

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Anggrek

Allah SWT menurunkan air di muka bumi yang dahulu kering, dan Allah SWT menyuburkan tanah bumi dan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang indah, sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al-Hajj ayat 5:

وَتَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنْزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنْبَتَتْ مِنْ كُلِّ زَوْجٍ

بِهَيْجٍ

Artinya: "dan kamu lihat bumi ini kering, kemudian apabila telah Kami turunkan air di atasnya, hiduplah bumi itu dan suburlah dan menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang indah". (al-Hajj:5)

Anggrek merupakan salah satu tanaman yang mempunyai keindahan yang diciptakan oleh Allah SWT. Hal ini karena tanaman anggrek mempunyai pola pertumbuhan yang berbeda dengan tanaman hias lainnya. Pertumbuhan anggrek, baik vegetatif (pertumbuhan tunas, batang, daun, dan akar) serta pertumbuhan generatif (pertumbuhan primordial bunga, buah, dan biji) tidak hanya ditentukan oleh faktor genetik, tetapi juga oleh faktor budidaya kultur *invitro* (Widiastoety, 2007).

Anggrek alam atau anggrek hutan biasanya dikenal sebagai anggrek spesies. Anggrek-anggrek spesies ini tumbuh secara alami di tempat-tempat yang tidak dipelihara oleh manusia. Anggrek-anggrek spesies ini memegang peranan penting sebagai induk persilangan (Holtum, 1972).

Anggrek epifit adalah jenis anggrek yang menumpang pada batang atau pohon lain tetapi tidak merusak atau merugikan yang ditumpanginya. Alat yang dipakai untuk menempel adalah akarnya, sedangkan akar yang fungsinya untuk mencari makanan adalah akar udara. Salah satu jenis anggrek epifit adalah Anggrek bulan (Holtum, 1972).

Anggrek bulan termasuk dalam tanaman anggrek monopodial yang menyukai sedikit cahaya matahari sebagai penunjang hidupnya. Daunnya berwarna hijau dengan bentuk memanjang. Akar-akarnya berwarna putih dan berbentuk bulat memanjang serta terasa berdaging. Bunganya memiliki sedikit keharuman dan waktu mekar yang lama serta dapat tumbuh hingga diameter 10 cm lebih (Lisa,2011).

Phalaenopsis, genus yang pertama kali ditemukan oleh seorang ahli botani Belanda, Dr. C.L. Blume. *Phalaenopsis* sendiri sedikitnya terdiri atas 60 jenis (spesies) dengan sekitar 140 varietas, yang 60 varietas diantaranya terdapat di Indonesia, Salah satu maskot genus *Phalaenopsis* adalah *Phalaenopsis gigantea* (Holtum, 1972).

2.2 Klasifikasi *Phalaenopsis gigantea*

Berikut ini adalah Klasifikasi *Phalaenopsis gigantea* (Plantamor, 1999):

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Ordo : Orchidales

Family : Orchidaceae

Genus : *Phalaenopsis*

Spesies: *Phalaenopsis gigantea*

Al-Qur'an telah Menyebutkan bahwasanya Allah SWT. menjadikan kebun-kebun berjunjung dan tidak berjunjung, sebagaimana disebutkan dalam surat al-An'aam ayat 141 :

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

Artinya : *”dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan”.*(al-An'aam: 141).

Surat al-An'am ayat 141 menjelaskan bahwa Allah SWT yang menjadikan dari tiada kebun-kebun anggur atau lainnya yang berjunjung, yakni disanggah tiang, dan yang tidak berjunjung. Anggrek merupakan tanaman yang tidak disanggah tiang, sehingga dalam kehidupannya anggrek menumpang pada yang lain, sifat ini disebut juga dengan epifit (Shihab,1999).

2.2.1 Batang *Phalaenopsis gigantea*

Phalaenopsis gigantea merupakan anggrek epifit dengan tinggi batang 9,0 cm. Tanaman anggrek ini memiliki tipe batang sejati. Bentuk batang silindris berwarna hijau gelap dan tidak mempunyai lekukan pada batang dewasa. Selain itu tanaman ini juga tidak memiliki batang yang

tumbuh menggantung. *Phalaenopsis* adalah Anggrek tipe monopodial, pertumbuhannya lurus ke atas pada satu batang, titik tumbuh yang terdapat di ujung batang, Bunga ke luar dari sisi batang di antara dua ketiak daun (Wood, 1989).



Gambar 2.2 Akar, daun dan bunga *P.gigantea* (Elisa, 2011).

2.2.2. Daun *Phalaenopsis gigantea*

Bentuk daun bulat memanjang atau lonjong dengan ujung daun tumpul. Helaian daun memiliki upih daun membalut batang. Warna permukaan atas daun hijau gelap. Warna tepi daun yang masih muda hijau. Tekstur permukaan daun rata dan daun membentuk simetri. Titik tumbuh daun di bagian ujung batang dan berdaun tebal. Panjang daun antara 35,6-39,4 cm, sedangkan lebarnya 11,9-14,8 cm (Elisa, 2011).

2.2.3. Bunga *Phalaenopsis gigantea*

Bunga berwarna coklat muda dengan corak bunga bernoda kecil berwarna coklat tua, dan *labelum* berwarna ungu. Tipe *sepal* dan *petal* yaitu bulat telur. Bunga bertandan dengan titik tumbuh bunga menjuntai dari ketiak daun dan berbau harum. Ukuran panjang bunga 6,0 cm, lebar 6,5 cm, panjang tandan dan rangkaian bunga 30 cm (Staden, 2011).



Gambar 2.1 *Phalaenopsis gigantea* (Elisa, 2011).

2.2.4. Buah *Phalaenopsis gigantea*

Phalaenopsis gigantea memiliki buah yang berbentuk jorong bergaris-garis dengan panjang 10 cm atau lebih. Apabila buah tua dibelah, akan terlihat lapisan menyerupai kapas yang dipenuhi beribu-ribu biji anggrek Biji (O'Byrne, 2001).

2.2.5. Biji *Phalaenopsis gigantea*

Biji *Phalaenopsis gigantea* menyerupai tepung dan berwarna kekuning-kuningan atau kecoklat-coklatan. Bentuk mikroskopik biji *Phalaenopsis* menunjukkan bahwa biji berbentuk elips dengan dua ujung lancip (O'Byrne, 2001).

2.3 Kultur *Invitro*

Kultur *invitro* adalah budidaya jaringan tanaman pada media aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup sehingga menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya. Kultur *invitro* berdasarkan teori sel seperti yang ditemukan oleh Scheiden dan Schwann, yaitu

bahwa sel mempunyai kemampuan autonom dan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel, dari mana saja sel tersebut diambil, apabila diletakkan dalam lingkungan yang sesuai akan dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Balamani, 1985).

Tiga tahapan Kultur *invitro* pada anggrek (Balamani, 1985):

2.3.1 Tebar

Kegiatan tebar dilakukan sesuai dengan jenis tanaman yang dikulturkan. Setiap tanaman memiliki karakteristik dan kecepatan tumbuh yang berbeda-beda. Sehingga cara dan waktu tebar juga berbeda-beda. Tanaman yang harus segera atau relatif cepat tebar adalah jenis pisang-pisangan, alokasia, dan caladium. Tanaman yang relatif lama adalah aglaonema, pada anggrek termasuk jenis sedang. Tanaman anggrek siap tebar adalah tanaman anggrek yang telah memasuki fase pematangan benih. Benih anggrek siap tebar dipilih yang bebas dari virus, bakteri, insect atau hama lainnya. Secara morfologi ciri benih yang sehat adalah berwarna hijau dan tidak bopong (Feller, 1979).

2.3.2 Sub Kultur

Sub kultur dilakukan untuk mengganti media dan untuk penjarangan bibit anggrek. Untuk setiap subkultur, satu botol dapat dijarangkan menjadi 4-6 botol. Metode sub kultur juga diawali dengan pembuatan media. Jika embrio anggrek telah berwarna hijau dengan ukuran lebih besar dari semula, maka embrio tersebut dapat dipindah ke dalam media sub kultur yang baru sambil dijarangkan. Embrio yang telah mengalami perkembangan lebih lanjut

dengan ciri-ciri telah tumbuh tunas atau akar, maka dapat dipindah ke media baru pula. Sub kultur juga dilakukan apabila persediaan media dalam botol telah habis digunakan. Sub kultur dilakukan sekitar 3–5 kali tergantung kecepatan pertumbuhan bibit (Betchel, 1981).

Subkultur dilakukan karena beberapa alasan berikut (Ashar, 2005) :

1. Tanaman sudah memenuhi atau sudah setinggi botol
2. Tanaman sudah berada lama di dalam botol sehingga pertumbuhannya berkurang
3. Tanaman mulai kekurangan hara
4. Media dalam botol sudah mengering

Tanaman yang diperbanyak dengan multiplikasi tunas, maka subkultur dapat dilakukan dengan memisahkan anakan tanaman dari koloninya atau melakukan penjarangan. Contoh anggrek, pisang, dan tanaman lain yang satu tipe pertumbuhan dengan anggrek pisang. Tanaman yang tipe pertumbuhannya dengan pemanjangan batang maka subkultur dilakukan dengan memotong tanaman per ruas tanaman. Planlet yang masih terlalu kecil dan beresiko tinggi untuk dipotong, maka subkulturnya cukup dilakukan dengan dipisahkan dari induknya dan ditanam kembali secara terpisah. Contoh jati, krisan, dan tanaman lain yang memiliki karakteristik pertumbuhan yang sama (Feller, 1979).

2.3.3 Transplanting

Transplanting adalah perpindahan tanaman dari satu media ke media yang baru dikarenakan media lama telah habis nutrisinya. Transplanting

bertujuan untuk menumbuhkan tanaman pada media aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Chen, 1995).

2.3.4 Faktor-Faktor yang berpengaruh pada Teknik Subkultur

Berikut ini adalah yang berpengaruh pada Teknik Kultur Subkultur :

2.3.4.1 Cahaya

Cahaya matahari ditangkap daun sebagai foton. Tidak semua radiasi matahari mampu diserap tanaman, Faktor yang mempengaruhi jumlah radiasi yang sampai ke bumi: sudut datang, panjang hari, komposisi atmosfer. Cahaya yang diserap daun 1-5% untuk fotosintesis, 75-85% untuk memanaskan daun dan transpirasi. Faktor yang menentukan besarnya radiasi matahari ke bumi: 1). Sudut datang matahari (dari suatu titik tertentu di bumi) 2). Panjang hari 3). Keadaan atmosfer (kandungan debu dan uap air) (Lakitan, 2004).

Fotosintesis hanya berlangsung pada sel yang memiliki pigmen fotosintetik. Di dalam daun terdapat jaringan pagar dan jaringan bunga karang, pada keduanya mengandung kloroplast yang mengandung klorofil atau pigmen hijau yang merupakan salah satu pigmen fotosintetik yang mampu menyerap energi cahaya matahari (Subandi, 2008).

2.3.4.2 Suhu

Imran (2009) menyatakan bahwa tinggi rendahnya suhu di sekitar tanaman ditentukan oleh radiasi matahari, kerapatan tanaman, distribusi cahaya dalam tajuk tanaman, dan kandungan lengas tanah. Suhu mempengaruhi beberapa proses fisiologis penting seperti bukaan stomata, laju transpirasi, laju penyerapan air dan nutrisi, fotosintesis, dan respirasi. Peningkatan suhu sampai titik optimum akan diikuti oleh peningkatan proses di atas. Setelah melewati titik optimum, proses tersebut mulai dihambat baik secara fisik maupun kimia.

Tjasyono (2004) menyatakan bahwa hasil fotosintesis pada tanaman menjadi bahan utama dalam pertumbuhan dan produksi tanaman. Selain meningkatkan laju fotosintesis, peningkatan cahaya matahari biasanya mempercepat pertumbuhan tanaman.

2.3.4.3 Kelembaban

Kelembaban udara menggambarkan kandungan uap air di udara. Air adalah faktor yang lebih penting dalam produksi tanaman dibandingkan faktor lingkungan lainnya. Griffiths (1976) menyatakan bahwa air penting karena dapat mengangkut unsur hara dari tanah ke akar dan diteruskan ke bagian-bagian tubuh tanaman lainnya. Proses fotosintesis akan menurun jika 30% kandungan air dalam daun hilang, kemudian proses fotosintesis akan terhenti jika kehilangan air mencapai 60%.

2.3.4.4 Sumber karbon

Sumber karbon yang dianggap standart adalah sukrosa atau glukosa. Sukrosa biasanya digunakan pada konsentrasi 2-3% Sukrosa adalah disakarida yang disusun oleh unit glukosa dan fruktosa dan terbentuk hanya pada tanaman dan tidak pada hewan. Berbeda dengan maltosa dan laktosa, sukrosa tidak memiliki atom karbon anomer yang bebas, karena karbon anomer untuk kedua unit monosakarida terlibat dalam ikatan glikosida. Disakarida yang paling banyak terdapat adalah sukrosa atau gula tebu (Knudson, 1946).

2.3.4.5 Sterilitas

a. Sterilisasi media, alat-alat dan instrument

Metode rutin untuk sterilisasi media, alat-alat gelas dan instrumen adalah dengan autoclave pada tekanan 15 lbs selama 15–20 menit. Alat-alat gelas dan instrumen dapat disterilkan dengan autoclave atau pemanasan kering dalam oven pada suhu 150°C selama 2-3 jam. Untuk menghindari rekontaminasi alat-alat tersebut dapat dibungkus dulu dengan kertas aluminium atau kertas coklat atau dimasukkan dalam kotak sterilisasi sebelum diautoklaf dan tetap terbungkus sebelum alat tersebut dipergunakan. Selama digunakan instrumen sering disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam alkohol 70% dan dibakar di atas bunsen (Cullen, 1992).

b. Sterilisasi bahan tanaman

Permukaan bahan tanaman dibebaskan (disterilkan) dengan sterilisasi permukaan. Bahan yang umum digunakan untuk sterilisasi permukaan antara lain: sodium atau natrium hipoklorit. Bahan tanaman dicelup di dalam alkohol 70% untuk menghilangkan lapisan lilin sebelum dimasukkan ke dalam sterilan. Sterilan perlu ditambahkan juga beberapa tetes detergent cair seperti: teepol atau tween 20 (Iswanto, 2002).

c. Sterilisasi Enkas dan bahan-bahan lainnya

Enkas atau LAF sebelum digunakan harus disterilkan dengan menggunakan lampu UV atau disemprot dengan alkohol 70%. Diusahakan alat-alat diseksi yang akan digunakan setelah masuk ke dalam kotak aseptik tetap disterilkan dalam tabung atau botol yang selalu berisi alkohol 70%. Botol-botol atau tabung-tabung yang telah berisi medium, air steril, dan bahan-bahan atau alat-alat lainnya sebelum masuk ke dalam kotak aseptik harus disemprot dan dilap dengan alkohol 70%. Dengan demikian alat-alat gelas, alat-alat diseksi, botol-botol berisi medium dan air steril yang akan digunakan dalam pekerjaan kultur jaringan telah masuk dalam kotak aseptik dan siap untuk dipakai (Mubin, 1960).

2.3.4.6 Zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah yang relatif sedikit tergantung pada kebutuhan dan orientasi kultur termasuk pertimbangan bahan apa yang hendak dikultur (Murashige, 1962) :

a. NAA (*naphthalene acetic acid*)

NAA (*naphthalene acetic acid*) adalah istilah auksin sintesis, NAA (*naphthalene acetic acid*) adalah senyawa kimia yang memiliki fungsi utama mendorong pemanjangan kuncup yang sedang berkembang. Beberapa jenis lainnya selain NAA (*naphthalene acetic acid*) adalah MCPA (*2-methyl-4 chlorophenoxyacetic acid*) (Intan, 2008).

IBA (indole butyric acid), NAA (naphthalene acetic acid), 2,4-D (2,4 dichlorophenoxy acetic acid), dan IAA (indole acetic acid) merupakan jenis auksin yang sering dipakai dalam kultur jaringan tanaman. IBA sering dipakai untuk pengakaran tanaman karena sifatnya yang stabil dan tidak mudah rusak oleh suhu tinggi. IAA bersifat photooksidasi, mudah terurai oleh cahaya dan tidak tahan oleh suhu tinggi. 2,4-D dapat digunakan untuk pembentukan kalus tanaman, tetapi apabila dipakai secara terus menerus dapat menyebabkan mutasi (Intan, 2008).

b. TDZ (thidiazuron)

TDZ (thidiazuron) merupakan ZPT yang berperan untuk merangsang morfogenesis (inisiasi / pembentukan tunas) pada kultur jaringan, merangsang pertumbuhan kuncup lateral, merangsang perluasan daun yang dihasilkan dari pembesaran sel atau merangsang pemanjangan titik tumbuh daun dan merangsang pembentukan akar cabang, menghambat proses penuaan (Yusron, 2012).

Jenis-jenis sitokinin antara lain; BAP (6 benzyl amino purine), kinetin, 2iP (6- δ - δ dimethyl allylaminopurine), TDZ (thidiazuron), dan Zeatin. Hormon yang sering dipakai adalah BAP dan kinetin. Hormon ini

sangat stabil, dapat dipakai secara tunggal atau bersamaan sesuai dengan jenis tanaman yang akan dikultur. 2iP, TDZ dan zeatin, bersifat labil dan tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pemakaiannya dengan menggunakan filter yang dicampurkan pada media yang sudah di autoklaf di dalam laminar (Widiastoety, 1994).

c.GA

Penggunaan giberilin dalam kultur jaringan tanaman, kadang-kadang membantu morfogenesis. Tetapi dalam kultur kalus dimana pertumbuhan sudah cepat hanya dengan auksin dan sitokinin, maka penambahan giberelin sering menghambat. Pada umumnya giberelin terutama GA₃ menghambat perakaran (Dean, 2010).

Pengaruh positif giberelin ditemukan dalam kultur bit gula, dimana GA₃ merangsang pembentukan pucuk dari potongan inflorescence (Coumans et al., (1982 dalam Gunawan 1988). Pertumbuhan kultur pucuk kentang juga baik bila 0.10-0.10 mg/l GA₃ dikombinasikan dengan 0.5-5.0 mg/l kinetin (Goodwin *et al.*, (1980 dalam Gunawan 1988). Berat molekul GA₃ 346.38 (Dean, 2010).

2.4 Pupuk Majemuk

Pupuk anorganik merupakan pupuk yang dibuat di pabrik secara kimia, berbahan dasar dari mineral dan udara. Pupuk anorganik dapat dikelompokkan berdasarkan jumlah hara yang menyusunnya, yaitu pupuk tunggal dan pupuk majemuk . Pupuk tunggal merupakan pupuk yang

mengandung hanya satu unsur hara semisal urea. Sedangkan pupuk majemuk merupakan pupuk yang mengandung lebih dari satu unsur semisal mengandung unsur $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, KH_2PO_4 0.25 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025 g (Kasno, 2009).

Bety (2007) dalam penelitiannya pernah membandingkan berbagai pupuk majemuk, ia melaporkan bahwa pupuk majemuk terbaik dalam kultur anggrek genus *Vanda* adalah yang mempunyai Nitrogen tertinggi, namun penelitian tersebut tidak dilaporkan konsentrasi optimum dalam penggunaan pupuk majemuk. Penelitian terkait pengaruh konsentrasi pupuk majemuk terhadap *Phalaenopsis gigantea* belum pernah dilaporkan. Pada table dibawah ini akan disajikan komposisi berbagai media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan tanaman

Tabel 1.1 Komposisi berbagai media (mg/l) (Hidayat, 2005).

Medium Kandungan	MS	B5	WPM	VW
Nitrogen	842,5	374,6	255,6	287
Fosfor	39,3	26	39,3	57,8
Magnesium	36,50	24,66	36,50	24,66
Kalium	784,5	967	271,77	275,2
Belerang	52,45	34,16	52,26	33,48
Kalsium	119,89	40,87	230	149,46
Besi	5,58	5,58	5,58	9,33
Mangan	5,5	2,46	5,5	1,726
Boron	1,097	0,5	1,097	-
Seng	2,41	0,45	1,956	-
Tembaga	0,0063	0,0063	0,063	-
Molybdenum	0,0991	0,0991	0,0991	-

2.6 Unsur Hara Makro-Mikro dalam Subkultur

Unsur hara makro adalah unsur hara yang dibutuhkan dalam jumlah banyak oleh eksplan. Adapun macam-macam unsur hara makro adalah (Lindemann, 1970) :

2.6.1 Nitrogen (N)

Nitrogen adalah komponen penting dari asam amino, asam nukleat, nukleotida dan klorofil. Zat ini mengacu pertumbuhan (meningkatkan tinggi eksplan dan jumlah anakan). Di dalam subkultur N berfungsi meningkatkan luas daun dan meningkatkan kandungan protein (Suriadikarta, 1993)

Media kultur jaringan mengandung setidaknya minimal 25-60 mM nitrogen anorganik untuk pertumbuhan eksplan yang memadai. Sel tanaman dapat tumbuh pada nitrat, tapi akan lebih baik mengandung ammonium nitrat dan sumber nitrogen. Nitrat biasanya disertakan dalam kisaran 25-20 mM. Konsentrasi amonium tipikal berkisar antara 2 dan 20 mM, konsentrasi amonium lebih dari 8 mM dapat merugikan bagi pertumbuhan sel spesies tertentu (elfad, 2011).

Eksplan dapat tumbuh pada medium yang hanya mengandung ammonium sebagai sumber nitrogen, namun harus ada lebih dari satu siklus TCA (misalnya, sitrat, suksinat, atau malat). Ammonium nitrat dan sumber nitrogen yang digunakan bersama-sama di dalam media kultur akan dimanfaatkan lebih cepat sebelum ion nitrat (elfad, 2011).

Casein hidrolisat merupakan salah satu senyawa kompleks dengan sumber N organik yang sering digunakan dalam kultur in vitro. Peranan

utama nitrogen bagi eksplan ialah untuk merangsang pertumbuhan eksplan secara keseluruhan, khususnya batang, cabang, batang dan daun. Konsentrasi N di daun berhubungan dengan laju fotosintesis dan produksi biomassa (Dchrmann, 2000).

2.6.2 Fosfor (P)

Fungsi utama dari fosfor untuk penyimpanan dan mentransfer energi serta mempertahankan integritas membran. Di dalam subkultur N unsur P dalam eksplan dapat memicu pembentukan anakan, perkembangan akar, mempercepat pembungaan dan pemasakan. Fosfor dalam media diberikan dalam bentuk natrium hidrofosfat (NaH_2PO_4) (Katuuk, 1989).

2.6.3 Kalium (K)

Fungsi utama kalium di dalam subkultur membantu pembentukan protein dan karbohidrat. berperan memperkuat batang eksplan, akar, daun, bunga dan buah supaya tidak mudah gugur. Kalium bagi eksplan berperan untuk menghadapi cekaman kekeringan dan penyakit (Siregar, 1981).

Unsur K memperkuat dinding sel eksplan dan terlibat pada lignifikasi jaringan skelerenkim. Unsur K dapat meningkatkan ruas daun, kandungan klorofil total, dan memperlambat kematian daun sehingga dapat memberikan kontribusi pada proses fotosintesis dan pertumbuhan eksplan. Bentuk ikatan kalium yang dipakai dalam media subkultur adalah KNO_3 dan KH_2PO_4 (Gamborg and Shylluk, 1981).

2.6.4 Belerang (S)

Sulfur di dalam subkultur diserap eksplan dalam bentuk SO_4^- , Di dalam subkultur S berperan dalam pembentukan protein yang terdapat dalam bentuk; cystein, methionin serta thiamine. Belerang yang larut dalam air akan segera diserap akar eksplan, karena zat ini sangat diperlukan eksplan (terutama eksplan muda) pada pertumbuhan pemula dan perkembangannya. pada media MS Boron adalah 52,45mg/l, pada media B5 adalah 34.16mg/l dan pada media WPM adalah 52,26mg/l dan pada media VW adalah 33,48 (Rao, 1980).

2.6.5 Calcium (Ca)

Kalsium di dalam subkultur mempunyai efek penting dalam pertumbuhan dinding tanaman, selain itu untuk merangsang bulu-bulu akar, penggandaan atau perbanyak sel dan akar, pembentukan tabung polen, dinding dan membran sel lebih kuat, tahan terhadap serangan patogen, mengeraskan batang, memproduksi cadangan makanan. Biasanya calcium diberikan dalam bentuk $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ atau $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Withner, 1948).

2.6.5 Magnesium (Mg)

Magnesium (Mg), diberikan dalam bentuk $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Berfungsi untuk meningkatkan kandungan fosfat, pembentukan protein. Magnesium adalah salah satu mineral yang dibutuhkan klorofil, bila kekurangan magnesium maka warna daun berubah jadi kuning (Rao, 1980).

2.7 Unsur Mikro

Unsur hara mikro diperlukan oleh Eksplan dalam jumlah sedikit, kekurangan unsur hara mikro biasanya dapat digantikan oleh unsur-unsur hara mikro yang lainnya, sedangkan kelebihan unsur hara mikro dapat menjadi racun. Unsur mikro mempunyai peranan yang sangat penting dalam proses fisiologis. Unsur-unsur ini dapat merangsang aktivitas enzim dari berbagai reaksi biokimia di dalam Eksplan. Unsur mikro yang umum diketahui adalah Fe, B, Zn, Mo, Cu dan Cl (Mengel et al., 1982; Marschner, 1986 Salamala, 1990). Penyerapan unsur mikro (Zn dan B) membantu Eksplan kakao untuk berbunga secara optimal (Hidayat, 2005).

Mikronutrien dibutuhkan oleh semua sel Eksplan dalam jumlah kecil tetapi sama pentingnya dengan kebutuhan akan makronutrien, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Elemen ini sangat penting bagi tumbuhan tingkat tinggi. Elemen mikro ini meliputi Besi (Fe), Mangan (Mn), Zink (Zn), Boron (B), Molybdenum (Mo) (Hidayat, 2005).

2.7.1 Zink (Zn)

Menurut Leiwakabessy (1988) Suhadi (2002), aktivitas Zn dalam Eksplan berperan dalam metabolisme auksin, enzim dehidrogenase, mendorong pembentukan sitokrom dan menstabilkan fraksi ribosom (Wood dan Lass, 1985 Suhadi, 2002). Zink merupakan salah satu unsur mikro penting pada sejumlah enzim, sintesis protein, perubahan triptopan dan secara tidak langsung pada sintesis auksin (Rao, 1980).

2.7.2 Boron (B)

Boron (B) di dalam subkultur penting sebagai pengatur metabolisme karbohidrat, terutama dalam glikolisis, boron dalam subkultur berada dalam bentuk H_3BO_3 (Marschner, 1986). Boron berperan penting dalam translokasi gula. Kekurangan B pada Eksplan menyebabkan perkembangan ruas daun memendek dan daun-daun menjadi kecil, pada media MS Boron adalah 1,097mg/l, pada media B5 adalah 0,5 mg/l dan pada media WPM adalah 1,097 mg/l (Rao, 1980).

2.7.3 Mangan (Mn)

Mangan di dalam subkultur diserap Eksplan dalam bentuk Mn^{+} Mangan diperlukan oleh Eksplan untuk pembentukan zat protein dan vitamin terutama vitamin C. Selain itu, Mn penting untuk dapat mempertahankan kondisi hijau daun pada daun yang tua. Fungsi Mangan yaitu sebagai enzim feroksidase dan sebagai aktifator macam-macam enzim, pada media VW mangan 1,726 sedangkan pada MS 5,5 mg/l (Rao, 1980).

2.7.4 Copper/Cuprum/Tembaga (Cu)

Unsur tembaga di dalam subkultur diserap oleh akar Eksplan dalam bentuk Cu^{+} . Tembaga sangat diperlukan dalam pembentukan macam-macam enzim seperti berikut: Ascorbic acid oxydase Lacos, Butirid Coenzim A. Jika kekurangan Cu berkelanjutan, Eksplan akan menjadi layu dan akhirnya mati, kandungan Cu pada media MS (Murashige skoog) adalah 0.0063 mg/l, sedangkan pada media B5 adalah 0.0063 mg/l dan pada media WPM (*Wood plant medium*) adalah 0,063mg/l (Rao, 1980).