

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1. Tanaman Anggrek *Vanda tricolor* Lindl.

2.1.1. Morfologi Tanaman

Bentuk, warna dan tekstur bunga tanaman anggrek berbeda antara satu dengan yang lainnya, tergantung pada genus dan spesies (Chan *et.al*, 1994). Anggrek *V. tricolor* Lindl. dapat berbunga sepanjang tahun, dengan satu atau dua tangkai bunga per pohonnya. Setiap tangkai muncul sampai 10 kuntum bunga. Anggrek ini oleh penduduk setempat disebut Anggrek Pandan (Sulistiyono, 2000).



Gambar 01. Bunga dan Tanaman Anggrek *Vanda tricolor*. Lindl (Watson dan Dalwitz, 1999)

Bunga anggrek *V. tricolor* mampu bertahan mekar satu minggu lebih dan berbau sangat harum. Bercak ungu pada sepal dan petalnya. Warna bibirnya (labellum) berwarna merah (Suryowinoto, 1994). Anggrek menghasilkan biji yang sangat halus (seperti debu) dan kecil, terdiri dari satu lapisan biji yang menutupi 100-200 sel embrio. Biji anggrek tidak mengandung endosperm, cadangan makanan diperoleh dari bagian yang membesar dari biji lain. Cadangan makanan

tersebut tidak memungkinkan untuk perkecambahan dan pertumbuhan biji anggrek yang bersangkutan kecuali bila diberi keadaan lingkungan yang sesuai.

Daun anggrek *V. tricolor* melekat pada batang dengan kedudukannya satu helai tiap buku dan berhadapan dengan daun pada buku berikutnya atau berpasangan, yaitu setiap buku terdapat 2 helai daun yang berhadapan. Tulang daun sejajar dengan helaian daun.

Akar anggrek epifit umumnya lunak dan mudah patah, ujungnya meruncing, licin dan sedikit lengket. Anggrek *Vanda* mempunyai banyak akar aerial yaitu akar yang keluar dari batang. Akar aerial yang masih aktif ujungnya berwarna hijau, hijau keputihan atau kuning kecoklatan (Gunawan, 1999).

2.1.2. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledonae
Ordo	: Orchidales
Familia	: Orchidaceae
Tribe	: Vandae
Genus	: <i>Vanda</i>
Species	: <i>Vanda tricolor</i> Lindl.

(Watson dan Dalwitz, 1999)

2.2. Kultur Jaringan Tanaman

Menurut Pierik (1987), kultur 'in vitro' berasal dari kata 'culture' yang berarti budidaya dan 'vitrans' berarti transparan. Jadi kultur 'in vitro' berarti menumbuhkan sel, jaringan atau organ di dalam suatu wadah kultur yang transparan (gelas) menjadi tanaman kecil yang lengkap atau plantlet di bawah kondisi lingkungan yang dapat diatur secara steril.

Kultur akan berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat-syarat tersebut meliputi beberapa hal berikut :

2.2.1. Pemilihan Eksplan

Eksplan yaitu bagian dari tanaman yang digunakan dalam kultur 'in vitro'. Menurut Gunawan (1995) umur tanaman, ukuran eksplan, dan jenis kelamin tanaman yang diambil dapat mempengaruhi keberhasilan kultur 'in vitro'. Eksplan yang baik diambil dari bagian tanaman yang masih muda karena pada bagian ini sel-selnya masih membelah dibanding pada jaringan yang lebih tua. Dalam penelitian ini eksplan yang digunakan adalah plantlet anggrek *V. tricolor* yang berumur 6 bulan dengan dua helai daun, tinggi eksplan $\pm 0,5$ cm dan panjang akar berkisar antara $\pm 0,1$ cm.

2.2.2. Media Kultur

Media yang digunakan dalam kultur 'in vitro' ada dua macam yaitu media padat dan media cair. Media cair biasanya digunakan untuk suspensi sel, sedangkan media padat digunakan untuk kultur kalus dan organ tanaman. Media pertumbuhan untuk anggrek yaitu media V&W. Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung makronutrien dan mikronutrien. Mineral

anorganik digolongkan menjadi dua yaitu makronutrien dan mikronutrien. Jenis-jenis yang termasuk unsur makro adalah N, P, K, S, Ca, dan Mg dan yang termasuk unsur mikro adalah Co, Mn, Fe, Cu, Zn, B dan Mo (George dan Sherrington, 1984). Unsur besi lebih banyak dibutuhkan daripada unsur mikro lainnya, biasanya diberikan dalam bentuk $\text{FeSO}_4\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Senyawa EDTA diberikan bersama-sama unsur Fe karena senyawa ini berfungsi sebagai 'chelating agent' yaitu dapat mencegah pembentukan dan pengendapan perihidroksi ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) yang tidak terlarut dan dapat menyebabkan defisiensi Fe (Street, 1977).

Zat-zat organik yang biasa ditambahkan kedalam medium kultur jaringan adalah sukrosa, mio-inositol, vitamin, asam amino, dan zat pengatur tumbuh. Zat organik lainnya yang biasanya ditambahkan antara lain air kelapa, ekstrak ragi, pisang.

Karbohidrat mempunyai dua fungsi utama dalam kultur 'in vitro' yaitu sebagai sumber energi dan untuk keseimbangan tekanan osmotik dalam medium. Sukrosa dibutuhkan oleh eksplan sebagai sumber karbon. Sukrosa ini dibutuhkan dalam kultur in vitro dengan kadar 2-5% (Pierik, 1987).

Asam-asam amino tertentu atau amida seperti asam aspartat, asparagin, manitol, alanin, asam glutamat, glutamin atau campuran alami misalnya hidrolisa casein dapat merangsang pertumbuhan eksplan (Staba, 1982).

Agar digunakan untuk membuat media padat atau semi padat pada kultur jaringan tanaman. Konsentrasi agar yang diberikan berkisar antara 0,6% - 1%. Konsentrasi agar yang terlalu tinggi dapat mengurangi difusi persenyawaan dari

dan ke arah eksplan sehingga pengambilan hara dan zat tumbuh berkurang (Debergh, (1982) dalam Gunawan (1991)). Konsentrasi agar yang terlalu tinggi membuat daya ikat agar terhadap air makin kuat karena agar mempunyai sifat mengikat air. Sehingga dapat menyulitkan eksplan menyerap unsur hara yang terlarut dalam medium (Pierik, 1987).

Air kelapa secara umum mengandung mineral 4 – 6 mg/ml, gula rata-rata 2% dan abu. Gula yang terdapat di dalam air kelapa adalah jenis fruktosa dan sukrosa. Kandungan gula terbanyak dicapai pada saat buah muda. Komposisi air kelapa tersaji pada tabel 01. (Soedjanto, 1984).

Tabel 01. Komposisi Air Kelapa

Komposisi	%
Bahan Padat	4,71
Gula	2,56
Abu	0,46
Minyak	0,47
Protein	0,55
Senyawa chlorida	0,17

Sumber : Sison (1977) dalam Suhardiyono (1988)

2.2.3. Zat Pengatur Tumbuh

Hormon sintetis yang ditambahkan dari luar disebut zat pengatur tumbuh (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1985). Jenis zat pengatur tumbuh

yang digunakan dalam kultur antara lain auksin, sitokinin, giberelin dan zat penghambat tumbuh (Gunawan, 1995).

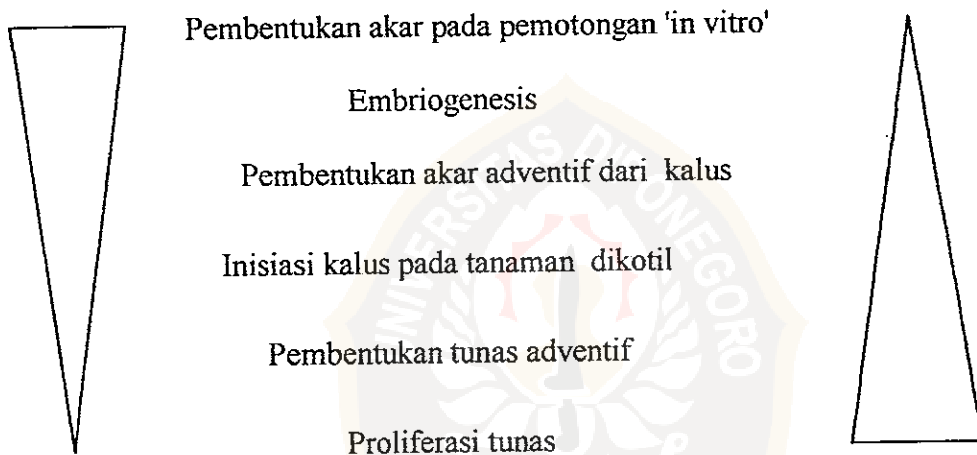
Menurut Wattimena (1988) auksin alamiah yang sering terdapat pada tumbuhan adalah IAA (*3 Indole Acetic Acid*). IAA disintesis dari triptofan pada bagian tanaman tertentu yaitu primordia daun, daun muda, dan biji yang sedang berkembang. Auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA, 2,4-D (*2,4 di-Chlorophenoxy Acetic Acid*) dan IBA (*3-Indole Butyric Acid*). Auksin berperan merangsang pembelahan sel dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan 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). IAA dalam media apabila ikut tersterilisasi dengan autoklaf akan mudah mengalami kerusakan karena sifatnya yang kurang stabil jika dibandingkan auksin sintesis seperti NAA. Menurut Pierik (1987) NAA lebih stabil dibandingkan IAA karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel. NAA juga mempunyai 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.

George dan Sherington (1984) menyebutkan bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur 'in vitro'. Sitokinin berfungsi dalam merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas. BAP adalah salah satu sitokinin sintetik yang terusun oleh

cincin purin yang merupakan sisi aktifnya. BAP mendukung metabolisme asam nukleat (DNA dan RNA) serta sintesis protein. Dalam kultur 'in vitro' penambahan sitokinin dan auksin bersama-sama di dalam media harus memperhatikan kadar dan perbandingannya. Skoog dan Miller (1975) dalam George dan Sherrington, 1984 menjelaskan pengaruh interaksi antara auksin dan sitokinin akan menentukan dalam jenis-jenis pertumbuhan eksplan seperti yang dijelaskan sebagai berikut :

Auksin
konsentrasi tinggi

Sitokinin
konsentrasi rendah



Gambar 02. Keseimbangan Auksin dan Sitokinin dalam Proses Morfogenesis (George and Sherrington, 1984)

Konsentrasi optimal NAA atau 2,4-D dalam kultur jaringan *Vanda* adalah 0,1 ppm. Kinetin yang dikombinasikan dengan NAA pada kultur *Vanda*, memperlihatkan kedua ZPT menghilangkan pengaruh satu sama lain. Kinetin 1-4 ppm meningkatkan pembentukan plb ('protocorm like bodies's'). Perkembangan tunas ruas tangkai bunga *Phalaenopsis* akan baik apabila dalam media

Knudson-C yang telah dimodifikasi diberi ZPT 1-3 ppm BAP. Sitokinin seperti BAP dipakai dalam media kultur jaringan anggrek pada konsentrasi rendah di bawah 10 ppm (Arditti dan Ernst, 1993).

2.2.4. Lingkungan tumbuh

2.2.4.1. Keasaman (pH)

Keasaman media merupakan faktor lingkungan eksplan yang sangat menentukan. Pengaturan pH dilakukan untuk pertumbuhan sel yaitu antara 5 - 6 (Katuuk, 1989). Manfaat pH dalam media adalah untuk menjaga kestabilan membran sel dalam mengatur garam-garam agar tetap dalam bentuk terlarut dan untuk membantu penyerapan zat hara (George dan Sherrington, 1984). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bila eksplan mulai tumbuh, pH dalam lingkungan kultur akan naik jika nutriennya habis terpakai. Tetapi dalam media yang mengandung kadar garam tinggi kemungkinan terjadi penyimpangan pH semakin kecil. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat yang disebut pH meter. Apabila pH terlalu tinggi dapat dilakukan penambahan HCl atau apabila terlalu rendah ditambah NaOH (0,1-1,0 M). Pierik (1987) mengatakan bahwa pH yang terlalu tinggi dapat menghentikan pertumbuhan secara 'in vitro' dan jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan IAA menjadi kurang stabil.

2.2.4.2. Kelembaban (rH)

Kelembaban atau rH lingkungan biasanya mendekati 100 %, kelembaban di sekeliling kultur akan mempengaruhi perkembangan eksplan. Apabila kelembaban ruangan rendah maka penguapan air dari media kultur akan menjadi

sangat besar sehingga kelembaban ruangan perlu dinaikkan, tetapi apabila kelembaban tinggi akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikrobia di luar wadah kultur. Bila hal ini terjadi maka spora-spora akan diterbangkan dalam ruangan kultur, sehingga meningkatkan derajat kontaminasi (Wetherell, 1982).

2.2.4.3. Cahaya

Sumber cahaya yang paling sering digunakan dalam kultur 'in vitro' adalah lampu fluoresensi yang berwarna putih. Lampu jenis ini memancarkan cahaya yang lebih merata dan suhu relatif rendah (Wheterell, 1982). Pengaruh cahaya yang dibutuhkan dalam kultur tergantung dari kualitas cahaya, dan intensitas penyinaran. Umumnya periode penyinaran yang dipakai dalam kultur 'in vitro' adalah selama 16 jam sehari (Staba, 1982).

2.2.4.4. Temperatur

Beberapa penelitian kultur 'in vitro' menyebutkan bahwa suhu konstan yang baik adalah antara 20-28°C dan yang paling sering dipakai suhu 25-27°C. Suhu optimum dapat dicapai bila digunakan lampu fluoresensi secara efisien dan ruangan yang menggunakan 'air conditioner' (Whetrell, 1982).

2.3. Pertumbuhan Tanaman

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai pertambahan secara teratur semua komponen sel hidup suatu organisme. Pertumbuhan pada tanaman meliputi proses proliferasi sel, yaitu sel mengalami pertambahan jumlah yang kemudian diikuti dengan pembesaran sel dan perkembangan yaitu diferensiasi ke arah morfogenesis organ tanaman. Jumlah sel yang semakin banyak atau volume sel

yang semakin besar membutuhkan semakin banyak bahan-bahan sel yang disintesis menggunakan substrat yang sesuai. Pertumbuhan berfungsi sebagai proses yang mengolah masukan substrat dan menghasilkan produk pertumbuhan. Pada tingkat sel, proses pertumbuhan menggunakan substrat senyawa-senyawa organik seperti asam amino dan karbohidrat untuk menghasilkan bahan-bahan sel (Sitompul dan Guritno, 1995). Menurut Salisbury dan Ross (1995) konsep pertumbuhan bersifat universal yang menyangkut semua reaksi biokimia, biofisika serta proses fisiologis yang berlangsung di dalam tubuh tanaman. Pengukuran parameter pertumbuhan bisa dilakukan dengan mengukur jumlah daun, akar, tunas, bunga dan buah. Parameter pertumbuhan yang berupa pertambahan volume atau massa yang meliputi berat basah dan berat kering merupakan parameter yang dapat diukur juga, sedangkan untuk parameter pertumbuhan yang berupa pertambahan ukuran dapat diketahui dengan mengukur tinggi tanaman, lebar daun, dan diameter batang tanaman.

2. 4. Hipotesis

Kultur 'in vitro' anggrek *V. tricolor* Lindl. dapat diperbanyak dengan metode kultur jaringan sebagai upaya konservasi untuk menjaga kelestarian anggrek *V. tricolor* yang mulai langka ditemui keberadaannya di Lereng Selatan Gunung Merapi. Penambahan ZPT NAA dan BAP pada media kultur V&W diharapkan akan memberi pengaruh terhadap pertumbuhan anggrek *V. tricolor*. Hipotesis yang bisa diambil dalam penelitian ini yaitu adanya pengaruh dan interaksi antara ZPT NAA dan BAP terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *V. tricolor* Lindl.