

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Orchidaceae merupakan salah satu famili tanaman hias terbesar di Indonesia. Salah satunya merupakan anggrek jenis *Dendrobium discolor*. Anggrek *D. Discolor* dikembangkan sebagai tanaman hias dengan nilai komersial yang tinggi. Selain corak bunganya yang menarik untuk dijadikan bunga potong, anggrek ini juga dijadikan sebagai indukan hibridisasi (Handini dan Aprilianti, 2020). Salah satu langkah yang paling efisien untuk memperbanyak anggrek adalah dengan Embriogenesis Somatik (ES) secara *in vitro* (Hany et al., 2023). Embriogenesis somatik merupakan suatu proses pembentukan embrio dari sel somatik untuk selanjutnya berkembang menjadi tumbuhan baru yang memiliki sifat sama dengan induknya (*true-to-type*). Induksi ES memiliki beberapa kelebihan, selain dapat menghasilkan planlet yang seragam dan sama dengan induknya, propagasi menggunakan ES juga dapat mempercepat proses pembentukan planlet pada tanaman. Melalui ES akan didapatkan embrio tanaman tanpa harus melewati tahap fusi gamet seperti pada embriogenesis zigotik.

Propagasi dengan ES dapat terjadi secara langsung (*direct* ES) dan tidak langsung (*indirect* ES). *Direct* ES ditandai dengan pembentukan embrio tanpa pembentukan kalus, sedangkan *indirect* ES harus melalui pembentukan kalus (Gomes *et al.*, 2015). Induksi ES secara *indirect* akan melalui tiga tahapan perkembangan yaitu induksi kalus, proliferasi dan regenerasi kalus. (Sasmita *et al.*, 2022). Induksi ES dapat terjadi secara *direct* dan *indirect* pada satu jenis tanaman

yang sama bergantung pada kondisi fisiologis dan beberapa faktor lingkungan pertumbuhan tertentu.

Keberhasilan setiap tahapan ES dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Auksin serta sitokinin merupakan faktor penting untuk menentukan respon embriogenik (Upendri dan Seran, 2021). Dalam penelitian Sasmita *et al.* (2022), perbanyak ES pada tahap induksi membutuhkan penambahan hormon auksin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi hormon sitokinin. Auksin berperan penting dalam menginduksi pembentukan kalus yaitu memacu proses pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan tanaman, sehingga diperlukan penggunaan auksin dengan konsentrasi yang relatif lebih tinggi (Hartati *et al.*, 2016).

Bonetti *et al.* (2016) menyatakan pada tahap induksi ES juga perlu diperhatikan pemberian jenis auksin dengan konsentrasi tertentu harus disesuaikan untuk setiap spesies atau genotip/kultivar. Auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus embriogenik adalah Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) (Pardede *et al.*, 2021). Penggunaan 2,4-D memiliki peran penting dalam induksi ES dan tahap awal perkembangan embrio somatik (Nic-Can dan Loyola-Vargas, 2016). Konsentrasi 2-3 mg/L 2,4-D dapat menginduksi ES pada anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. (Astuti *et al.*, 2019).

Induksi ES telah mengalami perkembangan dalam hal eksplan yang digunakan. Dalam penelitiannya, Stefenon *et al.* (2020) menginduksi ES dari eksplan tipis dengan ukuran 0,5-1 mm atau dikenal sebagai teknik TCL (*Thin Cell*

Layer). Teknik TCL merupakan metoda perbanyakan tanaman dengan menggunakan eksplan berukuran kecil yang berasal dari organ tanaman tertentu. Teknik ini dapat meningkatkan regenerasi pada tanaman daripada eksplan konvensional lainnya. Teknik TCL juga digunakan sebagai eksplan alternatif untuk perbanyakan beragam spesies tanaman (Teixeira da Silva dan Dobránszki, 2015).

Salah satu tanaman yang diperbanyak dengan teknik TCL adalah anggrek. Hossain *et al.* (2013) menyatakan bahwa teknik TCL dapat memperbanyak tanaman anggrek secara efisien dibandingkan dengan strategi *in vitro* biasa. Teknik TCL telah berhasil digunakan untuk memperbanyak setidaknya 24 anggrek spesies atau hibrida (Teixeira da Silva, 2013). Propagasi tanaman anggrek dengan menggunakan teknik TCL diantaranya seperti *Malaxis wallichii* (Lindl.) Deb (Bose *et al.*, 2017), *Dendrobium aqueum* Lindl. (Parthibhan *et al.*, 2018), dan *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) C.E.C. Fisch (Bhattacharyya *et al.*, 2018).

Penggunaan teknik TCL dalam menginduksi ES telah menunjukkan tingkat respon yang lebih tinggi pada kondisi *in vitro* dibandingkan dengan eksplan biasa yang lebih besar. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh area permukaan eksplan TCL lebih banyak bersentuhan dengan lingkungan sekitarnya sehingga lebih baik dalam menerima rangsangan dari media *in vitro* (Teixeira Da Silva dan Dobránszki, 2019). Induksi ES dengan teknik TCL juga lebih efektif dikarenakan TCL dapat mengisolasi sel tunggal pada tanaman sehingga memicu totipotensi tanaman, yaitu kemampuan setiap sel tanaman untuk membentuk individu baru. Keberhasilan ES dengan menggunakan TCL juga dijelaskan pada penelitian Ramírez-Mosqueda *et*

al. (2019) yang menyatakan bahwa persentase kalus embriogenik yang lebih tinggi diperoleh dengan teknik TCL.

Keberhasilan propagasi ES juga dapat dilihat dari tingkat pembentukan kalus embriogeniknya. Kalus embriogenik terdiri dari embrio somatik yang dihasilkan dari tahap proliferasi. Embrio yang terbentuk akan melalui tiga fase perkembangan yaitu fase globular, skutelar, dan koleoptilar (Sasmita *et al.*, 2022). Pada tahap ini, media proliferasi perlu dilengkapi dengan ZPT jenis auksin maupun sitokinin. Penambahan ZPT auksin maupun sitokinin pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan persentase kalus embriogenik. Sasmita *et al.* (2022) menjelaskan bahwa pemberian kombinasi ZPT sitokinin jenis Thidiazuron (TDZ) dan auksin jenis *Naphtaleine Acetic Acid* (NAA) berhasil menunjukkan persentase kalus embriogenik tertinggi. Konsentrasi TDZ yang lebih tinggi dari NAA mampu meningkatkan pembelahan sel pada kalus sehingga dapat membentuk embrio somatik. Kombinasi media $\frac{1}{2}$ Murashige dan Skoog (MS) + 0.3 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA juga memberikan persentase proliferasi kalus embriogenik terbaik pada anggrek *Dendrobium* Gradita 10 (Rachmawati *et al.*, 2014). Tahap proliferasi yang dilakukan pada media $\frac{1}{2}$ MS + 0.3 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA berhasil membentuk kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) pada fase globular, koleoptilar dan skutelar (Rachmawati *et al.*, 2020).

Setelah membentuk embrio somatik pada tahap proliferasi, ES dilanjutkan dengan tahap regenerasi. Pada perkembangannya, embrio akan membutuhkan ZPT dengan jenis dan konsentrasi tertentu untuk mendukung pertumbuhannya dalam membentuk tunas maupun akar. Kombinasi ZPT auksin dan sitokinin sering

diberikan pada tahap regenerasi. Pemberian ZPT sitokinin jenis *6-Benzyl Amino Purine* (BAP) dan auksin jenis NAA merupakan kombinasi yang tepat untuk tahap regenerasi. Pemberian BAP dan NAA dalam konsentrasi yang lebih tinggi masing-masingnya berperan khusus dalam inisiasi tunas dan akar pada embrio. Penelitian yang dilakukan Hossen *et al.* (2021) menemukan bahwa tahap regenerasi (inisiasi akar dan tunas) anggrek *Dendrobium* memberikan respon optimal pada pemberian ZPT dengan konsentrasi lebih tinggi dibanding tahap sebelumnya. Tahap regenerasi pada media MS dengan penambahan 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA dapat menghasilkan rata-rata persentase tumbuh tunas sebesar 100% pada anggrek *Vanda* (Sutriana *et al.*, 2017). Kombinasi 0,5 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA juga memberikan respon regenerasi kalus terbaik pada tanaman *Coffea liberica* (Ardiyani *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan embriogenesis somatik pada anggrek *D. discolor* dengan teknik TCL. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap, tahap pertama yaitu pemberian beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D untuk menginduksi ES anggrek *D. discolor* melalui teknik TCL dan non TCL. Setelah dua minggu kultur tanaman akan dipindahkan ke media proliferasi untuk melihat respon pertumbuhan embrio somatik. Tahap ketiga yaitu tahap regenerasi, embrio somatik yang terbentuk dipindahkan pada media regenerasi untuk melihat respon pertumbuhan akar dan tunas selama empat minggu pengamatan (Lampiran 2).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, masalah yang ingin dijawab pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D melalui teknik TCL dan non TCL pada tahap induksi ES anggrek *D. discolor* ?
2. Bagaimana pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT TDZ dan NAA pada tahap proliferasi anggrek *D. discolor* ?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT BAP dan NAA pada tahap regenerasi anggrek *D. discolor*?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis pengaruh beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D melalui teknik TCL dan non TCL pada tahap induksi ES anggrek *D. discolor*.
2. Menganalisis pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT TDZ dan NAA pada tahap proliferasi anggrek *D. discolor*.
3. Menganalisis pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT BAP dan NAA pada tahap regenerasi anggrek *D. discolor*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengisi khazanah ilmu pengetahuan pada bidang fisiologi tumbuhan khususnya kultur jaringan. Memberikan informasi mengenai efektifitas teknik TCL dalam propagasi anggrek *D. discolor* melalui embriogenesis somatik. Selain itu, dapat memberikan kontribusi dalam upaya pengelolaan dan konservasi tanaman. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi salah satu langkah prospektif dalam meningkatkan kuantitas perbanyak tanaman melalui induksi embrio somatik hingga meluas pada bidang perekonomian.