

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek merupakan salah satu kelompok tanaman hias bernilai ekonomi tinggi dengan permintaan pasar yang terus meningkat, baik di dalam negeri maupun mancanegara. Salah satu jenis anggrek yang potensial adalah *Phalaenopsis gigantea*, yang memiliki daya tarik khusus pada bentuk, warna, tekstur dan aroma bunganya (Aziz *et al.*, 2015). Namun, keistimewaan tersebut berbanding terbalik dengan keberadaannya di alam. Menurut *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES), *P. gigantea* termasuk ke dalam kategori Apendiks II. Hal ini menunjukkan bahwa anggrek ini termasuk ke dalam daftar jenis tanaman anggrek dengan ancaman kelangkaan sehingga mendapatkan prioritas konservasi berdasarkan tingkat keterancamannya di alam (CITES, 2025).

Meskipun memiliki nilai estetika dan ekonomi yang tinggi, perbanyakan *P. gigantea* secara alami maupun konvensional menghadapi kendala biologis yang signifikan. Spesies ini memiliki karakteristik pertumbuhan yang sangat lambat dengan masa vegetatif panjang, membutuhkan waktu sekitar 5-7 tahun dari tahap semai hingga berbunga pertama kali (Hinsley *et al.*, 2017). Di habitat alami, perkecambahan biji *P. gigantea* menghadapi hambatan besar karena sifat bijinya yang mikroskopis dan tidak memiliki cadangan makanan (endosperma), sehingga keberhasilannya sangat bergantung pada simbiosis jamur mikoriza yang spesifik (Rasmussen *et al.*, 2015; Bedő *et al.*, 2023). Selain itu, keterbatasan perbanyakan secara vegetatif alami melalui tunas samping (*keiki*) menjadikan populasi spesies

ini sulit bereproduksi di alam (Christenson, 2001). Dengan demikian, tindakan perbanyakan secara masif diperlukan sebagai langkah konservasi. Salah satu upaya efektif yang dapat diterapkan adalah melalui kultur *in vitro* (Rahayu *et al.*, 2021).

Teknik kultur jaringan telah banyak diterapkan sebagai solusi untuk perbanyakan anggrek secara cepat dan massal. Salah satu pendekatan kultur jaringan yang dinilai sangat potensial adalah embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik yaitu proses pembentukan embrio tanaman dari sel somatik tanpa melalui fusi gamet (Zulkarnain, 2009), yang didasari oleh prinsip totipotensi sel tanaman (Lestari, 2011). Secara fisiologis, embriogenesis somatik dipicu oleh stress eksogen terkontrol, seperti perlakuan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Mohammadi *et al.*, 2023). Induksi embriogenesis umumnya diawali dengan fase dediferensiasi, diikuti oleh fase pembentukan kalus dan inisiasi embrio (Daud *et al.*, 2018). Dibandingkan teknik mikropropagasi konvensional seperti organogenesis, embriogenesis somatik lebih efisien untuk produksi massal karena mampu menghasilkan *plantlet* dalam jumlah besar dengan waktu singkat, dapat menggunakan jaringan dewasa (*mature*), serta krusial bagi aplikasi kriopreservasi dan transformasi genetik (Méndez-Hernández *et al.*, 2019).

Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) memegang peranan penting dalam memicu dan mengatur jalannya embriogenesis somatik. Auksin sintetik 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) merupakan agen penginduksi yang paling efektif untuk inisiasi dan pembentukan struktur embrio somatik. 2,4-D bekerja dengan cara memicu ekspresi gen yang mengatur proliferasi sel serta menginduksi kondisi stres eksogen yang diperlukan untuk transisi sel somatik menjadi sel pro-embriogenik

(Raghavan, 2004). Pemberian 2,4-D pada konsentrasi yang tepat diketahui mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan memicu ekspresi gen *Morphogenesis Related* (MRG) yang berperan langsung dalam pembelahan sel aktif (Gao *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2022). Efektivitas 2,4-D dalam menginduksi ES telah terbukti pada berbagai spesies anggrek, di mana auksin ini bertindak sebagai sinyal kimia utama untuk mengaktifkan totipotensi sel pada eksplan. Noli *et al.* (2025a) menggunakan auksin 2,4-D dalam konsentrasi 2 mg/L dalam medium $\frac{1}{2}$ MS menunjukkan hasil yang optimal untuk meningkatkan induksi ES pada *Dendrobium discolor*. Penelitian lainnya mengenai protokol induksi ES pada anggrek *Vanda sumatrana* menunjukkan bahwa penggunaan media $\frac{1}{2}$ MS yang ditambahkan 3 mg/L 2,4-D mampu menghasilkan persentase ES mencapai 75% (Astuti *et al.*, 2019). Pada spesies *P. circus*, jumlah ES terbanyak diperoleh melalui pemberian 1 mg/L 2,4-D dengan rata-rata 12,3 embrio per eksplan (Kiaheirati *et al.*, 2024). Sementara itu, pada spesies *P. amabilis*, penggunaan kombinasi 1,2 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L *Naphthaleneacetic Acid* (NAA) memberikan efisiensi induksi ES sebesar 71,7% (Lo *et al.*, 2022). Pada *Dendrobium mussauense*, penambahan 2,4-D pada rentang 2 hingga 4 mg/L dilaporkan memberikan pengaruh terbaik terhadap pembentukan massa pro-embriogenik (Noli *et al.*, 2025b). Hal ini menunjukkan bahwa setiap spesies memiliki kebutuhan konsentrasi optimum dan memberikan respon yang berbeda-beda. Oleh karena itu, optimasi konsentrasi 2,4-D menjadi faktor penentu dalam keberhasilan inisiasi embriogenesis somatik pada *P. gigantea*.

Selain faktor hormonal, keberhasilan embriogenesis juga sangat dipengaruhi oleh teknik kultur jaringan yang digunakan. *Thin Cell Layer* (TCL) merupakan teknik pemotongan eksplan menjadi lapisan jaringan yang sangat tipis (1 mm) (Karami *et al.*, 2018). Teknik ini terbukti meningkatkan respons morfogenetik melalui tingginya rasio permukaan terhadap volume jaringan yang mempercepat penetrasi ZPT, oksigen, dan nutrisi ke dalam sel (Nhut *et al.*, 2006; Tan *et al.*, 2023). Penelitian Campos-Boza *et al.* (2022) pada *Bactris gasiaes* menunjukkan bahwa irisan TCL dari tunas lateral mampu menghasilkan tingkat konversi embrio menjadi planlet sebesar 60%. Penelitian lain juga menyatakan induksi ES pada *Pinus patula* Schl. dicapai oleh eksplan TCL sangatlah tinggi, yaitu mencapai 90.0% (Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019). Dengan demikian, teknik TCL mampu menginduksi embriogenesis secara lebih cepat serta efisien dibandingkan penggunaan eksplan utuh.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini akan mengkaji mengenai pengaruh beberapa konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan penerapan teknik *Thin Cell Layer* (TCL) terhadap keberhasilan induksi embriogenesis somatik pada anggrek *Phalaenopsis gigantea*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka permasalahan yang akan dikaji dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh teknik eksplan TCL dibandingkan dengan eksplan non-TCL terhadap induksi Embriogenesis Somatik pada *P. gigantea*?

2. Berapa konsentrasi 2,4-D yang optimal untuk menginduksi Embriogenesis Somatik *P. gigantea*?
3. Bagaimana interaksi antara faktor teknik eksplan (TCL/Non-TCL) dan faktor konsentrasi 2,4-D dalam menginduksi Embriogenesis Somatik *P. gigantea*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh teknik eksplan TCL dibandingkan dengan eksplan non-TCL terhadap induksi Embriogenesis Somatik pada *P. gigantea*.
2. Mengetahui konsentrasi 2,4-D terbaik untuk induksi Embriogenesis Somatik pada *P. gigantea*.
3. Mengetahui interaksi antara faktor teknik eksplan dan faktor konsentrasi 2,4-D dalam menginduksi Embriogenesis Somatik *P. gigantea*.

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah menjadi sumber referensi ilmiah mengenai interaksi antara perlakuan teknik TCL dan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap induksi embriogenesis somatik pada anggrek *P. gigantea* serta berkontribusi dalam upaya konservasi *ex situ* melalui penyediaan bibit berkualitas dalam jumlah besar, sehingga dapat menekan laju pengambilan ilegal anggrek dari habitat aslinya.