

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Diskripsi Umum Anggrek

Umumnya, tanaman anggrek monokotil dan tulang daun sejajar dengan helaian daun dengan bentuk daun bervariasi. *Daun* dari tipis sampai tebal berdaging (sekulen), melekat pada batang dengan kedudukan satu helai tiap buku, dan berhadapan atau berpasangan, artinya setiap buku terdapat dua helai daun yang berhadapan (Gunawan, 1986). *Batang* tunggal, pangkal batang akhirnya mati, tetapi bagian yang ke ujung (*monopodial*), biasanya dapat di-stek asal cukup panjangnya untuk menjadi tanaman baru. Tunasnya tidak langsung menjadi umbi semu, melainkan menjalar dan menjadi batang (Latief, 1960). Sedangkan *akar* anggrek menurut Gunadi (1985), menyatakan bahwa “akar anggrek menempel pada substratum (bagian media yang dipakai sebagai tempat tumbuh), tetapi apabila menempel bentuknya seperti belahan bambu dengan bagian datar melekat pada permukaan medium”.

*Bunga* berbentuk seperti tandan, tumbuh disisi samping batang, ketiak daun, menembus sarung daun, bunga besar, kadang-kadang agak kecil dan sedang, resupinat, daun kelopak dan mahkota bebas. Bibir berspora (terdapat bintik-bintik yang menyerupai spora), biasanya berbentuk kerucut tertekan, menghadap ke belakang, kerap kali sebelah dalam berambut, bertaju tiga taju samping tidak berarti, taju tengah terdiri atas dua bagian yang membulat, biasa dengan penebalan membujur. *Gynostemium* pendek, kedua sisi pangkal

membesar. Pollinium dua, beralur dalam, punya tangkai dan lempeng rekat (Soeryowinoto, 1988). Sedangkan *buah* anggrek disebut juga buah kotak. Jika telah masak, buah akan pecah menjadi enam celah (tiga buah katup kecil dan tiga buah katup lebar). Bulu-bulu halus berada diantara biji yang satu dengan biji yang lainnya, kemudian akan lepas apabila sudah masak dengan cara mendesak agar biji keluar (higroskopis). Dengan perantara angin, biji akan keluar dan mengalami penyebaran. Jumlah biji sangat banyak dan kecil, tapi hanya sedikit yang dapat tumbuh, sebagian besar lainnya akan mati (Latief, 1960).

## **2.2 Morfologi**

### **2.2.1 Morfologi Anggrek *Phalaeonopsis* sp.**

Bunga pada tanaman anggrek umumnya memiliki tiga buah sepalum atau daun kelopak bunga. Satu buah sepalum yang terletak di punggung dinamakan daun kelopak punggung atau sepalum dorsal. Dua lainnya dinamakan daun kelopak samping atau sepala literalia. Daun mahkota atau petala pada tanaman anggrek berjumlah dua. Letak antara petala yakni berseling dengan sepala, dimana di antara kedua petala itu terdapat bagian yang dinamakan petalum atau bibir bunga. Pada pusat bunga terdapat suatu alat yang berfungsi sebagai alat kelamin jantan dan betina, yang menjadi satu bagian. Alat kelamin jantan dinamakan stemona atau benang sari, sedangkan alat kelamin betina dinamakan tangkai putik atau gynosteminum.



Gambar 2.1 Struktur bunga (a). *Phalaeonopsis* sp. (var. *Marystripe*) dan (b). *Phalaeonopsis* sp. (var. *Taedasnow*) (Anonim, 2011).

### 2.2.2 Morfologi Anggrek *Dendrobium* sp.

Bunga tanaman anggrek *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile*) ini mulai muncul mencapai 7,5 cm memasuki musim semi. tanaman *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile*) dapat banyak ditemukan didaerah papua dan new guinea serta kepulauan solomon. biasanya tanaman ini dapat tumbuh pada suhu yang agak hangat dengan cahaya yang menyinari medium dan biasanya tumbuh dengan baik pada musim hujan (soeryowinoto, 1988). Dalam buku panduan “departemen pertanian republik indonesia pusat perlindungan varietas tanaman panduan pengujian individual kebaruan, keunikan, keseragaman dan kestabilan tahun terbit 2007” disebutkan bahwa struktur bunga *Dendrobium* sp. secara umum, bunga *Dendrobium* sp. memiliki struktur bunga yang panjang dan agak lancip dengan ujung bunga memuntir dan arah yang lurus, serta tegap. Warnanya beraneka ragam. Untuk anggrek *Dendrobium* sp. (var. *Spectabile*) warna daunnya merah

muda (*pink*), struktur bunga sedikit memuntir, duduk bunga seperti corong, berseling, dan hampir tumpang-tindih.



Gambar 2.2 Struktur bunga (a). *Dendrobium sp. (var. Spectabile)* dan (b). *Dendrobium sp. (var. Discolor)* (Anonim, 2011).

Sedangkan morfologi bunga *Dendrobium sp. (var. Discolor)* lebih banyak menampilkan warna coklat kemerahan, dengan struktur daun hampir seluruhnya memuntir, umumnya bunga terdiri dari 6 helai dan berwarna kuning coklat. Banyak orang yang lebih menyukai dan memesan *Dendrobium sp. (var. Discolor)* dibandingkan *Dendrobium sp. (var. Spectabile)*.

## 2.3 Klasifikasi Anggrek

### 2.3.1 Anggrek *Phalaenopsis sp.*

Kingdom Plantae

Divisi Spermatophyta

Subdivisi Angiospermae

Kelas Monocotyledonae

Ordo Orchidales

Famili Orchidaceae

Genus *Phalaenopsis*

Spesies *Phalaenopsis sp.* (Dyah, 2005).

### 2.3.2 Anggrek *Dendrobium* sp.

Kingdom Plantae

Divisi Spermathophyta

Subdivisi Angiospermae

Kelas Lilioidae

Ordo Orchidales

Famili Orchidaceae

Genus *Dendrobium*

Spesies *Dendrobium* sp. Swartz (Dyah, 2005).

## 2.4 Faktor-Faktor Yang Berperan Dalam Keberhasilan Kultur Jaringan

### 2.4.1 Pemilihan Ekplan

Pemilihan eksplan meristematik merupakan salah satu kunci keberhasilan kultur *in vitro* dengan syarat sterilitas eksplan selalu terjaga sebelum dan sesampai inokulasi serta penanaman PLB dalam media dimulai (Widiastoeti, 2001). Potongan eksplan derivat embriogenesis kalus anggrek yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan PLB *Phalaenopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. hasil pertumbuhan dari regenerasi kalus yang sudah terbentuk.

### 2.4.2 Media *Protocorm Like Body* (PLB)

Media sangat mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Umumnya, media dasar berupa unsur-unsur makro dan mikro dalam bentuk garam-garam anorganik yang sama atau sedikit mengalami modifikasi (Dyah, 2004). Media tanam harus berisi semua zat yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan eksplan. Bahan-bahan yang diramu berisi campuran garam mineral sumber unsur makro dan mikro, gula, protein, vitamin, dan hormon tumbuh. Dengan demikian keberhasilan kultur jaringan jelas ditentukan oleh media tanam dan macam-macam tanaman (Hendaryono & Wijayani, 1994).

Menurut Yusnita (2003), komponen media kultur yang lengkap adalah air destilata (akuades), hara-hara makro dan mikro, gula (umumnya sukrosa) sebagai sumber energi, vitamin, asam amino, bahan organik lain, zat pengatur tumbuh, suplemen berupa bahan-bahan alami, agar-agar atau gelrite sebagai pematat media. Menurut Hartmann & Ketsner (1983), media yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan adalah media MS (Murashige dan Skoog). Media dengan formulasi MS adalah media yang paling cocok untuk perkembangan kultur dan organogenesis (Vasil, 1985). Selain itu media ini memiliki keistimewaan, karena mengandung nitrat, kalium, dan amonianya tinggi (Wetter & Constabel, 1991).

Penggunaan media  $\frac{1}{2}$  MS dalam suatu penelitian untuk memenuhi unsur makro dan mikro tersebut dalam proses fotosintesis selama regenerasi PLB *Dendrobium* sp. dan *Phalaeonopsis* sp. menjadi *secondary embryo*. Sebagaimana yang telah dijelaskan oleh Hendaryono (2002), bahwa “masing-masing media mempunyai spesifikasi kecocokan bagi jenis tanaman”. Media tanam dalam kultur jaringan adalah tempat tumbuh untuk eksplan. Media tanam tersebut dapat berupa larutan (cair) atau padat. Adapun stok media MS (1962) sebagai berikut:

**Tabel 2.1 Komposisi media MS (1962)**

STOK	KODE UNSUR	Mg/l	STOK gr/100 cc	PIPET cc/l	PELARUT
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	8,25	20	Aquades
B	KNO <sub>3</sub>	1900	9,50	20	Aquades
C	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	0,124		NAOH
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	3,40		Aquades
	KI	0,53	0,0166	5	Aquades
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,25	0,005		Aquades
	COI <sub>2</sub>	0,025	0,0005		Aquades

<b>D</b>	CaI <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440	8,8	5	HCl
<b>E</b>	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	7,4		Aquades
	MnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	22,3	0,446		Aquades
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	5,6	0,172	5	Aquades
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	0,0005		Aquades
<b>F</b>	Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	0,746	5	NAOH
	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27,8	0,556		NAOH
<b>G</b>	Thiamine HCl	0,1	0,002	10	Aquades
	N <sub>1</sub> COHN <sub>3</sub> Acid	0,5	0,01		Aquades
	Pyrixine HCl	0,5	0,1		Aquades
	Glicine	2	0,04		Aquades
<b>H</b>	Myo-nositol	100	2	10	Aquades
	Cystein HCl	2	0,04		HCl
	Casein Hidrolisate	100	6		Aquades

Secara garis besar komponen media kultur terdiri dari bahan anorganik yang meliputi hara makro, hara mikro, bahan organik yang meliputi zat pengatur tumbuh (ZPT), karbohidrat, bahan pematid dan bahan tambahan lainnya (Wetter, 1991). Wareing dan Philips (1987) dalam Widiastoety dan Santi (1994), menyatakan bahwa sebagian besar kultur *aseptic* tidak mampu melakukan fotosintesis, sehingga diperlukan sumber karbon dalam bentuk sukrosa atau glukosa, serta hara-hara mineral, air, bahan organik, vitamin, gula, alkohol, dan hormon yang bersumber dari media MS tersebut, sehingga keseimbangan komponen yang terkandung dalam media MS menurut Widiastoety dan Syafril (1993), dapat diamati pada perubahan morfologi pertumbuhan PLB *Dendrobium* sp. dan *Phalaeonopsis* sp.

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman PLB *Dendrobium* sp. dan *Phalaeonopsis* sp. membutuhkan nutrisi dalam jumlah cukup dan seimbang antara

satu dengan yang lain. Nutrisi tersebut dapat memicu pertumbuhan menjadi lebih optimum dan menghasilkan suatu penelitian yang sesuai dengan yang diinginkan, sebagaimana beberapa komponen dasar dalam media kultur jaringan berikut ini:

**a. Aquadest**

Aquadest merupakan pelarut media yang akan digunakan sebagai media tumbuh tanaman, dan aquadest yang digunakan selama prosedur kultur in vitro hendaknya disuling dan didemineralisasi. Sangat dianjurkan menggunakan perangkat gelas untuk mendapatkan air suling. Penyulingan air adalah suatu proses yang sangat rumit, senyawa-senyawa organik dengan bobot molekul yang ringan seringkali terbawa bersama air. Perlu diperhatikan pula adanya senyawa-senyawa yang dapat meracuni kultur yang diakibatkan oleh penyimpanan air suling untuk jangka waktu lama di dalam wadah polyethylene (Zulkarnain, 2009).

**b. Air kelapa**

Penambahan air kelapa dalam media MS merupakan sebagai pelarut. Air kelapa mendorong pembentukan akar pada media MS tanpa ZPT atau yang dikombinasi dengan IAA. Air kelapa mendorong pembentukan kalus terutama yang dikombinasi dengan BAP atau BAP + IAA. Air kelapa berperan meningkatkan efisiensi penggunaan hara N terutama yang dikombinasi dengan BAP dan IAA, dan hara P yang dikombinasi dengan IAA. Air kelapa berperan meningkatkan kandungan khlorofil jaringan, menurunkan kandungan sukrosa dan pati jaringan dari kultur yang pertumbuhannya lebih serta meningkatkan tekanan osmotik dan kapasitas buffer media (Mandang, 1993).

### c. Agar

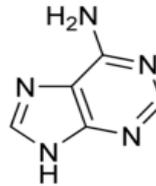
Media merupakan bahan nutrisi yang disiapkan untuk pertumbuhan mikroba. Agar-agar kompleks merupakan kompleks polisakarida, dihasilkan oleh alga laut dan digunakan untuk pemat pada makanan. Keunggulan agar yaitu mencair pada suhu yang sama dengan air, namun tetap dalam keadaan cair sampai suhu 40°C (Suryanto dan Munir, 2006).

### d. Gula

Gula pada media kultur jaringan berfungsi sebagai sumber energi yang diperlukan oleh tanaman dan sebagai penjaga keseimbangan tekanan osmotik potensial di dalam media. Sama halnya dengan gula, sukrosa juga merupakan zat organik yang sering ditambahkan pada media kultur jaringan sebagai sumber karbon yang diperlukan untuk induksi kalus (Hendryono dan Wijayani, 1994).

### 2.4.3 Hormon Tumbuh

Sitokinin adalah hormon tanam yang berkaitan dengan pertumbuhan (pembelahan sel) dan morfogenesis (diferensiasi sel) (Gunawan, 1988). Sitokinin berperan dalam merangsang pertumbuhan tunas samping (lateral), meningkatkan klorofil daun, serta memperlambat proses penuaan (senescence) pada daun, buah, dan organ-organ lainnya (Wattimena, 1988). Sitokinin sintetik yang umum digunakan dalam kegiatan kultur jaringan, salah satunya adalah: BAP atau BA (6-benzilaminopurin/benziladenin) (Santoso dan Nursandi, 2003).



Gambar 2.3 Struktur Adenin (Anonim, 2011).

Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (*6-amino purine*). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktifitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut akan meningkatkan aktifitas zat pengatur tumbuh ini.  $\text{NH}_2$   $\text{N}$   $\text{NH}$  Adenine (*6-amino purine*). Sitokinin memiliki rantai samping yang kaya akan karbon dan hidrogen, menempel pada nitrogen yang menonjol dari puncak cincin purin. ZPT yang tergolong dalam sitokinin adalah BAP atau BA. BAP memiliki rumus bangun  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_5$  dan titik lebur  $230\text{-}233^\circ\text{C}$  (Santoso dan Nursandi, 2003).

Pertumbuhan, perkembangan, dan pergerakan tumbuhan dikendalikan beberapa golongan zat yang secara umum dikenal sebagai hormon tumbuhan atau fitohormon. Fungsi beberapa hormon tumbuhan (hormon endogen, dihasilkan sendiri oleh individu yang bersangkutan) dapat diganti dengan pemberian zat-zat tertentu berupa zat pengatur tumbuh (zpt) dari luar, misalnya dengan penyemprotan (hormon eksogen, diberikan dari luar sistem individu). Hormon tumbuhan merupakan bagian dari proses regulasi genetik dan berfungsi sebagai prekursor. Bila konsentrasi hormon telah mencapai tingkat tertentu, sejumlah gen yang semula tidak aktif akan mulai ekspresi.

Abidin (1985), melaporkan bahwa “hormon adalah zat pengatur tumbuh yang terkandung dalam tanaman merupakan senyawa organik yang bukan termasuk unsur hara (*nutrisi*), dalam jumlah sedikit dapat mendukung (*promote*), menghambat (*inhibit*), dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan”. Zat pengatur tumbuh pada tanaman terdiri atas lima kelompok yaitu auxin, gibberellin, sitokinin, etilen, dan inhibitor dengan ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi.

Hormon dan zat pengatur tumbuh dalam kegiatan kultur jaringan adalah mutlak, karena kegiatan kultur jaringan umumnya menggunakan bahan tanam yang tidak lazim (sel, jaringan, atau organ) dan budidayanya adalah budidaya terkendali. Dalam kegiatannya, proses tumbuh berkembangnya ekplan dapat disesuaikan dengan harapan (Santoso, *dkk.*, 2001). Faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh antara lain jenis zat pengatur tumbuh yang akan digunakan, konsentrasi, urutan penggunaan, dan periode masa induksi dalam kultur tertentu (Gunawan, 1994).

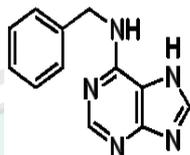
Peran hormon pada prinsipnya dapat dikelompokkan atas peran hormon pada membran, substrat, dan enzim. Beberapa pengaruh hormon menurut Santoso (2001), sebagaimana berikut ini:

1. Hormon mempengaruhi permeabilitas membran, pengaruhnya dapat meningkatkan atau menurunkan. Jika permeabilitasnya meningkat, maka akan mengakibatkan kemampuan selektifitasnya menurun, sehingga memacu masuknya ion-ion atau senyawa ke dalam sel, begitupun sebaliknya.

2. Hormon mampu menghambat atau mempercepat terbentuknya kompleks enzim-substrat, artinya hormon berperan dalam mendorong percepatan reaksi enzimatik atau menghambat.
3. Hormon dapat mempercepat penyediaan atau pembentukan: ATP, koenzim, kofaktor, dan vitamin pada reaksi enzimatik.
4. Hormon sebagai pengaktif prekursor enzim, jika pada enzim terdapat inhibitorynya.
5. Hormon sendiri berperan sebagai koenzim, sehingga enzim yang sebelumnya tidak aktif menjadi aktif berfungsi (dengan tersedianya koenzim).
6. Hormon dapat mempengaruhi langsung dalam aktivitas sintesis protein yang terjadi langsung di inti sel maupun di ribosom.

Penggunaan zat pengatur tumbuh *Benzilaminopurin* banyak digunakan karena jauh lebih murah dan tahan terhadap degradasi (Wattimena *et al.*, 1992). Contoh sampel penggunaan hormon tersebut dapat diamati dari penelitian Novita (2006) dalam Lizawati (2009), dalam inisiasi tunas jarak pagar tercepat pada perlakuan BAP 0.5 mg/l yang dikombinasikan dengan IAA 0.1 mg/l berhasil dilakukan. sitokinin sintetik lainnya adalah BAP (6-benzilaminopurin) dan 2-ip. Sitokinin mempunyai beberapa fungsi, antara lain: memacu pembelahan sel dalam jaringan meristematik, merangsang diferensiasi sel-sel yang dihasilkan dalam meristem, mendorong pertumbuhan tunas samping dan perluasan daun, menunda penuaan daun, dan merangsang pembentukan pucuk dan mampu memecah masa istirahat biji (*breaking dormancy*). Struktur bangun BAP ditunjukkan pada Gambar 2.4 Pada kultur jaringan, BAP digunakan untuk memacu pertumbuhan

tunas. Penggunaan BAP bersama dengan golongan auksin yang seimbang akan memacu pembentukan kalus (Wattimena, 1988).



Gambar 2.4 Struktur *Benzilaminopurin* (BAP) (Anonim, 2011).

Weier *et al* (1974), melaporkan bahwa “apabila dalam perbandingan sitokinin lebih besar dari auksin, maka hal ini akan memperlihatkan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun. Sebaliknya apabila sitokinin lebih rendah dari auksin, maka ini akan mengakibatkan stimulasi pada pertumbuhan akar. Sedangkan apabila perbandingan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun dan akar akan berimbang pula. Tetapi apabila konsentrasi sitokinin itu sedang dan konsentrasi auksin rendah, maka keadaan pertumbuhan *tobacco pith culture* tersebut akan berbentuk kalus.

Sedangkan dalam pembelahan sel, dikemukakan bahwa IAA dan kinetin, apabila digunakan secara tersendiri akan menstimulasi sintesis DNA dalam *tobacco pith culture*. Menurut ahli, adanya kandungan IAA dan kinetin ini diperlukan dalam proses mitosis walaupun IAA lebih dominan pada fase tersebut. Interaksi sitokinin, gibberellin dan auksin dalam perkembangan tanaman di dalam alam tidak satu unsur pun yang berdiri sendiri, sehingga semuanya berinteraksi antara satu sama lainnya (sistem) begitu pula dengan zat pengatur tumbuh (Mandang, 1993).

Prinsip dasar teknik kultur jaringan adalah “totipotensi”. Regenerasi embriogenesis eksplan dalam media botol harus memperhatikan beberapa faktor yaitu, cahaya sebagai, eksplan meristematik, komponen media, tingkat sterilitas bahan dan alat serta ruangan harus selalu terjaga, dan suhu. Berdasarkan penelitian Djenal dan Suratno (2000), dilaporkan bahwa pelaksanaan pada suhu ruang kultur 26<sup>0</sup> C, dengan lama penyinaran 13 jam sehari, intensitas cahaya 1450 lux dan 1600 lux memberikan pertumbuhan terbaik pada PLB *Dendrobium* sp. Berikut ini merupakan faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan kultur jaringan:

### 1. Suhu

Tanaman umumnya tumbuh pada lingkungan dengan suhu yang tidak sama setiap saat, misalnya pada siang dan malam hari tanaman mengalami kondisi dengan perbedaan suhu yang cukup besar. Keadaan demikian bisa dilakukan dalam kultur invitro dengan mengatur suhu siang dan malam di ruang kultur, namun laboratorium kultur jaringan selama ini mengatur suhu ruang kultur yang konstant baik pada siang maupun malam hari. Umumnya temperatur yang digunakan dalam kultur in vitro lebih tinggi dari kondisi suhu invivo. Tujuannya adalah untuk mempercepat pertumbuhan dan morfogenesis eksplan (Dyah, 2004).

Pada sebagian besar laboratorium, suhu yang digunakan adalah konstan, yaitu 25°C (kisaran suhu 17-32°C). Tanaman tropis umumnya dikulturkan pada suhu yang sedikit lebih tinggi dari tanaman empat musim, yaitu 27°C (kisaran suhu 24-32°C). Bila suhu siang dan malam diatur berbeda, maka perbedaan umumnya adalah 4-8°C, variasi yang biasa dilakukan adalah 25°C siang dan 20°C

malam, atau 28°C siang dan 24°C malam. Meskipun hampir semua tanaman dapat tumbuh pada kisaran suhu tersebut, namun kebutuhan suhu untuk masing-masing jenis tanaman umumnya berbeda-beda. Tanaman dapat tumbuh dengan baik pada suhu optimumnya. Pada suhu ruang kultur dibawah optimum, pertumbuhan eksplan lebih lambat, namun pada suhu diatas optimum pertumbuhan tanaman juga terhambat akibat tingginya laju respirasi eksplan (Dyah, 2004).

## **2. Kelembaban**

Kelembaban relatif dalam botol kultur dengan mulut botol yang ditutup umumnya cukup tinggi, yaitu berkisar antara 80-99%. Jika mulut botol ditutup agak longgar maka kelembaban relatif dalam botol kultur dapat lebih rendah dari 80%. Sedangkan kelembaban relatif di ruang kultur umumnya adalah sekitar 70%. Jika kelembaban relatif ruang kultur berada dibawah 70% maka akan mengakibatkan media dalam botol kultur (yang tidak tertutup rapat) akan cepat menguap dan kering sehingga eksplan dan plantlet yang dikulturkan akan cepat kehabisan media. Namun kelembaban udara dalam botol kultur yang terlalu tinggi menyebabkan tanaman tumbuh abnormal yaitu daun lemah, mudah patah, tanaman kecil-kecil namun terlampau sukulen. Kondisi tanaman demikian disebut vitrifikasi atau hiperhidrociti (Gunawan, 1987).

## **3. Cahaya**

Seperti halnya pertumbuhan tanaman dalam kondisi *in vivo*, kuantitas dan kualitas cahaya, yaitu intensitas, lama penyinaran dan panjang gelombang cahaya mempengaruhi pertumbuhan eksplan dalam kultur invitro. Pertumbuhan organ

atau jaringan tanaman dalam kultur invitro umumnya tidak dihambat oleh cahaya, namun pertumbuhan kalus umumnya dihambat oleh cahaya (Gunawan, 1998).

Pada perbanyakan tanaman secara *in vitro*, kultur umumnya diinkubasikan pada ruang penyimpanan dengan penyinaran. Tunas-tunas umumnya dirangsang pertumbuhannya dengan penyinaran, kecuali pada teknik perbanyakan yang diawali dengan pertumbuhan kalus. Sumber cahaya pada ruang kultur ini umumnya adalah lampu fluorescent (TL). Hal ini disebabkan karena lampu TL menghasilkan cahaya warna putih, selain itu sinar lampu TL tidak meningkatkan suhu ruang kultur secara drastis (hanya meningkat sedikit). Intensitas cahaya yang digunakan pada ruang kultur umumnya jauh lebih rendah (1/10) dari intensitas cahaya yang dibutuhkan tanaman dalam keadaan normal. Intensitas cahaya dalam ruang kultur untuk pertumbuhan tunas umumnya berkisar antara 600-1000 lux. Perkecambahan dan inisiasi akar umumnya dilakukan pada intensitas cahaya lebih rendah (Djenal, *dkk.*, 2000).

Selain intensitas cahaya, lama penyinaran atau photoperiodisitas juga mempengaruhi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan. Lama penyinaran umumnya diatur sesuai dengan kebutuhan tanaman sesuai dengan kondisi alamiahnya. Periode terang dan gelap umumnya diatur pada kisaran 8-16 jam terang dan 16-8 jam gelap tergantung varietas tanaman dan eksplan yang dikulturkan. Periode siang/malam (terang/gelap) ini diatur secara otomatis menggunakan timer yang ditempatkan pada saklar lampu pada ruang kultur. Dengan teknik ini penyinaran dapat diatur konstan sesuai kebutuhan tanaman (Djenal, 2000).

## 2.5 Berbagai Teknik Dalam Proliferasi PLB

Penggunaan berbagai teknik sangat diperlukan dalam kultur jaringan untuk mengetahui tingkat proliferasi PLB suatu sampel. Misal eksplan, perlakuan konsentrasi hormon yang digunakan, dan media yang digunakan dalam menumbuhkan eksplan (Gati, 1988). Selama ini, penggunaan media cair dapat mempengaruhi terbentuknya proliferasi jumlah PLB suatu tanaman yang memisah dari tanaman induknya dengan bantuan alat *shaker* secara *in vitro*. Fungsi alat tersebut yaitu mempermudah dalam pelepasan PLB yang terbentuk dari PLB induk, membantu dalam menyeragamkan produksi PLB, dan membantu dalam minimalisir laju tingkat kontaminasi.

Untuk penggunaan media padat, berbagai penelitian dengan menggunakan BAP dalam regenerasi secara *in vitro* telah banyak dilakukan, sebagaimana penggunaan media padat dalam laporan hasil penelitian Rianawati *et al* (2009), disebutkan bahwa pada penelitian proliferasi kalus anggrek *Vanda sp* embriogenesis berkembang dan membentuk PLB. Hasil penelitian dengan menggunakan perlakuan *Benzilaminopurin* (BAP) 0,4 mg/l pada media ½ MS padat menunjukkan adanya pengaruh terhadap pembentukan kalus dan regenerasi tanaman menjadi PLB. Selain itu, menurut hasil penelitian Ihsan, dkk. (2003), juga dilaporkan bahwa induksi kallus gandum (*Tritium aestivum L.*) secara *in vitro* dengan perlakuan BAP 4.0 mg/l dapat meningkatkan jumlah produksi PLB dan pembentukan tunas.

Dari penelitian terbentuknya kalus *Vanda sp.* dan kallus gandum menjadi PLB dengan menggunakan perlakuan zpt yang terlalu tinggi (4,0 mg/l) tersebut,

maka untuk menjaga efisiensi zpt BAP dan ekonomis yang terlalu tinggi, untuk penelitian ini dibatasi hanya dengan menggunakan zpt BAP dalam konsentrasi yang rendah, sebagaimana pertimbangan yang mengacu pada penelitian yang telah dilakukan Winarto dan Rachmawati (2007), dijelaskan tentang keberhasilan regenerasi kultur anthera *Anthurium* sp. membentuk PLB *Anthurium* sp. dapat tumbuh optimum hanya dengan perlakuan 0.2 mg/l BAP pada medium Murashige dan Miller Syngonium (MMS) padat.

Metode yang digunakan dari sekian banyak penelitian diatas, yaitu menggunakan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan tanaman berdasarkan literatur yang telah diperoleh, yaitu untuk meningkatkan jumlah pendapatan dibidang ekonomi, sebagai tanaman hias, sebagai salah satu langkah alternatif untuk produksi klon yang lebih banyak, cepat, dan seragam (Dyah, 2004). Sehingga, teknik kultur jaringan pada tanaman dapat dijadikan sebagai solusi atau langkah alternatif bagi wirausaha anggrek secara konvensional. Keuntungan kultur jaringan dibandingkan vegetatif konvensional adalah produksi banyak klon, suatu alternatif bagi jenis tanaman yang resisten dengan perlakuan manipulasi terhadap faktor-faktor lingkungan yang kemungkinan mempercepat pertukaran bahan tanaman di tingkat internasional dan tidak tergantung pada musim (Zulkarnain, 2009).

Selain itu, fungsi kultur jaringan tanaman untuk mendukung dalam pemanfaatan di bidang farmasi. Contoh jenis anggrek yang bermanfaat dalam bidang ilmu farmasi, yaitu *Vanda testacea* (Lindl) atau *Vanda parviflora*. *V. testacea* ini merupakan salah satu jenis tanaman anggrek yang epifit, kaya

alkoloid, ekstraknya dapat dibuat obat untuk mengobati rematik, bronkitis, gangguan saraf, dan inflamasi serta berpotensi sebagai antikanker, dan lain-lain (Chauhan, 1990).

Oleh karena itu, mengamati pentingnya manfaat anggrek secara umum, maka langkah awal dalam penelitian ini mencoba mengambil sampel embriogenesis *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. yang nantinya akan membentuk proliferasi *secondary embryo*. Menurut Kyte (1990) dalam Gunawan (1998), mengemukakan bahwa *secondary embryo* adalah regenerasi dari bagian tanaman (eksplan) berupa *cluster* yang diisolasi dan ditumbuhkan pada media, kemudian tanaman dipacu untuk memperbanyak menjadi tanaman lengkap, yaitu menggunakan teknik kultur jaringan dalam suatu lingkungan yang aseptik dan terkendali diluar lingkungan aslinya.

Skoog dan Miller (1962), melaporkan bahwa “regenerasi tunas dan akar *in vitro* melalui proses organogenesis atau morfogenesis kultur sel, organ, dan jaringan dikontrol secara hormonal oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin”, yaitu adanya kebergantungan hormon endogen pada hormon eksogen dan hormon eksogen yang bergantung pada media tumbuh (Wattimena, 1992; Ardiana, 2009). Penambahan hormon eksogen akan berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Gunawan, 1998). Menurut George dan Sherrington (1984), hal yang lebih menentukan arah pertumbuhan jaringan tanaman adalah keseimbangan antara kedua ZPT (auksin dan sitokinin). Jika konsentrasi auksin lebih besar

daripada sitokinin, maka kalus akan tumbuh, dan bila konsentrasi sitokinin lebih besar daripada auksin, maka tunas akan tumbuh (Gunawan, 1987).

## 2.6 Kajian Keislaman

Pada penelitian pertumbuhan PLB anggrek *Phalaeonopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. ini tidak lepas dari kuasa Allah dalam setiap perubahan pertumbuhan dan perkembangan morfologi, warna, dan persentase tumbuhnya. Allah juga menegaskan dalam sebuah ayat yang terkandung dalam surat As-syu'ara ayat 7. Ayat ini merupakan perintah Allah kepada kita agar memperhatikan dengan seksama terhadap tumbuhan yang diciptakannya, ayat tersebut berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya:

7. “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”.

Kata (إلى) pada firmanNya di atas, merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya, serta aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya (Shihab, 2002). Untuk kata (زوج) ada perbedaan pendapat makna. Yang pertama menurut Shihab (2002), mengartikan *pasangan*, dalam hal ini yang dimaksud adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul dicelah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat tersebut

mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya.

Sedangkan pendapat yang kedua menurut Al-Qurthubi (2009), mengartikan bahwa kata (زوج) adalah *warna* sedangkan kata (كريم) artinya sama menumbuhkan. Kata (كريم) ini digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang paling baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat. Mereka kaum yang kehilangan sarana berfikir, berani menentang Rasul, dan mendustakan Kitabnya, sedang Tuhannyalah yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan didalamnya tanaman dan buah-buahan dengan berbagai macam dan bentuknya (Aly, *dkk.*, 1989).

Al-Qurthubi (2009), menjelaskan bahwa Allah memperingatkan akan keagungan dan kekuasaanNya. Jika orang-orang melihat ciptaan Allah dengan hati dan mata mereka niscaya mereka mengetahui bahwa Allah adalah Dzat yang berhak untuk disembah, karena Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu.

Pada ayat yang lain, Allah juga telah menjelaskan tentang proses penciptaan tumbuh-tumbuhan yang ada di muka bumi ini sebagaimana firman Allah yang tertera dalam surat Al-An'am ayat 95 yang menunjukkan kekuasaan dan kemampuan Allah dalam menciptakan sesuatu:

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى ۖ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ ۚ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ ۗ فَآتَىٰ تُوْفِكُونَ ﴿٩٥﴾

Artinya:

95. “*Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, Maka mengapa kamu masih berpaling?*”.

Dalam ayat-ayat Al-an’am ini Allah kembali menerangkan dan menguraikan sebagian ayat-ayat penciptaan dengan jelas yang menunjukkan keesaan, kekuasaan, ilmu, dan kebijaksanaan Allah Ta’ala, kemudian menjelaskan makhluk hidup, makhluk mati, dan penciptaanNya dalam urusan tumbuh-tumbuhan. Menurut Al-Maragi (1992), kandungan ayat diatas menjelaskan bahwa “Allah menumbuhkan apa yang kita tanam, berupa benih tanaman yang dituai, dan biji buah; serta membelah dengan kekuasaan dan perhitungannya, dengan menghubungkan sebab musabab, seperti menjadikan benih dan biji dalam tanah, serta menyirami tanah dengan air”. Ayat ini menunjukkan kepada kesempurnaan kekuasaan, kehalusan buatan, dan keindahan kebijaksanaan Allah. Dia mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang tidak berbatang atau yang berbatang, sedang ia makan dan tumbuh, dari yang mati, yakni tidak makan dan tidak tumbuh, seperti tanah, biji, benih, dan lain-lain dari jenis biji-bijian. Para ahli genetika mengungkapkan bahwa “pada asal makhluk hidup ada kehidupan, setiap yang tumbuh, dari jenis biji maupun benih, mempunyai kehidupan yang tersimpan. Sebab, kalau saja ia dimandulkan dengan buatan, maka ia tidak akan tumbuh. Ia tidak menjadikan makhluk hidup, kecuali tubuh yang tumbuh dan

makan dengan sendirinya”. Martabat kehidupan ini, menurut mereka, paling rendah. Dia mengeluarkan yang mati dari yang hidup, seperti mengeluarkan biji dan benih dari tumbuh-tumbuhan, telur dan *nutfah* dari hewan. Az-Zajjaj mengatakan, Dia (Allah) mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang hijau segar dari biji yang kering, dan mengeluarkan yang kering dari tumbuh-tumbuhan yang hidup dan tumbuh.

Penafsiran yang hakiki terhadap ayat: “*Mengeluarkan yang hidup dari yang mati*” adalah sebagaimana yang tampak sekarang. Bahwa yang hidup itu, tumbuh dengan memekar, benda-benda yang mati. Itulah, Tuhan yang bersifat dengan kekuasaan dan kebijaksanaan yang sempurna adalah Allah yang menciptakan segala sesuatu, dan hanya Dia yang berhak diibadahi, tidak ada sekutu baginya. Kemudian mengapa kalian bisa dipalingkan dari ibadah kepadanya, lalu kalian mempersatukan-Nya dengan yang tidak mempunyai kekuasaan sedikitpun untuk melakukan semua itu, seperti menumbuhkan biji dan benih (Al-Maragi, 1992). Dari penjelasan ayat diatas, didukung pula dengan sebuah hadist yang pernah disebutkan Rasulullah dalam doa berikut ini:

قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: اللَّهُمَّ رَبَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ،  
وَرَبُّ كُلِّ شَيْءٍ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى (رواه مسلم).

Artinya:

“Nabi Muhammad berdoa: “Ya Allah Tuhan langit dan bumi, dan Tuhan segala sesuatu yang menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan” (HR. Muslim)”.