

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek termasuk kedalam famili Orchidaceae yang merupakan famili bunga yang paling besar dan secara umum digunakan sebagai bunga potong (Harahap *et al.*, 2023). Anggrek merupakan kelompok tanaman hias yang banyak diminati karena memiliki bunga indah, nilai estetika dan daya tarik yang tinggi. Keindahan anggrek pada bentuk dan warna bunga yang beragam serta menarik, waktu mekar relatif lama, serta saat bunganya mekar akan mengeluarkan aroma yang harum (Ningsih *et al.*, 2021). Salah satu genus anggrek yang cukup populer karena memiliki nilai estetika yang tinggi adalah *Cattleya*.

Anggrek *Cattleya* sering disebut sebagai *The Queen of Orchid* karena memiliki jenis, variasi bentuk, warna, dan karakter bunga yang sangat indah dan unik (Meilani *et al.*, 2017) untuk dijadikan sebagai bunga pot dan bunga potong (Harahap *et al.*, 2023). Anggrek ini memiliki potensi komersial yang sangat tinggi. Genus *Cattleya* juga memiliki ribuan hibrida yang telah dihasilkan melalui persilangan indukan dengan bentuk bunga yang menarik (Mercado and Jaimes, 2022).

Salah satu anggrek *Cattleya* hasil persilangan adalah hybrid *Cattleya* ‘Amazing Thailand’ hasil dari persilangan antara anggrek *Cattleya* ‘Haadyai Delight’ dan *Cattleya* ‘Brazilian Treasure’. Anggrek ini memiliki warna yang beragam seperti warna merah jambu dan oranye. Menurut Isda *et al.* (2014), pengembangbiakan anggrek secara alami menggunakan biji sangat sulit dilakukan karena biji anggrek tidak memiliki endosperm sebagai cadangan energi untuk

pertumbuhan embrio. Selain itu, permintaan untuk jenis anggrek ini semakin meningkat setiap tahunnya, sehingga diperlukan usaha perbanyak anggrek dalam skala besar dan waktu yang cepat. Salah satu usaha perbanyak yang paling efektif adalah melalui kultur *in vitro* (Juras *et al.*, 2019). Kelebihan teknik ini diantaranya hasil planlet yang seragam, jumlah lebih banyak dan waktu yang lebih singkat (Mehbub *et al.*, 2022).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik kultur *in vitro* seperti jenis eksplan, jenis media dan zat pengatur tumbuh. Penambahan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin ke dalam media kultur *in vitro* dilakukan untuk meningkatkan dan mempercepat pertumbuhan tanaman.

Auksin adalah hormon tanaman yang terlibat dalam berbagai mekanisme biologis seluler dasar seperti endositosis, polaritas sel, dan kontrol siklus sel seperti pemanjangan sel dan pertumbuhan diferensial, untuk fenomena makroskopik seperti embriogenesis, pola jaringan dan pembentukan organ (Sauer *et al.*, 2013). Sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang berperan dalam mengatur pembelahan sel serta mempengaruhi diferensiasi tunas dalam jaringan kalus. BAP (*Benzylaminopurin*) dan TDZ (*Thidiazuron*) merupakan sitokinin sintetik yang sering digunakan karena efektif dalam menginduksi tunas dan pembentukan daun. Semakin tinggi rasio konsentrasi sitokinin terhadap auksin, akan meningkatkan perkembangan tunas, rasio sitokinin dan auksin yang berimbang akan meningkatkan proliferasi kalus yang tidak berdiferensiasi. Rasio sitokinin yang lebih rendah terhadap auksin akan mendukung perkembangan akar. Sitokinin memainkan peran regulasi positif dalam pengembangan tunas (Murai, 2014).

Kombinasi 2,4-D dan BAP dapat meningkatkan regenerasi eksplan dan pembentukan kalus pada plantlet anggrek *Cattleya* sp. (Hariyadi, Harahap, dan Silitonga, 2023). 2,4-D berperan dalam pemanjangan sel sedangkan BAP berperan dalam pembelahan sel pada plantlet sehingga penggunaan kombinasi keduanya dapat memberikan efek maksimal pada regenerasi plantlet (Waryastuti, Setyobudi, dan Wardiyati, 2017).

Menurut Markal *et al.* (2015), jenis media kultur juga menjadi faktor penentu dalam menentukan keberhasilan perbanyakan kultur *in vitro*. Media tanam harus memiliki semua unsur yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Setiap jenis anggrek memiliki kebutuhan unsur serta komposisi media yang berbeda untuk dapat tumbuh secara maksimal. Pada penelitian yang dilakukan Nika *et al.* (2018), penggunaan media MS setengah komposisi dasar ($\frac{1}{2}$ MS + BAP 1 ppm + air kelapa 150 mg/l) memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan plantlet *Cattleya trianae* Lindl & Rchb.fil. Penambahan zat organik seperti air kelapa pada penelitian Latifah *et al.* (2017) menjadi perlakuan yang optimal untuk pertumbuhan anggrek *Cattleya* dengan konsentrasi 50 ml/l ekstrak wortel + 200 ml/l air kelapa.

Pemberian media $\frac{1}{2}$ MS yang ditambahkan air kelapa 100 mL menunjukkan persentase tumbuh tunas tertinggi yaitu 100% pada subkultur anggrek *Cymbidium* (Pratama dan Nila (2018). Media $\frac{1}{2}$ MS terbukti lebih baik dibandingkan dengan media dengan konsentrasi hara makro dan mikronya $\frac{1}{4}$ MS dan MS penuh, karena media $\frac{1}{2}$ MS juga mengandung myoinositol dalam jumlah yang cukup besar (100 mg/l) (Yusnita, 2004). Perbanyakan dengan biji menggunakan media $\frac{1}{2}$ MS,

dengan penambahan 3 mg/l BAP menghasilkan rata-rata jumlah tunas sebanyak 2,60 pada anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* (Wirmasari, 2019).

Selain penambahan ZPT, kombinasi dengan bahan organik seperti air kelapa juga mampu mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro*. Air kelapa merupakan bahan organik yang memiliki kandungan ZPT auksin dan sitokinin alami yang dapat berperan pada pembentukan tunas dan akar pada plantlet. Pemberian air kelapa 150 mL/L memberikan pertumbuhan tunas tercepat dan jumlah paling banyak pada pertumbuhan plantlet *Cattleya trianae* Lindl & Rchb.fil. (Nika *et al.*, 2018). Penambahan 150 mL/L air kelapa menunjukkan organogenesis tertinggi dari pembentukan daun, tunas, dan akar pada anggrek *Dendrobium* sp. (Nisa, Rahayu, dan Jayanti 2021). Kombinasi air kelapa dengan ZPT jenis 2,4-D dan BAP dapat memberikan kemampuan regenerasi yang maksimal pada pertumbuhan eksplan Hybrid *Cattleya* 'Amazing Thailand' secara *in vitro*.

Pemberian air kelapa 150 ml/L ditambah sukrosa 20 g/L dalam media kultur memberikan hasil yang baik terhadap *protocorm like bodies* (plbs) anggrek *Dendrobium*. Pemberian air kelapa 150 ml/L tanpa pemberian sukrosa memberikan hasil yang baik terhadap pertumbuhan anggrek *Vanda*. Pemberian air kelapa pada tingkat ketuaan, sedang dan muda dapat mendorong pertumbuhan vegetatif plantlet (Widiastoety, 2001). Menurut Sandra (2001) kandungan sukrosa dalam air kelapa yang ditambahkan sudah cukup sebagai sumber energi bagi pertumbuhan dan perkembangan jaringan yang dikulturkan, kemudian air kelapa biasanya ditambahkan ke dalam media dengan konsentrasi 2 sampai 15 % (v/v).

Biji *Cattleya* merupakan salah satu sumber keragaman genetik karena merupakan hasil persilangan yang terjadi secara alami. Hybrid *Cattleya* ‘Amazing Thailand’ merupakan anggrek hibrida hasil persilangan antara *Cattleya* ‘Haadyai Delight’ dan *Cattleya* ‘Brazilian Treasure’. Anggrek Hybrid *Cattleya* ‘Amazing Thailand’ diduga memiliki variasi keragaman genetik hasil persilangan. Salah satu cara untuk memastikan bahwa anggrek ini adalah Hybrid *Cattleya* ‘Amazing Thailand’ melalui analisis secara molekuler, salah satunya menggunakan penanda molekuler yaitu *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Metode RAPD dapat digunakan untuk menentukan keragaman genetik anggrek hasil perbanyakan secara *in vitro* (Wibawati, 2021).

RAPD merupakan salah satu penanda DNA menggunakan prinsip kerja mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang mampu mengamplifikasi sekuen DNA tertentu secara *in vitro*. Pengukuran tingkat variasi bibit yang berasal dari biji dapat diukur berdasarkan penanda morfologi dan molekuler. Teknik molekuler ini memiliki tingkat akurasi yang jauh lebih tinggi jika di bandingkan dengan teknik konvensional. Pemakaian penanda RAPD pada planlet anggrek *Gramatophyllum scriptum* yang berasal dari biji, dalam analisis RAPD menunjukkan pola pita polimorfis sebanyak 14 pita DNA, dengan ukuran berkisar 500 bp – 8000 bp. Progeni tanaman anggrek *Gramatophyllum scriptum* beragam dengan jarak genetik antara 0.000 - 0.649. Progeni yang dihasilkan anggrek *Gramatophyllum scriptum* dari kultur *in vitro* mengelompok membentuk tujuh kelompok pada koefisien dissimilarity 45% (Wibawati, 2021).

Walaupun persilangan tidak menghasilkan gen baru, namun rekombinasi genetik dari gen-gen yang dimiliki kedua tetua memungkinkan diperolehnya variasi atau kombinasi gen-gen baru, dengan analisis RAPD dapat membedakan anggrek liar, hibrida, spesies pada tiga kelompok yang berbeda (Hartati, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian menggunakan penanda RAPD untuk memastikan identitas planlet hasil semai biji secara *in vitro* merupakan hybrid Cattleya 'Amazing Thailand'. Tahap pertama penelitian ini mengamati pertumbuhan planlet Hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' melalui kultur biji pada medium $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D, BAP dan air kelapa. Tahap kedua melakukan isolasi dan amplifikasi DNA pada planlet dan induk menggunakan penanda RAPD dalam memperoleh penanda yang cocok untuk memastikan kemiripan planlet dengan induknya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh media dan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dengan penambahan air kelapa pada pertumbuhan planlet anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' melalui kultur biji?
2. Bagaimana hasil seleksi primer planlet anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' berdasarkan penanda RAPD?
3. Apakah ada planlet anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' hasil kultur *in vitro* yang mirip dengan induknya setelah di uji dengan penanda RAPD?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian yang ditetapkan adalah:

1. Mengetahui pengaruh media dan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dengan penambahan air kelapa pada pertumbuhan planlet anggrek Hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' melalui kultur biji.
2. Memperoleh primer yang cocok dengan penanda RAPD untuk melihat kemiripan planlet dengan induknya.
3. Mengetahui planlet anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' hasil kultur *in vitro* yang memiliki tingkat kemiripan tertinggi dengan induknya dengan penanda RAPD.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengisi khazanah ilmu pengetahuan pada bidang fisiologi tumbuhan khususnya kultur jaringan. Memberikan informasi tentang penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa 2,4-D, BAP dan air kelapa sebagai bahan organik untuk perbanyakan anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' melalui semai biji secara *in vitro* dalam penyediaan bibit/planlet dengan jumlah banyak dan waktu yang cepat dalam meningkatkan perekonomian pemulia anggrek. Diperoleh penanda molekuler menggunakan penanda RAPD untuk memastikan identitas dari planlet hasil perbanyakan anggrek hybrid Cattleya 'Amazing Thailand' melalui semai biji secara *in vitro* untuk mempertahankan jenisnya.