

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Famili anggrek merupakan salah satu kelompok terbesar diantara tumbuhan lainnya di dunia. Tidak seorang pun mengetahui berapa banyak jenis dan spesies yang tergolong ke dalam jenis anggrek-anggrekan (Cribb, 2008). Anggrek termasuk keluarga besar dari kelompok (*sub divisi*) tanaman berbunga atau berbiji tertutup (*Angiospermae*), kelas tanaman berbiji tunggal (*Monocotyledoneae*), ordo *Orchidales*, dan famili *Orchidaceae* (Hew dan Yong, 2008).

Orchidaceae merupakan tanaman yang ditemukan pada daerah tropis dan subtropis terutama pada pegunungan tropis Amerika dan Asia Tenggara (Chen dan Chen, 2005). Dalam kingdom *Plantae*, anggrek diwakili oleh sejumlah genera, yaitu sekitar 600 – 800 genera yang terdiri dari 25.000 hingga 35.000 spesies dan sekarang anggrek hibrida di seluruh dunia mencapai 80.000 (Sugapriya, 2009). Indonesia memiliki sekitar 5.000 spesies anggrek (Yusnita, 2010).

Negara Indonesia termasuk salah satu negara terkaya dalam koleksi spesies anggrek. Salah satu anggrek yang terkenal di Indonesia adalah anggrek *Dendrobium*. Genus inilah yang paling banyak diminati konsumen, paling banyak dibudidayakan dan diperdagangkan (Yusnita, 2010).

Dendrobium berasal dari kata *dendros* yang artinya pohon dan *bios* yang artinya hidup, sehingga anggrek *Dendrobium* tanaman yang hidup menempel di batang atau ranting pohon (Rentoul, 2003).

2.2 Klasifikasi Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Menurut Dressler dan Dodson (2000) yang dikutip dalam Widiastoety *et al*, (2010), sistematika tanaman anggrek *Dendrobium* yaitu:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermathophyta</i>
Sub-divisi	: <i>Angiospermae</i>
Ordo	: <i>Orchidales</i>
Kelas	: <i>Monocotyledonae</i>
Famili	: <i>Orchidaceae</i>
Sub-famili	: <i>Epidendroideae</i>
Tribes (suku)	: <i>Epidendrae dendrobieae</i>
Genus	: <i>Dendrobium</i>
Spesies	: <i>Dendrobium</i> sp.

2.3 Karakteristik Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Pola pertumbuhan anggrek pada dasarnya ada dua macam, yaitu simpodial dan monopodial (Yusnita, 2010). Pola pertumbuhan anggrek *Dendrobium* tergolong ke dalam pertumbuhan secara simpodial. Pola pertumbuhan simpodial yaitu tumbuh melalui dua poros dari poros tumbuh horizontal yang tidak terbatas (*indeterminate*) dan vertikal (*determinate*) dan berakhir dengan infloresens bunga (Gunawan, 2005).

Berdasarkan tempat tumbuhnya anggrek yang tergolong epifit tumbuh secara menempel pada tumbuhan lain (Wattana dan Pedersen, 2008), tetapi tidak merugikan tanaman sebagai tempat tumbuhnya, contohnya berbagai spesies *Dendrobium*. Akar anggrek yang habitatnya epifit memiliki kebiasaan yang berbeda-beda berdasarkan genera dan spesiesnya dan memiliki karakteristik yang khas dengan adanya lapisan *velamen* (Arditti, 1992). Anggrek epifit umumnya berakar lunak dan mudah patah, dengan ujung meruncing, licin dan sedikit lengket serta lapisan *velamen* yang bersifat *spongy* (berongga) (Gunawan, 2005).

Anggrek *Dendrobium* yang habitatnya epifit membutuhkan kisaran intensitas cahaya optimal 2.400 – 3.600 fc dengan kisaran suhu optimal 15,5 – 30 °C dan kisaran kelembaban 40 – 55% (Yusnita, 2010). Darmono (2004) menambahkan bahwa anggrek *Dendrobium* membutuhkan naungan dari cahaya matahari sebanyak 55 – 65% dengan suhu siang antara 27 – 30 °C dan suhu malam 21 °C.

2.4 Morfologi Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Anggrek, merupakan tanaman herba tahunan yang mempunyai karakteristik unik (Gunawan, 2005). Bunga anggrek *Dendrobium* mempunyai ciri-ciri terdiri dari lima bagian utama yaitu sepal (kelopak bunga) dan petal (mahkota bunga), benang sari, putik dan ovari (bakal buah). Sepal pada anggrek tidak seperti bunga pada umumnya yang seperti daun berwarna hijau. Sepal anggrek berbentuk segitiga dengan letaknya simetris yang paling atas lebih besar dari dua bagian lain yang berada di samping (Hew dan Yong, 2008).

Petal yang di tengah mengalami modifikasi, sehingga tidak sama dengan dua mahkota bunga lainnya. Bentuk petal yang di tengah biasanya sangat spesifik dan

disebut dengan *labellum* atau bibir (lip) (Yusnita, 2010). *Labellum* membentuk semacam *platform* tempat hinggapnya serangga (Gunawan, 2005). *Platform* adalah gumpalan-gumpalan seperti massa sel (*callus*) yang mengandung protein, minyak, dan zat pewangi yang berfungsi untuk menarik serangga (Darmono, 2004). Stigma sendiri berada pada rongga di depan kolom, *rostellum* menghasilkan kantung rapuh sebagai perekat, dan anter berisi empat pollinia (Kong *et al.*, 2007)

Buah anggrek *Dendrobium* dikenal sebagai polong dimana polong tersebut adalah suatu terminal yang terdiri dari tiga carpel. Kapsul atau polong anggrek yang matang akan merobek dan terpisah berdasarkan klep-klep, dengan demikian akan melepaskan benihnya. Beberapa jenis anggrek klep memisah sepenuhnya pada pucuk *kulminasi* dan menyebar terpisah secara luas (Arditti, 1992).

Pada umumnya bentuk dan ukuran batang anggrek sangat beragam. Batang anggrek *Dendrobium* termasuk batang semu yang disebut dengan *pseudobulbs* dengan ukuran sangat besar yaitu lebih dari 2,5 meter dengan diameter 3 cm (Yusnita, 2010). *Pseudobulbs* adalah posisi pembesaran dari batang dimana semua daun dan bakal bunga muncu. Berdasarkan jumlah ruas (internode), batang semu anggrek diklasifikasikan menjadi dua, yaitu yang mempunyai banyak ruas (*type homoblastic*) dan yang mempunyai satu ruas (*type heteroblastic*). Anggrek spesies *Dendrobium* tergolong ke dalam batang semu *type homoblastic* (Hew dan Yong, 2008).

Bentuk daun anggrek ada bermacam-macam seperti bulat, lonjong, sampai lanset. Ketebalan daun beragam ada yang tipis sampai tebal berdaging, rata dan kaku

(Darmono, 2004). Anggrek *Dendrobium* digolongkan ke dalam anggrek dengan daun yang tebal yang susunan daun anggrek berhadap-hadapan atau berselang-seling (Yusnita, 2010).

Pada umumnya morfologi akar suatu jenis anggrek dipengaruhi habitatnya (Yusnita, 2010). Pada anggrek *Dendrobium*, akar terdapat pada batang semu dengan warna hijau atau hijau kemerahan pada ujungnya sedangkan pada bagian lain berwarna putih hingga abu-abu. Akar anggrek *Dendrobium* memiliki perbedaan velamen dengan yang tidak bervelamen. Bentuk sel pada velamen yaitu melintang secara radikal stabil berbentuk sekrap dengan pori-pori relatif kecil (Arditti, 1992).

2.5 Perbanyakan Anggrek *Dendrobium* sp.

Anggrek *Dendrobium* dapat diperbanyak secara vegetatif dan generatif.

Perbanyakan secara vegetatif dapat dilakukan dengan menanam bagian batang, akar dan rhizom atau umbi pada tanaman itu sendiri. Perbanyakan vegetatif dapat dilakukan dengan cara *splitting* (pemisahan anakan), pemotongan anak tanaman yang muncul dari batang (stek), dan pemotongan anak tanaman yang keluar dari tangkai bunga atau disebut dengan keiki (Yusnita, 2010). Namun, perbanyakan secara vegetatif tidak menguntungkan karena membutuhkan waktu yang lama (Hew dan Yong, 2008).

Tanaman anggrek selain perbanyakan vegetatif dapat juga diperbanyak secara generatif yaitu melalui proses penyerbukan atau persilangan yang akan menghasilkan biji dalam sebuah polong (Gunawan, 2005). Biji yang dihasilkan

akan bersifat heterozigot, sehingga benih yang dihasilkan memiliki sifat yang bervariasi. Buah anggrek yang masak memiliki biji dengan jumlah yang sangat banyak hingga jutaan jumlahnya. Namun, pada biji anggrek tidak memiliki kotiledon dan endosperm (cadangan makanan), sehingga, biji anggrek tidak dapat tumbuh pada lingkungan alami yang normal. Teknik kultur jaringan dapat digunakan untuk menumbuhkan kembangkan benih anggrek *Dendrobium* (Yusnita, 2010).

2.6 Pembiakan *In Vitro* Anggrek *Dendrobium* sp.

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, organ, dan protoplasma secara *in vitro* (Arditti dan Ernst, 1993). Kultur jaringan adalah menumbuhkan-kembangkan bagian tanaman misalnya sel, jaringan, dan organ pada media kultur yang aseptik dan bebas mikroorganisme secara *in vitro* (Yusnita, 2003).

Kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan yaitu dapat memperbanyak tanaman tertentu yang sulit ataupun sangat lambat bila dikembangkan secara konvensional, teknik kultur jaringan tidak memerlukan tempat yang luas, teknik kultur jaringan dapat dilakukan sepanjang tahun, bibit yang dihasilkan sehat, dan dapat dilakukan manipulasi genetik. Namun, selain kelebihan tersebut teknik kultur jaringan mempunyai kekurangan yaitu biaya relatif tinggi, dibutuhkan keahlian khusus, dan tanaman yang dihasilkan kecil dan perlu diaklimatisasi (Yusnita, 2003). Keberhasilan kultur embrio anggrek *Dendrobium* membentuk protokrom tertinggi pada umur 75 hari setelah polinasi yaitu sebesar 100%, diikuti

setelah polinasi yaitu 65 hari sebesar 87,5% dan 60 hari setelah polinasi sebesar 69,5% (Widiastoety *et al.*, 1998).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan yaitu eksplan. Eksplan yang digunakan harus diambil dari induk pilihan dengan satu atau beberapa karakter unggul. Penggunaan eksplan yang semakin kecil ukurannya juga mempengaruhi keberhasilan perbanyakan tanaman. Pada eksplan dengan ukuran kecil tingkat keterbebasan dari kontaminasi makin besar (Yusnita, 2010). Perbanyakan kultur jaringan diusahakan menggunakan jaringan muda, karena jaringan tersebut lebih mudah berproliferasi dibandingkan jaringan yang tua (Pierik, 1997).

2.7 Media Kultur *In Vitro* Anggrek *Dendrobium* sp.

Faktor yang kedua dalam mempengaruhi keberhasilan perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan yaitu media kultur berupa media dasar (Yusnita, 2010). Pertumbuhan tanaman akan berhasil dengan baik apabila media yang digunakan sesuai dengan kebutuhan eksplan untuk beregenerasi. Sumber karbohidrat terutama gula merupakan komponen yang selalu ada dalam media tumbuh. Gula putih yang digunakan sehari-hari dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan kultur (Gunawan, 1988).

Media membutuhkan pematat untuk memadatkan media. Agar-agar yang ditambahkan ke dalam media kultur dapat digunakan untuk memadatkan media (George, 2008). Besarnya konsentrasi agar yang diberikan untuk memadatkan media ditentukan oleh bagian tanaman yang dikulturkan dengan melihat pH media dan kualitas agar (Gunawan, 1988). Kisaran pH media yang digunakan pada

ekplan anggrek *Dendrobium* berkisar 4,8 – 5,8 (Darmono, 2004). Agar-agar juga mampu memberikan ketersediaan air pada media agar terjaga kelembaban pada media kultur (Pierik, 1987).

Pertumbuhan tanaman tergantung pada pentingnya pH yang sesuai dalam ketersediaannya nutrisi. Media dengan pH yang terlalu rendah atau tinggi saat di autoklaf, semua komponen terjadi proses *hydrolyzed* dan atau *destroyed*.

Hydrolyzed pada agar terjadi karena pelepasan komponen makro, yaitu *sugars*

D- dan *L- galaktose* dimana bersifat toksik bagi tanaman secara umum, sehingga, dalam penyesuaian pH harus dilakukan secara perlahan dan hati-hati. Penggunaan pH secara umum direkomendasikan antara 4,8 – 6.0 (Arditti dan Ernst, 1992).

Komposisi medium terdiri dari zat-zat anorganik dalam bentuk garam, sumber energi dalam bentuk gula seperti sukrosa, persenyawaan organik kompleks berupa bahan-bahan alami misalnya air kelapa, bahan pematik berupa agar-agar, serta arang aktif (Darmono, 2004). Komponen media kultur yang lengkap yaitu air destilata (aquades) atau air bebas ion sebagai pelarut, hara makro berupa N, P, K, Ca, Mg, dan S dan hara mikro berupa Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, dan Co, gula, vitamin, arang aktif, zat pengatur tumbuh dan bahan pematik berupa agar-agar (Yusnita, 2003).

Pada tahun 1962 dikembangkan komposisi media MS (Murashige dan Skoog) yang sering digunakan sebagai media dasar anggrek. Penggunaan media ½ MS telah terbukti baik. Media ½ MS merupakan media dengan penggunaan garam-garam mineral sepertengahnya. Komposisi media ½ MS dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi media yang telah di modifikasi ½ MS (1962).

Komponen	Jumlah per liter media
Stok makro : 1. Amonium nitrat (NH_4NO_3) 2. Potasium nitrat (KNO_3) 3. Potassium posfat (KH_2PO_4) 4. Magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	825 mg 950 mg 85 mg 185 mg
Stok mikro A : 1. Asam Boric (H_3BO_3) 2. Magan sulfat ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 3. Zinc sulfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Stok mikro B : 1. Potasium Iodin (KI) 2. Sodium molybdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 3. Cupro Sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	6,2 mg 16,9 mg 8,6 mg 0,83 mg 0,25 mg 0,025 mg
Stok Fe 1. Ferro sulfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2. Besi-natrium (Na_2EDTA)	27,8 mg 37,3 mg
Stok CaCl_2 1. Kalsium klorida ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	220 mg
Stok myo inositol 1. Myo inositol	100 mg
Stok vitamin MS 1. Thiamin HCl 2. Pyridoxin HCl 3. Asam Nicotinic 4. Glycine	0,1 mg 0,5 mg 0,5 mg 2,0 mg

2.8 Kondisi Lingkungan Kultur

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan saat dikulturkan yaitu radiasi aktif fotosintesis (cahaya), suhu, kelembaban, gas (O_2 dan CO_2), dan kehadiran mikroorganisme seperti jamur dan bakteri (Hew dan Yong, 2008). Cahaya sangat dibutuhkan untuk mengatur proses morfogenetik tanaman dalam teknik kultur *in vitro*. Prof.

Murashige mengasumsikan bahwa lama penyinaran pada kultur jaringan merupakan pencerminan dari kebutuhan periodisitas tanaman di lapang (Yusnita, 2003).

Panjang gelombang cahaya, intensitas cahaya, dan lama penyinaran mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis serta mempengaruhi total energi yang diterima tanaman secara *in vitro* (George, 2008). Cahaya yang dibutuhkan dapat digantikan dengan menggunakan lampu fluoresens dengan kuat penerangan antara 1.000 – 10.000 lux, yang fotoperiodisitasnya biasa diatur antara penyinaran terus menerus hingga 16 jam terang atau 8 jam gelap setiap harinya (Yusnita, 2010).

Faktor lingkungan mempengaruhi pertumbuhan tanaman yang dikulturkan seperti suhu dan kelembapan (Hew dan Yong, 2008). Suhu yang umum digunakan dalam pengaturan yaitu 26 ± 2 °C untuk berbagai jenis tanaman. Namun, suhu yang lebih rendah misalnya kurang dari 20 °C dapat menghambat pertumbuhan dan suhu yang terlalu tinggi dapat membuat tanaman merana (Yusnita, 2003).

Kondisi ruang kultur dapat berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan dan proses diferensiasi tanaman dan secara tidak langsung dapat mempengaruhi pertumbuhan pada generasi tanaman berikutnya yang dikulturkan secara *in vitro* (Yusnita, 2010). Alat yang dapat digunakan untuk mempertahankan kelembaban yaitu AC (*air conditioner*). Dengan menghidupkan AC (*air conditioner*), sehingga dapat mempertahankan kelembaban relatif yang dapat menekan terjadinya kontaminasi pada tanaman yang dikulturkan.

Atmosphere sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman untuk dapat tumbuh dimana terdapat jumlah N (78%), O₂ (21%), CO₂ (0,035%), dan gas lainnya (Hew dan Yong, 2008). Oksigen juga berfungsi di dalam proses respirasi jaringan tanaman yang dikulturkan. Dengan adanya enzim peroksidase dan oksidase dapat mengkatalis terjadinya proses oksidasi pada bagian jaringan yang terluka akibat pemotongan. Keadaan ini dapat mengakibatkan terganggunya pengambilan hara, terjadi pembengkakan sel, dan parahnya terjadi pelepasan plasma dari dinding sel (Darmono, 2004). Kultur tanaman yang tertutup di dalam botol kultur menyebabkan keterbatasan dalam pertukaran CO₂, sehingga terjadinya penurunan CO₂ yang digunakan untuk fotosintesis (Hew dan Yong, 2008).

2.9 Arang Aktif

Arang aktif dapat digunakan sebagai bahan tambahan ke media pada berbagai tahapan perkembangan kultur. Penggunaan arang aktif yaitu menyerap persenyawaan toksik dan fenolik yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman (Gunawan, 1988). Senyawa fenol berwarna coklat atau hitam tersebut berasal dari hasil oksidasi. Usaha untuk menekan senyawa fenol yaitu menggunakan asam askorbat sebagai anti oksidan. Namun, cara ini kurang berhasil, cara lain yang digunakan yaitu dengan penambahan senyawa karbon aktif (Darmono, 2004).

Arang aktif itu sendiri dihasilkan dengan proses pemanasan selama beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara yang sangat panas (George, 2008). Media yang menggunakan arang aktif dapat merangsang perkecambahan dan induksi regenerasi planlet dengan menggelapkan media (Murdad *et al.*, 2010).

Penggunaan arang aktif 3 g/l dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan kultur *Cymbidium* (Kaur dan Butani, 2012).

2.10 Bahan Adenda (Bahan Tambahan)

Media kultur jaringan sering ditambahkan persenyawaan yang kompleks, yang komposisinya dapat berbeda dari sumber yang satu dengan yang lainnya.

Persenyawaan organik kompleks yang dimaksud salah satunya air kelapa (Gunawan, 1998). Senyawa organik ini digunakan untuk merangsang pembelahan sel dan mendorong proses diferensiasi. Disamping itu, senyawa organik merupakan sumber hara dan zat yang menstimulir pertumbuhan tanaman pada media kultur (Darmono, 2004).

Air kelapa juga dapat menstimulasi pertumbuhan embrio dalam kultur jaringan *in vitro* (Pierik, 1987). Kandungan zat-zat yang terdapat pada air kelapa mendorong pembelahan sel dan proses deferensiasi (Arditti dan Ernst, 1992). Pemberian air kelapa (200 ml/l) ke media tumbuh berpengaruh positif meningkatkan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium* hibrida (Ramadiana, 2009). Air kelapa mengandung asam organik, asam amino, asam nukleat, purin, gula, gula alcohol, vitamin, mineral, dan zat pengatur tumbuh (Gunawan, 1988). Komposisi air kelapa adalah sebagai bahan adenda (Tabel 2).

Tabel 2. Komponen bahan kimia yang terkandung pada air kelapa.

Bahan kimia	Komponen bahan kima
Kandungan nitrogen	Ammonium, etanol-amin, dihidroksi, fenilalanin
Asam amino	Aspartat, glutamate, serin, aspargin, glisin, threonin, β -alanin, histidin, arginin, lisin, valin, metionin, tirosin, prolin, homo-serin, fenilalanin, hidroksi prolin.
Gula	Sukrosa, glukosa, fruktosa, manitol
Gula alkohol	Surbitol, mioinositol, skiloinositol.
Vitamin	Asam nikotinat, asam pantotenat, biotin, riboflavin, asam folt, tiamin, piridoksin, asam askorbat.
Substansi pertumbuhan	Auksin, giberelin, zeatin, 1,3-dipenil urea, zeatin glukosida, zeatin ribosida, promotor pertumbuhan, sitokinin.

Sumber: George (1996)

Air kelapa dalam media kultur terbukti efektif untuk meningkatkan pengembangan kultur, karena memiliki spectrum yang luas mengenai faktor pertumbuhan dan telah berhasil digunakan dalam produksi anggrek (Pyati *et al.*, 2002 yang dikutip dalam Baque *et al.*, 2011). Air kelapa yang ditambahkan ke dalam medium berefek menguntungkan pada perkecambahan benih anggrek langka seperti *Rhynchostylis retisa* dan *Vanda coerlea* (Murdad *et al.*, 2010).

Auksin adalah fitohormone yang terdapat pada air kelapa dapat merangsang pembentukan dan inisiasi primordia akar (George dan Sherrington (1995); Wattimena (1992) yang dikutip dalam Mukarlina *et al.*, 2010). Penggunaan air kelapa dapat meningkatkan pertumbuhan daun pada bibit anggrek di kultur *in vitro*, karena air kelapa mengandung sitokinin (kinetin) (Kaur dan Bhutani, 2012).