

I. PENDAHULUAN

I.I Latar Belakang dan Masalah

Anggrek merupakan tanaman hias yang tergolong ke dalam famili *Orchidaceae* yang tumbuh secara epifit atau menempel pada batang tanaman tanpa merugikan tanaman induknya (Gunawan, 2005). Keluarga anggrek termasuk kerajaan tumbuhan terbesar yaitu sekitar 750 jenis yang berbeda dengan sedikitnya 25.000 jenis asli (spesies) dan lebih dari 30.000 kultivar hibrida hasil persilangan (Hew dan Yong, 2008). *Dendrobium* meliputi 1000 spesies berasal dari kaki gunung Himalaya menyebar melalui Asia Tenggara ke Jepang, Australia, Tasmania, dan kepulauan Pasifik (Kamemoto *et al.*, 2004).

Dendrobium merupakan salah satu dari jenis anggrek yang banyak dibudidayakan di Indonesia dengan tipe bunga yang menarik dengan warna yang beragam. Penampilan bunga anggrek yang cantik dan elegan serta bentuknya yang unik dan indah membuat anggrek merupakan lambang keanggunan. Keindahan bunganya sangat cocok untuk menghiasi ruangan di perkantoran, hotel, restaurant dan rumah tinggal. Selain menghiasi ruangan, anggrek biasanya digunakan sebagai hadiah ulang tahun, wisuda, hari pernikahan dan hari istimewa lainnya yang dirangkai sebagai parsel ataupun bunga pot.

Permintaan anggrek *Dendrobium* hibrida meningkat di setiap tahunnya. Menurut BPS (2010), produksi anggrek di Indonesia pada tahun 2010 sebanyak 14.050.445 tangkai. Produksi bunga anggrek di Propinsi Lampung tahun 2009 mencapai 206.954 tangkai meningkat menjadi 219.669 tangkai di tahun 2010. Sedangkan, produksi dan produktivitas tanaman anggrek khususnya di Lampung pada tahun 2009 yaitu produksi (206.954 tangkai/tahun), dan produktivitas (5.33 tangkai/m²) meningkat menjadi produksi (219.669 tangkai/tahun) dan produktivitas (6.81 tangkai/m²) di tahun 2010 (BPS, 2010).

Selain produksinya meningkat di setiap tahunnya, Indonesia merupakan salah satu penyedia plasma nutfah anggrek yang melimpah. Sehingga, Indonesia berpotensi sebagai negara penghasil anggrek dengan menciptakan hibrida-hibrida baru. Hibrida-hibrida anggrek dapat tercipta jika adanya pemuliaan dan teknologi perbanyakan anggrek yang baik. Pemuliaan anggrek yang baik dan benar dapat menghasilkan hibrida dengan karakter yang baru dan sifat yang unggul.

Sebagian besar biji merupakan organ tanaman yang memiliki cadangan makanan yang digunakan untuk metabolisme sel di dalam biji, sehingga dapat terus tumbuh hingga nutrisi di dalam sel habis. Apabila nutrisi yang berada pada --cadangan makanan di biji habis, maka suplai habis dan sel mati yang akan mengakibatkan biji mati. Oleh karena itu, jika cadangan makanan di dalam biji habis, tanaman akan segera mencari nutrisi lain yang berada disekitarnya.

Namun, anggrek memiliki biji dengan ukuran sangat kecil dan tanpa adanya cadangan makanan (Hartmann *et al.*, 2002), sehingga untuk kelangsungan hidupnya di alam biji anggrek harus bersimbiosis mutualisme dengan jamur untuk

mendapatkan nutrisi. Ketiadaan cadangan makanan pada biji anggrek membuat anggrek sangat sulit berkecambah di lingkungan alami dengan kondisi normal (Yusnita, 2010).

Kultur jaringan merupakan salah satu cara untuk menumbuh kembangkan biji anggrek *in vitro* secara aseptik. Karena pada media kultur jaringan terdapat nutrisi dan sumber hara makro dan mikro yang dibutuhkan biji anggrek untuk berkecambah. Mengecambahkan anggrek dengan kultur jaringan menguntungkan secara ekonomi dengan jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat dibandingkan penanaman secara konvensional yang membutuhkan waktu yang lama dan mahal (Hew dan Yong, 2008).

Media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan ada beberapa macamnya. Beberapa media dasar yang digunakan untuk perbanyak anggrek *Dendrobium* adalah Vacin-Went *medium* (Vacin and Went, 1949), Knudson C *medium* (Knudson, 1946), Woody Plant Medium (Lloyd and McCown, 1981) dan Murashige-Skoog *medium* (Murashige and Skoog, 1962). Beberapa media yang digunakan media dasar MS adalah media yang sering digunakan.

Pemakaian unsur makro yang lebih rendah dari pada konsentrasi yang terdapat pada media MS terbukti lebih baik (George, 1996). Zhang *et al.* (1993) yang dikutip dalam Piria *et al.*, (2008) melaporkan bahwa ½ MS dapat mendukung dengan cepat memproduksi protokorm anggrek, karena terkandung ion tinggi dan nutrisi. Yusnita (2010) menyatakan bahwa penggunaan media ½ MS baik digunakan sebagai media dasar karena media ½ MS mengandung hara makro dan mikro seperti cobalt (Co), tembaga (Cu), seng (Zn), boron (B), dan molybdenum

(Mo) yang tidak terdapat pada media Knudson C dan Vacin-Went. Media $\frac{1}{2}$ MS juga mengandung myo inositol dalam jumlah yang cukup besar (100 mg/l) (Yusnita, 2003).

Media $\frac{1}{2}$ MS terbukti lebih baik dibandingkan dengan media dengan konsentrasi hara makro dan mikronya $\frac{1}{4}$ MS dan MS penuh (Fadel *et al.*, 2010). Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, penggunaan media dasar $\frac{1}{2}$ MS telah memberikan efek yang baik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp., sehingga digunakanlah media dasar $\frac{1}{2}$ MS. Media $\frac{1}{2}$ MS artinya konsentrasi hara makro dan mikronya setengah dari yang terdapat pada media MS (Yusnita, 2010).

Arang aktif (*activated charcoal*) juga sering digunakan untuk menggelapkan media kultur. Penambahan arang aktif pada media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan *plantlet* dan arang aktif dapat menyerap etilen atau senyawa - senyawa toksik lain dalam media yang dapat menghalangi pembelahan dan pertumbuhan *plantlet* (Arditti dan Ernst, 1993). Pemberian arang aktif dapat meningkatkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* menjadi *seedling* (Yusnita, 2010).

Pembuatan media diperlukan adenda yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Air kelapa merupakan zat pengatur tumbuh alami yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* berbagai tanaman hias di antaranya anggrek karena memiliki ZPT sitokinin, auksin, Gibrelin, dan zeatin (George, 2008). Untuk memperoleh perkecambahan biji anggrek yang tinggi dan

pertumbuhan protokorm yang lebih baik, semua formulasi media dasar diperkaya dengan 150 ml/l air kelapa (Yusnita, 2010).

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab pertanyaan sebagai berikut:

1. Apakah pemberian arang aktif 2 g/l pada media $\frac{1}{2}$ MS meningkatkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp. ?
2. Apakah penambahan air kelapa pada media $\frac{1}{2}$ MS meningkatkan pertumbuhan protokorm dan apakah peningkatan konsentrasi air kelapa dari 50 menjadi 100 dan 200 ml/l meningkatkan pertumbuhan kultur anggrek *Dendrobium* sp. ?
3. Apakah terdapat interaksi antara perlakuan arang aktif dan air kelapa (0, 50, 100 dan, 200 ml/l) dalam pengaruhnya terhadap pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp. ?

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah yang telah dibuat, maka disusun tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian arang aktif 2 g/l pada media $\frac{1}{2}$ MS terhadap pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa (0, 50, 100 dan 200 ml/l) pada media $\frac{1}{2}$ MS terhadap pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp.
3. Mengetahui interaksi antara arang aktif dan konsentrasi air kelapa (0, 50, 100, dan 200 ml/l) pada media $\frac{1}{2}$ MS terhadap pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* sp.

1.3 Landasan Teori

Bunga anggrek setelah penyerbukan, indung telur akan berkembang ke dalam kapsul buah yang terdapat berjuta- juta benih yang berukuran sangat kecil yang terdiri dari massa sel yang dipisahkan oleh mantel benih (Hew dan Yong, 2008). Jutaan biji anggrek yang tidak mempunyai kotiledon dan endosperm, sehingga sulit berkecambah dalam keadaan alami yang normal (Yusnita, 2010).

Kelangsungan hidup biji anggrek di alam sangat tergantung pada cendawan mikoriza (Darmono, 2004). Pada kondisi sesuai hifa dari mikoriza akan menembus embrio anggrek melalui sel suspensor yang akan dicerna oleh biji anggrek, sehingga terjadi pelepasan nutrisi yang akan digunakan sebagai bahan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan perkecambahan biji anggrek.

Sistem kultur *in vitro* atau *tissue culture* merupakan salah satu cara untuk menumbuhkan biji anggrek yang sulit berkecambah. Kultur jaringan itu adalah menumbuhkan jaringan atau organ tanaman secara *aseptic* dimana diberikan nutrisi dan hormon pertumbuhan tanamannya yang dapat dikendalikan (Hartmann *et al.*, 2002).

Kultur jaringan itu sendiri diawali dengan teori sel yang dipostulatkan pada 1838 oleh Matthias Schleiden dan Theodor Schwann yaitu bahwa sel tanaman didasari oleh teori *totipotent*. Teori *totipotency* yaitu konsep dimana satu sel tumbuhan membawa program genetik dan perangkat fisiologi untuk tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Hartmann *et al.*, 2002). Pada kultur embrio atau biji anggrek *in vitro*, biji anggrek dikecambahkan menjadi protokorm dalam suatu

media agar-agar yang aseptik (Yusnita, 2010). Media agar-agar mengandung suplai energi dan hara makro, hara mikro serta berbagai adenda lain supaya perkecambahan biji dan pertumbuhan protokorm menjadi *seedling* optimal.

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman anggrek *Dendrobium* sangat dipengaruhi oleh media. Beberapa media yang dapat digunakan untuk perbanyakan anggrek adalah Knudson C (Knudson, 1946), Wimber (Wimber, 1963) atau Fomesbech (Fomesbech, 1972) atau media MS (Murashige and Skoog, 1962) (Widoastoety *et al.*, 2005).

Media dasar MS adalah media yang sering digunakan pada kultur jaringan. Media Murashige dan Skoog mengandung 60 mM nitrogen dalam bentuk NO_3 dan NH_4 , sedangkan kalium sampai 20 mM dan pospat 1,25 mM dalam bentuk HPO_4^{-2} dan H_2PO_4^- (George, 2008), sehingga dapat menjadikan MS sebagai media dasar yang baik digunakan untuk berbagai kultur *in vitro*. Yusnita (2008) membuktikan bahwa media MS baik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* hibrida. Namun, pemakaian konsentrasi unsur-unsur makro yang lebih rendah dari pada konsentrasi yang terdapat pada media MS terbukti lebih baik (Gunawan, 1988).

Penyerapan unsur hara pada kultur jaringan dengan konsentrasi setengahnya umumnya sebanding dengan penggunaan konsentrasi yang penuh pada media MS (Williams (1993) yang dikutip di dalam George, 2008). Penggunaan media $\frac{1}{2}$ MS (1962) berpengaruh baik pada pembesaran protokorm anggrek *Dendrobium* hibrida dengan menghasilkan panjang akar tertinggi 1,1 cm dibandingkan media dasar GrowMore dan Hiponex (Indani, 2007). Indrawati (2008) menambahkan

dari penelitiannya bahwa media dasar ½ MS merupakan media dasar terbaik menghasilkan pertumbuhan protokorm dibandingkan media Vacin and Went dan Hiponex.

Sumber karbohidrat misalnya gula merupakan komponen yang selalu ada dalam media tumbuh. Sukrosa adalah karbohidrat yang paling baik, dibandingkan fruktosa, galaktosa, manosa dan laktosa yang tidak efektif pada media tumbuh. Sukrosa dalam media dihidrolisa menjadi monosakarida selama kultur.

Hidrolisa terjadi karena aktifitas enzim *invertase* yang terdapat pada dinding sel. Hidrolisa sukrosa paling efektif dalam media dengan pH rendah. Dalam kultur embrio, konsentrasi gula digunakan 12 % (Gunawan, 1988). Gula juga berfungsi sebagai meningkatkan tekanan osmotik dalam media (George, 2008).

Arang aktif (*activated charcoal*) juga sering digunakan pada media kultur.

Pengaruh arang aktif pada perkecambah digunakan untuk menyerap senyawa penghambat seperti *ethylene*, *phenolics* dan *carboxylic* yang bersifat toksik yang dapat menghambat pertumbuhan. Arang aktif juga berfungsi menggelapkan warna media sehingga pengakarannya masuk ke dalam media. Selain itu, arang aktif juga dapat mengurangi pencoklatan pada media yang diakibatkan oleh pemanasan tinggi setelah proses sterilisasi (Arditti dan Ernst, 1993).

Arang aktif mengadsorpsi senyawa-senyawa toksik yang terdapat pada media seperti persenyawaan fenolik dan persenyawaan 5-hidroksimetil fulfural yang diduga terbentuk dari gula yang berada dalam larutan asam lemah dan mengalami pemanasan dengan tekanan tinggi. Arang aktif yang dianjurkan digunakan dengan konsentrasi 0,5 – 6% (Gunawan, 1988).

Selain media dasar, diperlukan adenda sebagai bahan tambahan. Cairan air kelapa yang masih muda adalah komponen yang efektif untuk media kultur jaringan yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel, organ, jaringan ataupun *seedling* anggrek *in vitro* (Arditti dan Ernst, 1993). Air kelapa digunakan untuk perbanyak *in vitro* tanaman hias misalnya anggrek karena mengandung zat pengatur tumbuh alami yaitu sitokinin dan auksin (George, 2008).

Air kelapa mengandung ion anorganik (klorin, tembaga, besi, *magnesium*, phosphorus, potassium, sodium, sulfur), komponen nitrogen (thanolamine dan ammonia), asam amino, enzim, dan asam organik (George, 2008). Selain itu, air kelapa juga mengandung gula antara 1,7 – 2,6% dan protein 0,07 – 0,55%. Selain kaya mineral, air kelapa juga mengandung bermacam-macam vitamin seperti asam sitrat, asam nikotinat, asam pantotenat, asam folat, niasin, riboflavin, dan tiamin (Arditti dan Ernst, 1992).

Penggunaan air kelapa yang efektif untuk media yaitu sekitar 10 – 15% dari volume medianya dan konsentrasi yang paling tinggi yaitu 20% air kelapa untuk media (George, 2008). Air kelapa dengan konsentrasi 15% yang sama efektifnya dengan BA 1,5 mg/l dalam multiplikasi tunas, maka peran sitokinin sintetik dapat digantikan oleh air kelapa (Seswita, 2010).

Air kelapa dapat berefek menstimulasi pertumbuhan dan perkembangbiakan *seedling* anggrek serta dapat merangsang tumbuhnya tunas dengan konsentrasi 10 – 15% dimana penggunaannya tidak dicampur dengan daging buah (Arditti dan Ernst, 1992). Oleh karena itu, pemberian bahan adenda ke dalam media kultur

seperti air kelapa merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pembesaran protokorm anggrek *Dendrobium*.

Setelah pembuatan larutan media, diperlukan agar sebagai pematat media. Agar yang digunakan merupakan campuran polisakarida yang diperoleh dari spesies alga dengan kandungan unsur Ca, Mg, K, dan Na. Keuntungan agar-agar yaitu membeku pada temperatur $< 45^{\circ}\text{C}$ dan mencair pada 100°C , tidak dicerna oleh enzim tanaman dan tidak bereaksi dengan persenyawaan penyusun media (George, 2008). Konsentrasi agar yang sering digunakan antara 0,5 – 1,0% pada media kultur (Gunawan, 1988).

1.4 Kerangka Pemikiran

Untuk menjelaskan perumusan masalah dalam penelitian ini disusunlah kerangka pemikiran sebagai berikut:

Dendrobium adalah salah satu jenis anggrek yang banyak diminati oleh konsumen. Permintaan anggrek sebagai bunga potong dan bunga pot meningkat setiap tahunnya. Hal ini disebabkan oleh tipe bunga yang menarik dengan warna yang beragam. Anggrek *Dendrobium* juga mempunyai penampilan yang cantik dan elegan serta bentuknya yang unik dan indah, mengakibatkan permintaan akan bunga potong anggrek meningkat di Indonesia.

Untuk memenuhi kebutuhan permintaan yang tinggi terhadap anggrek

Dendrobium, perlu dilakukan perbanyakan yang dapat menghasilkan anggrek yang berkualitas dengan waktu singkat dan menghasilkan tanaman yang seragam.

Salah satu cara perbanyakan generatif yaitu menggunakan biji anggrek

Dendrobium hasil persilangan. Namun, biji anggrek sulit untuk tumbuh pada

lingkungan alami yang normal, dikarenakan biji anggrek yang terlalu kecil dan tidak memiliki endosperem ataupun kotiledon, sehingga, untuk dapat tumbuh secara alami di lingkungan normal diperlukan adanya simbiosis dengan jamur yang berada di alam misalnya mikoriza.

Kultur jaringan merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk menkecambahkan biji anggrek *Dendrobium* yang sulit untuk berkecambah.

Teknik kultur *in vitro* memerlukan media dan lingkungan tumbuh yang optimal untuk anggrek, sehingga biji anggrek dapat tumbuh dengan baik. Media sangat berperan dalam mensuplai nutrisi dan unsur hara yang digunakan untuk perkecambahan biji dan pembesaran protokorm anggrek *Dendrobium*. Jenis dan komposisi media harus mengandung unsur hara makro dan mikro dalam bentuk garam-garam, vitamin, glukosa atau sukrosa sebagai sumber karbon serta bahan pematat berupa agar-agar.

Beberapa penelitian sebelumnya pembesaran protokorm anggrek *Dendrobium* dilakukan pada media padat MS untuk mendapatkan *seedling* dengan pertumbuhan yang baik. Pada media MS (Murashige dan Skoog, 1962) mengandung unsur hara makro, mikro, vitamin, dan gula membuat media MS ini sering digunakan untuk pembesaran protokorm secara *in vitro*.

Penggunaan media MS dengan konsentrasi hara makro dan mikro setengahnya dari banyak penelitian telah mampu dengan baik mempercepat pertumbuhan berbagai jenis tanaman yang salah satunya protokorm anggrek *Dendrobium*. Media $\frac{1}{2}$ MS telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya dan menghasilkan tanaman yang baik, sehingga, dengan menggunakan $\frac{1}{2}$ MS dapat

menghasilkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* yang baik.

Biji anggrek dihasilkan dari persilangan bunga anggrek secara *selfing*. Jika persilangan berhasil bunga akan layu dan membentuk polong yang berisi biji-biji anggrek. Biji anggrek yang dihasilkan memiliki karakter baru dari kedua induknya. Setelah polong anggrek telah matang dilakukan penanaman biji anggrek ke media ½ MS. Setelah biji anggrek berkecambah menjadi protokorm dilakukan subkultur dengan memindahkan protokorm ke media baru. Eksplan yang digunakan pada pembesaran ini harus dicirikan dengan protokorm yang sudah primordian daun sudah muncul sekitar dua bulan umur protokormnya.

Selain itu, pada media kultur dapat dikombinasikan dengan pemberian arang aktif. Arang aktif dan berbagai konsentrasi air kelapa yang dimasukkan ke dalam formulasi media dapat mempengaruhi pertumbuhan anggrek *Dendrobium*. Arang aktif yang ditambahkan dalam formulasi media dapat menstimulasi pertumbuhan sel dengan kemampuan arang aktif mengikat senyawa fenol yang bersifat toksik yang diproduksi biakan selama dalam kultur yang dapat menghambat pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium*.

Arang aktif juga dapat merangsang perakaran dan mengurangi intensitas cahaya yang sampai ke media pembesaran protokorm. Pada penelitian sebelumnya penambahan arang aktif 2 g/l berpengaruh positif dalam meningkatkan pertumbuhan *seedling* anggrek *Dendrobium* (Larassasti, 2011), sehingga dalam pembuatan media ½ MS ditambahkan arang aktif dan air kelapa sebagai adenda dalam penelitian pembesaran protokorm anggrek *Dendrobium in vitro*.

Untuk meningkatkan pertumbuhan eksplan protokorm anggrek *Dendrobium*, media kultur biasanya ditambahkan dengan air kelapa yang diketahui mengandung ZPT sitokinin, natrium, vitamin, gula, asam-asam organik, dan senyawa-senyawa lain yang mampu merangsang respon untuk tumbuh dan perkembangan protokorm anggrek *Dendrobium*. Pada penelitian sebelumnya air kelapa yang digunakan sebagai adenda tambahan terbukti dapat meningkatkan pekecambahan biji dan meningkatkan protokorm anggrek serta baik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* menjadi *seedling*, sehingga digunakanlah adenda air kelapa dalam penelitian ini.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan dapat disimpulkan hipotesis sebagai berikut:

1. Pemberian arang aktif 2 g/l pada media ½ MS mampu meningkatkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium*.
2. Penambahan air kelapa pada media ½ MS dan konsentrasi air kelapa 100 ml/l merupakan konsentrasi terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium*.
3. Terdapat interaksi antara perlakuan arang aktif dan air kelapa (0, 50, 100, dan 200 ml) dalam pengaruhnya pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium*.