011).

Jenis zat pengatur tumbuh yang umum digunakan dalam perbanyak tanaman secara *In vitro* adalah BAP dan NAA. BAP berfungsi sebagai pemacu pembentukan tunas aksilar dan tunas adventif, sedangkan NAA berfungsi sebagai perangsang pembentukan akar dan pemanjangan sel. Dilain sisi kombinasi antara auksin dan sitokinin akan memacu pertumbuhan kalus dan pembelahan sel (Lestari, 2011). Penggunaan kedua jenis ZPT secara bersamaan mampu meningkatkan pertumbuhan jumlah tunas dengan penambahan konsentrasi sitokinin yang lebih besar, Markal *et al* (2015). Penelitian lain dilakukan oleh Muliati *et al.*, (2017) tentang pengaruh NAA, BAP dan kombinasinya pada media MS terhadap perkembangan eksplan *Sansevieria macrophylla* secara *In vitro* menunjukkan bahwa kombinasi antara NAA 1 mg/l +BAP 1 mg/l memberikan pengaruh terbaik pada saat muncul tunas.

Penelitian mengenai penggunaan BAP dan NAA juga telah dilakukan oleh Handayani *et al.*, (2013) tentang pertumbuhan eksplan buah naga (*Hylocereus undatus*) pada posisi tanam dan komposisi media berbeda secara *In vitro* menunjukkan bahwa penambahan dalam media 2

ppm BAP +0,2 ppm NAA dengan posisi tanam rebah memberikan hasil lebih baik dengan rata-rata pembentukan tunas mencapai 8,67 tunas dan panjang tunas mencapai 1,76 cm per eksplan.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) dibagi menjadi dua berdasarkan bahan dasarnya yaitu ZPT sintetis dan organik. Penggunaan ZPT sintetis memiliki harga yang relatif mahal dan kurang ramah lingkungan sehingga penggunaan ZPT organik menjadi pilihan yang tepat. Zat pengatur tumbuh organik salah satunya adalah air kelapa. Komponen Air kelapa yang terkandung didalamnya berupa gula vitamin, mineral, asam amino, dan zat pengatur tumbuh (Nurman *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian Kristina dan Syahid dalam Alfatika (2018) air kelapa muda mengandung komposisi ZPT berupa (kinetin) sebesar 273, 62 mg/l dan zeatin 290, 47 mg/l, dan auksin (IAA) sebesar 198, 55 mg/l. Kandungan ZPT kinetin pada air kelapa muda berfungsi untuk mendorong perluasan daun, perkecambahan biji, menahan penuaan pada tanaman, dan menginduksi regenerasi tanaman dari kalus pada jaringan tanaman (Pranata *et a.*, 2015).

Selain itu dalam penelitian Saefas *et al.*, (2017) tentang pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh alami dan sintetis terhadap pertumbuhan tanaman teh (*Camelia sinensis (L.) O. Kunze*) klon GMB 7 setelah *centering* disebutkan bahwa terdapat sumber senyawa yang memiliki fungsi fisiologis serupa dengan hormon tumbuhan yaitu air kelapa. Air kelapa mengandung berbagai macam zat, termasuk didalamnya hormon sitokinin dan auksin.

Hasil penelitian Handayani dan Isnawan (2014) menunjukkan bahwa medium pupuk daun *Hyponex* merah dan bahan alami pisang ambon 150 g/l dan air kelapa 150 ml/l memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah tunas. Penelitian Mustakim *et al.*, (2015) tentang pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan stek mikro tanaman krisan (*crysantium indicum*) secara *In vitro* menunjukkan bahwa penambahan air kelapa dengan konsentrasi 150 ml/l memberikan hasil terbaik terhadap pembentukan

jumlah daun, jumlah akar, tinggi planlet dan berat planlet dimana hasil penelitian tersebut mendukung hasil penelitian yang dilakukan Handayani dan Isnawan (2014).

Dalam perbanyakan secara *In vitro* media juga merupakan faktor keberhasilan pertumbuhan tanaman. Media adalah tempat tumbuh bagi tanaman perbanyakan yang mengandung nutrisi lengkap guna memenuhi kebutuhan nutrisi tanaman dalam pertumbuhan tanaman tersebut (Merianto *et al.*, 2016). Media *In vitro* mengandung hara makro, mikro, unsur hara makro yang diperlukan antara lain N, P, K, Ca, Mg, dan Na, sedangkan unsur hara mikro yang dibutuhkan yaitu I, B, Mn, Zn, Mo, Cu, Co, dan Fe. Media *In vitro* juga mengandung vitamin, gula dan zat pengatur tumbuh. Media *In vitro* memiliki keadaan yang steril, bebas dari bakteri dan jamur serta gangguan lain yang mengganggu proses pertumbuhan tanaman (Isda dan Fatonah, 2014).

Menurut Prabaningrum *et al.*, (2016), media yang digunakan pada umumnya dalam pelestarian secara *In vitro* adalah media (*Murashige and Skoog*). Media MS (*Murashige dan Skoog*) adalah media yang memiliki kandungan unsur hara lengkap. Media ini mengandung unsur hara makro dan mikro seperti *myoinositol*, *niacin*, *pyridoxin HCl*, *thiamin HCl*, *glycine* dan *glukosa* (Inkiriwang *et al* 2016). Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO₃ dan 28 mM N dalam bentuk NH₄⁺. Kandungan N ini, lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media tembakau *Holdebrant*, dan 18 kali media lebih tinggi dari media *White*. Pertamakali unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi MS ini sudah umum digunakan untuk kultur jaringan jenis tanaman lain (Erwin dan Soekmato, 2008).

Media yang umum digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *In vitro* merupakan media MS dimana media tersebut berbahan dasar sintesis yang memiliki harga relatif mahal dan kurang ramah lingkungan, namun terdapat media alternatif yaitu pupuk daun majemuk seperti *growmore* dan bahan organik berupa pumpkin yang dapat

digunakan sebagai sumber nutrisi pada media dalam perbanyakan tanaman secara *In vitro* (Akbar dan Firza, 2018).

C. Pumpkin

Pumpkin merupakan tanaman yang melimpah dan mudah ditemukan di Indonesia. Pumpkin (*Cucurbita moschata*) merupakan jenis tanaman menjalar yang memiliki bentuk batang berbatang basah dengan panjang batang sekitar 5-25 meter. Dalam proses pertumbuhan tanaman pumpkin memiliki sulur yang digunakan untuk memanjat pada tempat tumbuhnya. Tanaman pumpkin juga memiliki daun berbentuk oval dengan rambut-rambut halus dipermukaan daun. Pumpkin memiliki kulit yang keras berfungsi melindungi daging buah didalamnya yang banyak mengandung vitamin dan nutrisi (Hardiana, 2015).

Pumpkin memiliki beberapa bentuk dan ragamnya diantaranya yaitu panjang, lonjong, dan pipih. Pumpkin merupakan famili *curcubitaceae* yang memiliki tiga jeni yaitu *curcubita pepo*, *curcubita maxima*, dan *Cucurbita moschata*. Jenis pumpkin yang digunakan dalam penelitian ini adalah pumpkin (*Cucurbita moschata*).



Gambar 3. Buah Pumpkin (*Cucurbita moschata*).

Tanaman pumpkin dapat tumbuh di dataran rendah maupun tinggi dan dapat tumbuh dilahan kering. Tanaman pumpkin dapat tumbuh baik di musim hujan maupun kemarau sehingga buah pumpkin tersedia setiap

saat. Dalam 100 gram vitamin A 1,80 SI, vitamin C 52 gram, Kalsium 45 miligram, zat besi 01,40 miligram, magnesium 12 miligram, gula 2,8 gram, karbohidrat 7 gram, kalium 340 miligram, Fosfor 64 miligram, lemak 1,1 gram, natrium 1 miligram, dan protein 1 gram per 100 gram (Hardiana, 2015).

Hasil penelitian Akbar dan Firza (2018) tentang perbanyakan tanaman sarang semut secara *In vitro* dengan medium substitusi pumpkin menunjukkan bahwa kombinasi pumpkin, pupuk daun dan air kelapa dapat mensubstitusi media MS dalam perbanyakan tanaman sarang semut secara *In vitro*. Penambahan pumpkin dengan konsentrasi 20 g/l memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman sarang semut.

D. Pupuk Daun

Pupuk daun adalah pupuk dengan kandungan unsur hara lengkap yang diberikan ke tanaman dalam masa vegetatif maupun generatif. Pupuk daun memiliki dua kegunaan, yaitu untuk mendukung pertumbuhan vegetatif dan pertumbuhan generatif. Pupuk daun mengandung unsur hara lengkap yaitu unsur hara makro C, H, O, K, S, P, Mg, Ca dan unsur hara mikro Mn, Mo, Cl, Zn, Co, Si, Se, Na, Cu (Halisah, 2013). Terdapat berbagai macam pupuk daun yang beredar di pasaran diantaranya Gandasil B, Gandasil D, Hyponex, Growmore, Pokon, Welgro, Molyfert, Trimogen, Graviota, Bayfolan, Wuxsol, Nitrophoska, Vitabloom, dan Complezal Fuid (Sarwono, 2002).

Pupuk daun memiliki kandungan unsur nitrogen yang cukup tinggi yang berperan penting bagi pertumbuhan tanaman pada fase vegetatif. Kandungan nitrogen yang ada didalamnya berfungsi untuk menyusun asam amino, asam nukleat nukleotida, dan klorofil pada tanaman. Penggunaan pupuk daun yang mengandung unsur N yang lumayan tinggi mampu membuat tanaman lebih hijau dan mempercepat pertumbuhan (Halisah, 2013).

Penelitian penggunaan pupuk daun dalam *In vitro* telah dilakukan oleh Handayani dan Rahayu (2015) tentang pertumbuhan *seedlings* anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) secara *In vitro* pada media alternatif dengan penambahan pupuk Gandasil D, Growmore, dan Hyponex menunjukkan penambahan pupuk *Gandasil D*, *Growmore*, dan *Hyponex* dapat mempengaruhi pertumbuhan *seedling* anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*). Pemberian pupuk daun *Growmore* memberikan hasil terbaik untuk pertumbuhan jumlah daun dengan rata-rata daun sebanyak 9,2 helai.

Penelitian penggunaan pupuk daun sebagai sumber unsur hara dalam *In vitro* juga dilakukan oleh Sari (2010) tentang respon pertumbuhan *seedling* (*Phalaenopsis amabilis*) *In vitro* terhadap konsentrasi pupuk NPK lengkap (32:10:10) dan denda organik serta aklimatisasi planlet menunjukkan bahwa penambahan pupuk daun 3 g/l + bahan organik nanas mencapai keberhasilan 100 % pada pertahanan planlet saat aklimatisasi.

E. Hipotesis

Pada eskplan buku anggrek hitam yang diinokulasikan dengan medium pumpkin 20 g/l yang ditambah air kelapa dan pupuk daun dapat memberikan persentase jumlah daun, tinggi daun dan tunas secara kultur *in vitro*.