

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek merupakan tanaman hias berbunga yang bernilai ekonomi dengan berbagai ragam bentuk, warna serta aroma. Dari 20.000 spesies Anggrek di dunia (Tsai *et al*, 2008), Indonesia memiliki sekitar 5000 spesies Anggrek (Irawati, 2002). Salah satu Anggrek endemik Indonesia adalah Anggrek *Vanda tricolor*. Daerah penyebaran Anggrek *Vanda tricolor* di Indonesia adalah Jawa Timur, Jawa Barat, D.I. Yogyakarta, Bali dan Sulawesi (Gardiner, 2007). Kerusakan hutan yang disebabkan adanya bencana alam maupun ulah manusia yang menyebabkan berkurangnya spesies *Vanda tricolor* di alam. Salah satu kerusakan hutan yang terjadi pada habitat *Vanda tricolor* terjadi akibat adanya letusan gunung merapi pada Oktober 2010 yang mengakibatkan hangusnya 80% habitat dan mengancam keberadaan Anggrek *Vanda tricolor* (Metusala, 2006). Menurut Staf Pengendali Ekosistem Hutan (PEH) Widia Kirdaningsih, anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik yang berada dalam angka kepunahan (Radarjogja, 2015).

Upaya konservasi telah dilakukan oleh Badan Koordinasi Sumber Daya Alam yaitu dengan memberikan Anggrek *Vanda tricolor* kepada kelompok tani untuk dibudidayakan secara konvensional. Akan tetapi, budidaya yang dilakukan belum berhasil bahkan mengurangi jumlah Anggrek *Vanda tricolor*. Sebagai contoh, sebanyak 80 tanaman Anggrek yang diberikan, tersisa 36 tanaman setelah 1 tahun (Metusala, 2006). Kelangkaan juga terjadi disebabkan adanya pengambilan secara berlebihan (*overgathering*) yang dilakukan oleh orang yang tidak bertanggung jawab dengan tujuan koleksi maupun komersial yang dilakukan tanpa memperhatikan dampak terhadap lingkungan.

Budidaya Anggrek *Vanda tricolor* dapat dilakukan secara konvensional akan tetapi keberhasilan dalam perbanyakannya sangat sedikit. Jika terus dibiarkan maka populasi Anggrek *Vanda tricolor* ini akan semakin terancam. Perbanyakan Anggrek *Vanda tricolor* dalam kultur *in vitro* merupakan metode perbanyakan yang sangat bermanfaat bagi spesies tanaman langka untuk tujuan konservasi. Metode yang digunakan dalam perbanyakan adalah metode embriogenesis somatik.

Metode embriogenesis dipilih untuk pelestarian plasma nutfah dan mendukung program pemuliaan tanaman. Metode embriogenesis ini memiliki keunggulan yaitu mampu menghasilkan propagula dengan jumlah yang tidak terbatas dan diperoleh dalam waktu yang lebih singkat (Purnamaningsih, 2002). Selain itu, keunggulan lain yang dapat diambil dari embriogenesis somatik adalah penggunaan embrio somatik dapat mempercepat keberhasilan dengan peluang transformasi yang lebih tinggi karena embrio somatik dapat berasal dari satu sel somatik. Untuk penyimpanan jangka pendek maupun jangka panjang, embrio somatik dianggap merupakan bahan tanaman yang ideal untuk disimpan karena bila diregenerasikan dapat membentuk bibit somatik.

Faktor yang berpengaruh terhadap embrio somatik diantaranya medium dan Zat Pengatur Tumbuh. Medium yang sering digunakan untuk embriogenesis adalah New Dogashima Medium (NDM). Menurut Tokuhara & Mii (1993), NDM merupakan medium yang memiliki banyak kandungan vitamin dan bahan organik sehingga diharapkan mampu memicu embrio somatik anggrek *Vanda tricolor*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tokuhara & Mii (2001) menunjukkan perbanyakkan anggrek *Phalaenopsis* secara meriklon pada medium NDM yang mengandung NAA 0.5 μ M + BA 4.4 μ M + 29.2 mM sukrosa dapat menginduksi kalus embriogenik.

Namun demikian, NDM merupakan medium sintesis dengan harga jual yang mahal, sehingga perlu dicari alternatif medium yang lebih murah tetapi dapat mendorong embriogenesis somatik sebagaimana medium NDM. Oleh karena itu penelitian ini akan mencoba menggunakan medium alternatif sebagai sumber hara yaitu pupuk daun *Grownmore* dan pupuk organik cair *DI Grow*. Pupuk daun *Grownmore* memiliki kandungan nitrogen yang tinggi sebagai hara makro yang dibutuhkan dalam pembentukan organ-organ vegetatif. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Wangi (2009) menunjukkan bahwa penggunaan pupuk *Grownmore* dengan penambahan ekstrak pisang 0g/L dan 50g/L mampu menghasilkan kalus terhadap plantlet anggrek *Dendrobium sp.* Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2019) penggunaan pupuk *Grownmore* + 2,4-D 2,5mg/l menunjukkan hasil paling baik terhadap persentase eksplan berbakus, waktu muncul kalus dan

saat muncul pro-embrio pada eksplan anggrek *Vanda tricolor*. Pupuk organik cair (POC) *DI Grow* selain memiliki unsur hara makro dan mikro juga memiliki hormon auksin dan sitokinin sehingga baik digunakan dalam induksi embrio somatik. Selain memiliki unsur hara yang lengkap, POC juga dapat digunakan sebagai medium alternatif dengan harga terjangkau. Hasil penelitian yang dilakukan Ertikasari (2019) berhasil menginduksi embrio somatik anggrek *Vanda tricolor* dengan menggunakan medium POC *DI Grow* dikombinasikan dengan 2,4-D 1mg/l. Pada penelitian tersebut pada medium POC *DI Grow* dikombinasikan dengan 2,4-D 1mg/l memberikan pengaruh terbaik yang ditunjukkan pada waktu muncul pro-embrio yaitu pada 2,72 minggu, jumlah embrio sebanyak 2,44 pro-embrio, persentase eksplan berkalus sebesar 0,84%, waktu muncul kalus pada 30,50 hari dan diameter kalus 3,13 mm.

Selain Medium, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) juga mempengaruhi embriogenesis somatik. Prinsip keseimbangan auksin dan sitokinin dari Skoog & Miller (1975) digambarkan oleh George & Sherrington (1984) dalam Wattimena *et al.* (1992) bahwa untuk menghasilkan embriogenesis konsentrasi auksin harus lebih besar dari konsentrasi sitokinin. Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan Thidiazuron (TDZ). Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat merupakan golongan auksin yang biasa digunakan dengan konsentrasi tinggi dalam inisiasi kalus dan proses inisiasi embriogenesis somatik (Hoesen *et al.*, 2008). Penggunaan auksin perlu dikombinasikan dengan sitokinin dikarenakan penambahan auksin secara tunggal pada tahap regenerasi seringkali tidak berhasil dalam membentuk kalus embriogenik.

Thidiazuron merupakan senyawa organik yang memiliki fungsi yang sama seperti sitokinin. Thidiazuron dapat menginduksi pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel meristem sehingga terbentuk primordia tunas (George & Sherrington, 1984). Pada tahap pembentukan embrio fase globular dan hati sering digunakan zat pengatur tumbuh sitokinin seperti benzyl adenin atau yang mempunyai peran fisiologis yang sama, yaitu thidiazuron (Husni *et al.* 1997). Dalam beberapa penelitian telah membuktikan penggunaan sitokinin Thidiazuron dapat menginduksi embrio somatik. Penelitian yang dilakukan oleh Sugito, *et al.* (2006) menunjukkan

penambahan 6 ppm thidiazuron + 0,5 ppm 2,4-D pada medium MS berhasil menginduksi embrio somatik tanaman *Rauwolfia serpentina* L. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Kasi & Semiarti (2016) pada Anggrek *Phalaenopsis Sogo Vivien* perlakuan TDZ 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 1 mg/l pada medium NP + air kelapa 15% adalah perlakuan yang paling tepat untuk menginduksi embriogenesis somatik pada eksplan daun *P. "Sogo Vivien"* efisiensi pembentukan embrio somatik sebesar 5,7%, dengan jumlah tunas yang dihasilkan sebanyak 57 tunas dari bagian pangkal daun. Menurut hasil penelitian Hoesen *et al.*, (2018) pemeliharaan kalus tanaman *Dendrobium lineale* Rolfe. pada medium yang ditambah kombinasi 2,4D 0,5 mg/l dan TDZ 0,1 mg/l, pada subkultur pertama hingga subkultur ke tiga menunjukkan adanya peningkatan pembentukan kalus yang bentuk bulat dan *friable* (embriogenik). Selain penambahan Thidiazuron(TDZ), penambahan 2,4-D pada medium juga dapat menginduksi embrio somatik. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Saputra (2012) berhasil menginduksi embrio somatik pada Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L. *Blume*) dengan pemberian 2,4-D pada konsentrasi 1mg/l.

B. Perumusan Masalah

Embriogenesis somatik pada tunas *Vanda tricolor* dipengaruhi oleh medium dan kombinasi zat pengatur tumbuh. Nutrisi yang terkandung didalam medium dapat memenuhi kebutuhan eksplan sehingga dapat membantu dalam induksi embrio somatik. Medium yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan nutrisi yang berbeda-beda sehingga perlu dilakukan pengujian terhadap efektivitas medium dalam induksi embrio somatik. Selain itu, kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin perlu ditambahkan untuk membantu induksi embrio somatik tunas *Vanda tricolor*. Sehingga perlu diketahui bagaimana pengaruh jenis medium dan kombinasi ZPT dengan konsentrasi berbeda untuk embriogenesis somatik *Vanda tricolor* secara kultur *In vitro*?

C. Tujuan

Menentukan kombinasi medium dan thidiazuron terbaik untuk embriogenesis somatik *Vanda tricolor* secara kultur *in vitro*.