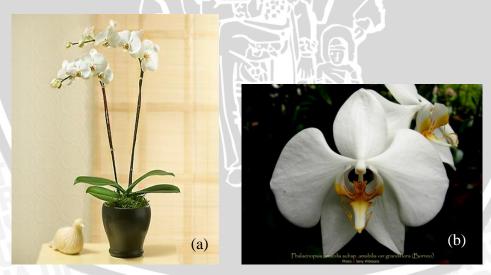
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Rukmana (2000), klasifikasi tanaman anggrek bulan sebagai berikut: divisi Spermatophyta, kelas Monocotyledonae, ordo Orchidales, famili Orchidaceae, genus Phalaenopsis, spesies *P. amabilis* L. Anggrek bulan termasuk anggrek epifit yaitu menempel pada tanaman lain tetapi tidak menimbulkan kerugian bagi tanaman inang (Sandra, 2005).

P. amabilis memiliki dua bentuk bunga yaitu, bulat (*round shape*) dan bintang (*star*) (gambar 1(b)). Morfologi bunga anggrek *P. amabilis* disajikan pada gambar 1 (b), terdiri dari kelopak bunga (sepal), mahkota bunga (petal), benang sari, putik, ovari (bakal buah) dan lidah (labelum) (Kencana, 2007). Biji anggrek tidak mempunyai endosperm, yaitu cadangan makanan seperti biji tanaman lainnya. Oleh karena itu untuk perkecambahannya diperlukan suatu media yang mengandung unsur-unsur yang diperlukan sebagai makanannya (Sandra, 2005).



Gambar 1. *P. amabilis* (a) Tanaman anggrek bulan (Anonymous, 2014), (b) bunga anggrek bulan (Wibisono, 2011)

Gambar 1 menunjukkan morfologi tanaman anggrek *P. amabilis*. Pertumbuhan batang *P. amabilis* bersifat monopodial, yaitu meninggi atau vertikal pada satu titik tumbuh dan terdiri dari hanya satu batang utama. Bunga keluar dari sisi batang di antara dua ketiak daunnya (Iswanto, 2001). Tangkai

bunga umumnya pendek, dan apabila terjadi pemanjangan internode biasanya merupakan pengecualian pertumbuhan (Christenson, 2001). Pangkal tangkai bunga biasanya beruas 3 - 5 ruas dan masing-masing ruas terdapat mata tunas yang diselubungi pelepah berukuran kecil. Setelah ruas tersebut, terdapat kuntumkuntum bunga. Terkadang pada ruas tangkai bunga muncul keiki atau tunas anakan (Djaafarer, 2002).

Daun P. amabilis berbentuk lanset atau bundar panjang sampai jorong. Panjang daun antara 20 cm − 30 cm dan lebar 3 cm − 12 cm. Daun berdaging tebal, berwarna hijau kelam, hijau muda, hijau keungu-unguan, sampai hijau kemerah-merahan (Rukmana, 2000). Tanaman anggrek memiliki tiga jenis akar yaitu akar udara, akar epifit dan akar substrat. Pada setiap tanaman memiliki satu atau dua jenis akar tersebut tergantung lingkungannya (Christenson, 2001).

2.1.2 Perbanyakan Vegetatif Anggrek Bulan

Metode perbanyakan vegetatif pada tanaman anggrek dapat dilakukan dengan setek batang, pembelahan rumpun, penggunaan pseudobulb dan keiki (anakan yang keluar dari ruas tanaman yang berada agak jauh dari pangkal tanaman atau aerial stem). Masing-masing jenis anggrek mempunyai bagian vegetatif yang cocok sebagai bahan perbanyakan (Gunawan, 1992).

Perbanyakan anggrek secara kultur jaringan dapat dilakukan melalui eksplan berupa batang bunga atau flower stalk, mata tunas, daun, akar dan meristem untuk tujuan tertentu. Beberapa macam eksplan tersebut pernah dilaporkan dalam beberapa penelitian misalnya Sinha et al. (2010), Lin (1989), Tanaka dan Sakanishi (1980), Soetopo dan Purnamaningsih (2012). Perbanyakan vegetatif anggrek melalui kultur meristem dapat dibagi dalam tiga tahap yaitu transformasi meristem menjadi *protocorm like body* (plb), perbanyakan protocorm dengan memotongnya menjadi potongan yang lebih kecil, dan perkembangan protocorm-protocorm tersebut berakar dan berpucuk (Pierik, 1987).

BRAWIJAYA

2.2 Kultur Jaringan Anggrek Bulan

Kultur jaringan tanaman adalah suatu teknik isolasi bagian tanaman seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Teknik kultur jaringan berbeda dengan teknik perbanyakan vegetatif konvensional karena teknik ini melibatkan pemisahan komponen biologis dan tingkat pengendalian yang tinggi dalam memacu proses regenerasi dan perkembangan jaringan. Setiap urutan proses dapat dimanipulasi melalui seleksi bahan tanaman, medium kultur, dan faktor lingkungan, termasuk eliminasi mikroorganisme jamur dan bakteri. Semua itu dimaksudkan untuk memaksimalkan produksi dalam bentuk kuantitas dan kualitas propagula berdasarkan prinsip totipotensi sel (Hartmann *et al.*, 1990).

Teknik kultur jaringan tanaman memiliki prospek yang baik jika dibandingkan dengan perbanyakan tanaman secara vegetatif konvensional. Keuntungan dari teknik ini adalah pertama, jutaan klon dapat dihasilkan dalam waktu setahun hanya dari sejumlah kecil material awal. Kedua, teknik ini menawarkan suatu alternatif bagi spesies yang resisten terhadap sistem perbanyakan vegetatif konvensional dengan melakukan manipulasi terhadap faktor lingkungan, termasuk penggunaan zat pengatur tumbuh. ketiga, teknik kultur jaringan tidak tergantung musim. Stok tanaman dapat segera diperbanyak pada sembarang waktu karena semua proses dilakukan di bawah kondisi lingkungan yang terkendali yaitu di laboratojum (Zulkarnain, 2009).

Keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya pemilihan eksplan, pemilihan media kultur, penambahan zat organik, penambahan zat pengatur tumbuh (auksin dan sitokinin) pada konsentrasi yang tepat dan cara pemeliharaan (Park *et al.*, 2002).

2.2.1 Eksplan

Kultur jaringan pada anggrek dapat dilakukan melalui dua cara yaitu pertama secara generatif menggunakan eksplan biji, yang kemudian dikecambahkan untuk membentuk PLB. PLB adalah tanda biji berkecambah dan berbentuk bulatan yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal

BRAWIJAYA

perkecambahan pada biji yang tidak memiliki endosperm (Bey *et al.*, 2006). Kedua secara vegetatif dimana bahan tanam berasal dari bagian vegetatif tanaman misalnya daun muda, nodus tangkai bunga dan tunas. Penelitian yang menggunakan eksplan daun muda pada Phalaenopsis adalah Ishii, (1998); Sinha *et al.* (2010) dan Rianawati *et al.* (2009) untuk nodus tangkai bunga Lin, (1989); Tokuhara dan Mii, (2001) dan eksplan tunas pada anggrek Dendrobium dilakukan oleh Soetopo dan Purnamaningsih, (2012).

Perbanyakan vegetatif secara in vitro bertujuan untuk menghasilkan PLB ataupun induksi tunas disebut dengan organogenesis. PLB juga dapat dibentuk dari eksplan bagian tanaman atau dapat disebut dengan embrio somatik (Smith, 2000 dalam Rianawati et al., 2009). Hal tersebut dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung atau kedua-duanya. Secara langsung artinya eksplan langsung membentuk PLB dan secara tidak langsung eksplan membentuk kalus terlebih dahulu kemudian membentuk PLB (Rianawati et al., 2009). Induksi tunas juga dapat dilakukan secara langsung dengan tidak melalui pembentukan kalus. Penelitian yang mendukung pernyataan tersebut adalah Kosir et al., (2004). Sedangkan induksi tunas secara tidak langsung adalah terlebih dahulu melalui tahap induksi kalus atau PLB. Penelitian yang mendukung pernyataan tersebut adalah Lin, (1986); Ishii et al., (1998); Tokuhara dan Mii, (2001); Park et al., (2002) dan lain-lain.

2.2.2 Media Dasar

Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media. Media dasar pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkan (Tuhuteru *et al.*, 2012). Di dalam media terdapat garam anorganik, zat pengatur tumbuh tanaman, vitamin, asam-asam amino dan amida, pelengkap organik kompleks, sumber karbon, osmotika, air dan matriks medium (Zulkarnain, 2009).

Penggunaan media yang tepat atau disebut sebagai *reproducable medium* penting untuk tujuan penelitian. Komposisi zat kimia dan zat tambahan dalam

BRAWIJAYA

medium yang cocok menyebabkan eksplan yang ditanam dapat mengalami organogenesis, yaitu terbentuknya tunas dan akar. Media menurut konsistensinya ada yang cair, padat, dan setengah cair. Ketiga media tersebut digunakan sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai dalam kultur jaringan (Katuuk, 1989).

Hingga saat ini terdapat beberapa jenis medium dengan komposisi berbeda yang digunakan untuk kultur jaringan anggrek Phalaenopsis yaitu: media Murashige dan Skog (MS) digunakan oleh Park *et al.* (2002), Rianawati *et al.* (2009), Sinha *et al.* (2010), media Vacin dan Went (VW) digunakan oleh Lin (1986), Ishii *et al.* (1998), Bey *et al.* (2006) Niknejad *et al.* (2011) dan media New Phalaenopsis (NP) yang diciptakan oleh Ichihashi dari Jepang digunakan oleh Islam *et al.* (1998) dan Utami *et al.* (2007).

Media VW belum mempunyai komposisi yang lengkap sehingga dibutuhkan media yang lengkap untuk menunjang pertumbuhan eksplan yang optimal. Pada tahun 2000 protokol untuk in vitro Phalaenopsis dibuat dengan menggunakan media ½ MS dan penambahan thidiazuron 0-1 mg L⁻¹ dan dichloropenoxyacetic acid (2,4D) 0-10 mg L⁻¹, sedangkan PLB yang terbentuk dari kalus tersbut hanya pada media ½ MS dengan penambahan thidiazuron sebanyak 0,1-1 mg L⁻¹ (Ying-Chun *et al.*, 2000).

Media ½ MS adalah media MS yang konsentrasi garam-garam mineral dikurangi menjadi ½ dari konsentrasi yang umum dipakai. Medium MS digunakan hampir pada semua macam tanaman terutama herbaceous. Media ini memiliki konsentrasi garam mineral yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk NO₃ dan NH₄⁺.

Media New Phalaenopsis (NP) yang diciptakan oleh Ichihashi adalah media yang diformulasikan khusus untuk kultur in vitro anggrek. Potassium nitrat, ammonium nitrat, kalsium nitrat dan magnesium nitrat berfungsi sebagai sumber nitrat. Glisine berfungsi sebagai sumber asam amino. Sukrosa berfungsi sebagai sumber karbohidrat. Media ini tidak mengandung agar, maka dari itu agar perlu ditambahkan ke media sebelum digunakan. Media NP dipasaran sudah dalam produk jadi atau dalam kemasan, untuk pembuatan 1000 ml media dasar dibutuhkan NP bubuk sebanyak 22,03 gram (Islam *et al.*, 1998). Penggunaan media NP dalam perbanyakan in vitro anggrek masih jarang digunakan, beberapa

penelitian yang menggunakan media tersebut menjelaskan bahwa media NP dapat meregenarasi PLB anggrek Phalaenopsis menjadi planlet selama 8 minggu (Islam *et al.*, 1998), Utami *et al.*, (2007) menambahkan media NP dapat digunakan untuk embriogenesis somatik anggrek bulan dengan penambahan NAA 2-4 mg L⁻¹.

2.2.3 Zat Pengatur Tumbuh

Keberhasilan metode kultur jaringan dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan fitohormon yang dihasilkan secara eksogen dimana dalam jumlah sedikit dapat merangsang dan meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu (Zulkarnain, 2009).

Zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan pada media kultur in vitro adalah ZPT golongan auksin dan sitokinin. ZPT sintetik golongan auksin seperti NAA, dan 2,4-D, NAA lebih sering digunakan karena lebih stabil dari yang lain. ZPT sintetik golongan sitokinin yang sering digunakan seperti BAP dan 2-iP (Wiendi *et al.*, 1992).

Peranan auksin dalam tumbuhan adalah merangsang pembelahan dan perbesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman, fototropisme, geotropisme, dominasi apikal. Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar, atau penambahan auksin yang lebih stabil, seperti asam 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1987).

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sama halnya dengan kinetin (Zulkarnain, 2009). Sitokinin dalam kultur jaringan digunakan untuk mendapatkan tingkat multiplikasi yang tinggi, karena sitokinin mempunyai peranan dalam pembelahan sel dan perkembangbiakan tunas aksilar. Pada umumnya sitokinin yang digunakan dalam media perbanyakan *in vitro* adalah BAP dimana salah satu zat pengatur tumbuh yang memacu pembentukan tunas dengan daya aktivitas yang kuat dan mendorong proses pembelahan sel (Wetherell, 1987).

Berdasarkan Kosir et al. (2004) penggunaan BAP 2 mg L⁻¹ dan NAA 0,5 mg L⁻¹ dapat mempercepat laju multiplikasi eksplan membentuk tunas baru. Penelitian lain menyebutkan bahwa penggunaan BAP 1 mg L⁻¹ merupakan konsentrasi terbaik bagi eksplan untuk membentuk PLB, tunas dan tinggi tunas. Tokuhara dan Masahiro (2001) juga menyatakan bahwa penggunaan BAP 4.4 µM dengan kombinasi 0,5 μM NAA (α-naphthalene acetic acid) berpengaruh signifikan terhadap regenerasi Phalaenopsis. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa BAP memberikan respon positif kepada eksplan anggrek.

