

MAKALAH PPM

MENUMBUHKAN SEMANGAT BERWIRAUSAHA DENGAN MEMANFAATKAN BIOTEKNOLOGI MELALUI PENGENALAN AKLIMATISASI ANGGREK HASIL KULTUR JARINGAN

MATERI II.

KULTUR JARINGAN ANGGREK

Oleh :

Paramita Cahyaningrum Kuswandi, M.Sc.

A. Latar Belakang

Pada tahun 1909, Bernard secara tidak sengaja menemukan adanya fungi yang penting untuk perkecambahan biji anggrek. Anggrek hidup secara simbiosis dengan fungi sejak perkecambahan. Simbiosis adalah hubungan antara fungi dan akar disebut dengan mikoriza yang berarti fungus-akar. Perkecambahan dan pertumbuhan anggrek yang masih muda sangat tergantung pada hubungan dengan fungi tersebut karena cadangan makanan yang ada pada biji anggrek sangat sedikit. Hadley (1982) menyimpulkan bahwa apa yang diperoleh anggrek dari hasil simbiosis dengan fungi tergantung pada jenis anggrek. Kemungkinan besar biji anggrek memperoleh karbohidrat dan asam amino tertentu dengan simbiosis yang dilakukan dengan fungi tertentu. Semua jenis anggrek pada awal masa pertumbuhannya dikenal bersifat heterotropik atau memerlukan pasokan dari luar (Peterson *et al.*, 1998 *cit.* Musdiawati, 2007). Akan tetapi perlu tidaknya fungi bagi anggrek sempat menjadi kontroversi ketika Knudson mengembangkan teknik asimbiotik dengan media steril dengan nutrisi yang diperlukan oleh biji anggrek.

Pada tahun 1920-an, Knudson menunjukkan bahwa perkecambahan biji anggrek dapat dilakukan dengan menanam biji anggrek pada media yang mengandung mineral dan gula sebagai sumber energi (Arditti, 2010). Penelitian yang berhasil dilakukan Knudson menunjukkan bahwa biji anggrek dapat berkecambah secara *in vitro*. Beberapa alasan untuk megecambahkan biji anggrek secara *in vitro* adalah :

1. Biji anggrek sangat kecil dan mengandung cadangan makanan yang sangat sedikit atau bahkan tidak ada. Jika dikecambahkan *in vivo* kemungkinan besar bisa hilang atau cadangan makanan tidak mencukupi

2. Perkecambahan dan perkembangan bibit sangat tergantung pada simbiosis dengan fungi. Jika ditumbuhkan tanpa fungi maka disebut perkecambahan asimbiotik.
3. Jika biji dihasilkan dari persilangan tertentu, maka perkecambahan secara *in vitro* akan meningkatkan persentase keberhasilannya.
4. Perkecambahan secara *in vitro* dapat membantu perkecambahan embrio anggrek yang belum berkembang atau belum matang sehingga memperpendek siklus pemuliaannya atau budidayanya
5. Perkecambahan dan perkembangan bibit dapat berlangsung lebih cepat dalam kondisi *in vitro* karena lingkungan yang terkendali dan tidak ada kompetisi dengan fungi atau bakteri yang tidak menguntungkan

B. Buah dan Biji Anggrek

Banyak peneliti yang melaporkan bahwa buah anggrek yang dipilih untuk dikecambahkan secara *in vitro* tidak harus yang sudah masak (berwarna kuning kecoklatan) dan sudah membuka atau pecah. Beberapa hal yang perlu diperhatikan saat pemilihan buah anggrek untuk ditanam secara *in vitro* adalah :

1. Lebih mudah untuk sterilisasi buah yang belum pecah
2. Dengan memilih buah yang belum terlalu masak, dapat dilakukan penyelamatan embrio dari hasil persilangan antar spesies atau kultivar yang berkerabat jauh
3. Mengecambahkan biji yang belum terlalu masak dapat memperpendek siklus budidaya
4. Waktu pengambilan buah yang tepat tergantung tiap spesies. Biasanya diambil saat 2/3 masak seperti diungkapkan oleh Lucke (1971) *cit.* Pierik (1987) di tabel 1. Akan tetapi lama perkecambahan tersebut dapat berubah sesuai kultivar maupun lingkungan.

Menurut Damayanti (2011), kematangan buah anggrek sangat tergantung pada jenis anggrek itu sendiri. Buah anggrek *Dendrobium* akan matang dalam umur 3-4 bulan, buah anggrek *Vanda* setelah 6-7 bulan, sedangkan buah anggrek *Cattleya* baru matang setelah 9 bulan. Buah anggrek adalah buah lentera dan akan pecah ketika matang. Bagian yang membuka adalah bagian tengahnya. Untuk kultur jaringan anggrek, pengambilan buah lebih baik sebelum buah pecah tetapi sudah mendekati masa matang sehingga biji siap untuk berkecambah.

Tabel 1. Lama waktu masak beberapa jenis buah anggrek (Pierik, 1987).

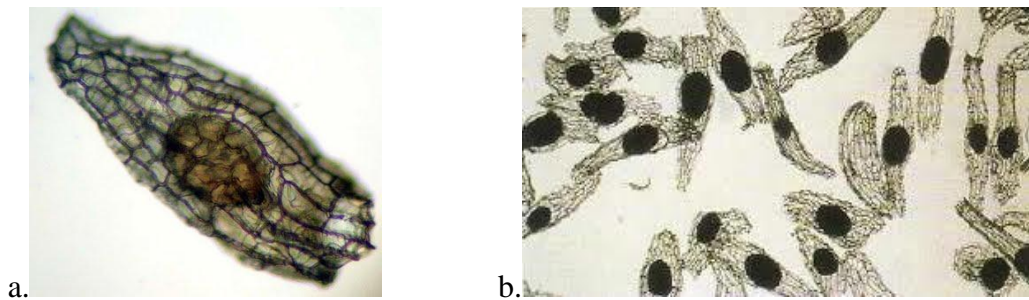
NO.	Jenis anggrek	Waktu buah masak (setelah pembuahan)
1	Calanthe	4 bulan
2	Cattleya	11 bulan
3	Coelogyne	13 bulan
4	Cymbidium	10 bulan
5	Cypripedium	3.5 bulan
6	Dendrobium	12 bulan
7	Epidendrum	3.5 bulan
8	Laelia	9 bulan
9	Milotonia	9 bulan
10	Odontoglossium	7 bulan
11	Paphiopedilum	10 bulan
12	Phalaenopsis	6 bulan
13	Stanhopea	7 bulan
14	Vanda	20 bulan



Gambar 1. Buah anggrek muda (kiri) dan buah anggrek hampir masak (kanan)
(sumber : wordpress.com dan euisnovitasari.blogspot.com)

Menurut Pierik (1987), biji anggrek sangat kecil, biasanya dengan panjang 1.0-2.0 mm dan lebar 0.5-1.0mm. Biasanya per polong atau buah terdapat 1,300-4,000,000

biji anggrek. Biji anggrek terdiri dari testa atau kulit biji yang tebal dan embrio yang terdiri dari sekitar 100 sel (gambar 1). Sedangkan menurut Mursidawati (2007), biji anggrek dikenal dengan sebutan 'dust seed' karena ukurannya sangat kecil sehingga menyerupai butiran debu. Struktur biji anggrek hanya terdiri dari 4-200 sel saja sehingga kapasitasnya untuk membawa cadangan makanan menjadi sangat terbatas.



Gambar 2. Biji anggrek

(sumber : a. www.beyondthehumaneye.blogspot dan b. sukasuka.blogspot.com)

Kulit biji mempunyai sifat yang spesifik yaitu bentuk seperti jaring dengan bentuk yang khas untuk tiap spesies anggrek. Testanya adalah jaringan yang sudah mati dan terdiri dari banyak ruang kosong atau udara sebanyak 96%, sehingga biji anggrek dapat dikatakan seperti suatu balon udara. Embrio anggrek berbentuk bulat atau lonjong. Biji anggrek biasanya tidak bisa dibedakan bagian-bagiannya seperti biji tanaman lain, yaitu tanpa kotiledon, tanpa akar dan tanpa endosperm. Pada ujung distal biasanya terdapat titik tumbuh tetapi sulit untuk diamati.

C. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu metode yang sudah dikenal cukup lama. Pelaksanaan teknik kultur jaringan ini berdasarkan atas teori sel seperti yang dikemukakan oleh Schleiden dan Scwann, yaitu sel mempunyai kemampuan autonomi, bahkan mempunyai kemampuan totipotensi. Kemampuan totipotensi adalah kemampuan tiap sel untuk tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila diletakkan di lingkungan yang sesuai (Suryowinoto, 1991 *cit.* Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

Metode kultur *in vitro*, atau kultur jaringan, telah banyak berkembang dari percobaan yang dilakukan Kotte pada tahun 1923 dengan kacang kapri dan jagung. Berbagai spesies telah dicoba dan dengan perkembangan pengetahuan mengenai zat pengatur tumbuh yang dapat membantu menemukan metode kultur yang lebih baik, maka kultur *in vitro* telah berkembang pesat menjadi metode alternatif untuk produksi tanaman secara vegetatif maupun metode penelitian dalam berbagai ilmu yang lain (Mantell *et al.* 1985). Pemilihan eksplan yang tepat, merupakan tahap pertama dalam tiga tahap yang dilakukan dalam kultur jaringan. Eksplan tersebut harus disterilisasi dan kemudian baru dapat ditanam pada media. Tahap kedua adalah perbanyak tunas pada media dan tahap ketiga adalah pemindahan ke media pengakaran yang kemudian dilanjutkan dengan aklimatisasi atau penyesuaian tanaman ke lingkungan alami.

D. Media Perkecambahan Anggrek

Perkecambahan anggrek membutuhkan kondisi lingkungan dan nutrisi tertentu terutama jika biji anggrek masih muda. Lingkungan yang mendukung seperti suhu dan cahaya tertentu untuk mematahkan dormansi dan memicu perkecambahan. Nutrisi yang dibutuhkan perlu didukung dengan pemberian nutrisi secara lengkap karena biji anggrek tidak mengandung endosperm atau cadangan makanan untuk membantu pertumbuhan dalam tahap awal sebelum mencapai tahap autotrof. Nutrisi yang harus dipenuhi mencakup senyawa anorganik, sumber energy (sucrose atau gula pasir), vitamin (misalnya asam nikotinat), pH yang tepat dan agar sebagai bahan pemat. Variasi lain adalah penambahan zat pengatur tumbuh yang dapat digunakan setelah bij berkecambah. Senyawa anorganik juga dapat diganti dengan bahan-bahan lain seperti buah pisang, air kelapa, buah tomat atau air rebusan taoge. Jenis media yang digunakan akan tergantung pada jenis anggrek, umur biji, dan tujuan kultur.

Contoh pembuatan media untuk perkecambahan biji anggrek dengan kultur jaringan adalah dengan menggunakan bahan alami seperti pisang dan air kelapa. Bahan dan metode yang digunakan adalah sebagai berikut :

Bahan dan alat (untuk 1 liter media)

1. Satu buah pisang ambon (diambil 150g)
2. Air kelapa (150 ml)
3. Gula pasir (20g)

4. Agar (8g)
5. pH meter / pH stick
6. Aquadest
7. Hotplate + magnetic stirrer / kompor + panci kecil + pengaduk
8. Botol-botol steril
9. Autoclave

Cara Kerja

1. Pisang sebanyak 150g dihaluskan
2. Disiapkan aquadest sebanyak 500ml, dimasukkan ke dalam beaker ukuran 1 liter atau panci kecil jika menggunakan kompor.
3. Ditambahkan pisang yang sudah dihaluskan, air kelapa sebanyak 150ml, dan gula pasir sebanyak 20g
4. Pemanas dan magnet dinyalakan (jika menggunakan magnetic stirrer) atau kompor dan diaduk perlahan sampai gula larut
5. Pemanas atau kompor dimatikan dan diukur pH media. pH seharusnya sekitar 5.8. Jika terlalu basa atau asam maka ditambah HCl atau NaOH untuk mendapatkan pH 5.8
6. Larutan media ditambah aquadest hingga mencapai volume 1 liter
7. Larutan media dipanaskan sampai mendidih kemudian dituangkan ke dalam botol-botol yang sudah steril.
8. Botol-botol yang sudah diisi media ditutup dan disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 C.

E. Tahap Sterilisasi Buah Anggrek

Sterilisasi dilakukan untuk membersihkan buah anggrek dari mikroorganisme yang dapat mengganggu pertumbuhan biji anggrek saat di kondisi *in vitro*. Sterilisasi buah anggrek biasanya dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan buah yang masih tertutup atau buah yang sudah pecah. Jika buah masih tertutup maka sterilisasi lebih mudah dengan menggunakan alkohol dan buah dibakar di atas api Bunsen. Jika buah sudah pecah maka sterilisasi juga harus dilakukan terhadap biji yang sudah keluar. Metode yang kedua akan lebih rumit karena harus dilakukan sterilisasi basah menggunakan larutan bleach (bayclin)

yang dicampur dengan tween untuk membersihkan buah dan biji anggrek. Salah satu metode sterilisasi buah anggrek adalah sebagai berikut :

Bahan dan alat

1. Buah anggrek yang sudah masak (tapi belum pecah)
2. Bunsen
3. Alkohol 70%
4. Pinset
5. Kapas
6. Petridish steril
7. Kertas saring steril

Cara kerja

1. Buah anggrek dibersihkan / dilap dengan kapas yang sudah dibasahi dengan alkohol 70%. Cara lain adalah dengan mencuci dengan detergen atau sunlight kemudian dibilas dengan air mengalir.
2. Buah anggrek dibawa masuk ke *laminair airflow cabinet* (LAF) dengan petridish steril, pinset steril, alkohol 70% dalam botol, dan bunsen
3. Bunsen dinyalakan di dalam LAF
4. Buah anggrek dicelupkan di dalam alkohol, diangkat sampai sisa alkohol tidak menetes, kemudian dibakar di atas api Bunsen. Dilakukan 3 kali.
5. Buah anggrek siap untuk dibelah dan ditanam bijinya

F. Penanaman atau Penaburan Biji Anggrek

Penanaman biji anggrek dilakukan dengan membuka buah anggrek di dalam kondisi steril. Media yang digunakan biasanya berada dalam posisi miring di dalam botol untuk memudahkan penanaman dan penyebaran biji dalam tiap botol. Metode penanaman dapat beragam sesuai dengan kondisi buah dan jenis anggrek yang digunakan. Arditti (1982) cit Pierik (1987) mengemukakan metode penyebaran dengan biji yang disuspensi dalam air steril kemudian disebarkan di media. Akan tetapi terdapat metode yang lebih mudah dan dapat mengurangi kontaminasi yaitu penanaman langsung dengan pinset, atau spatula yang dirancang khusus untuk penanaman biji anggrek. Biji anggrek disebar di atas media agar dan tidak di dalamnya atau di dalam media cair supaya dapat memperoleh

oksigen yang cukup. Jumlah biji yang ditanam dalam tiap botol akan bervariasi tergantung pada spesies yang ditanam. Sebagai contoh, jika *Phalaenopsis* ditanam dalam jumlah yang terlalu banyak dalam satu botol akan mengakibatkan akarnya saling menumpuk dan sulit untuk melakukan subkultur atau aklimatisasi.



Gambar 3. Media anggrek dalam botol
(Sumber : ugm.ac.id dan atjenese.blogspot.com)

G. Pemeliharaan Anggrek Secara In Vitro

Pertumbuhan anggrek dalam media kultur akan tergantung pada spesies yang ditanam. Lama pertumbuhan dan kondisi yang diperlukan akan bervariasi. Suhu sekitar 20 °C dan pencahayaan selama 12-16 jam dengan lampu neon diperlukan meskipun terdapat beberapa spesies yang lebih menyukai kondisi gelap untuk perkecambahan seperti *Paphiopedilum* dan *Cyripedium*. Selain kondisi lingkungan untuk mendukung perkecambahan dan pertumbuhan anggrek, penjarangan atau sub kultur perlu dilakukan supaya tidak terjadi kompetisi untuk nutrisi di dalam botol kultur.

Sub kultur dilakukan saat media sudah terlihat habis atau setiap 2 bulan sekali. Jumlah sub kultur juga sekitar 2-3 kali sebelum aklimatisasi. Jika terlalu sering melakukan sub kultur dapat mengakibatkan perubahan pada tanaman anggrek yang disebut dengan keragaman somaklonal. Pertumbuhan anggrek di dalam botol kultur biasanya selama 6 bulan sampai 2 tahun tergantung varietas.

H. Aklimatisasi

Proses aklimatisasi dilakukan dengan cara bertahap supaya tanaman hasil kultur jaringan dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Baik suhu, kelembaban, cahaya maupun faktor lainnya akan berbeda dan tanaman hasil kultur jaringan juga memiliki kekurangan dibanding tanaman yang ditanam di lingkungan alami. Menurut Pierik (1987), tanaman hasil kultur jaringan memiliki lapisan lilin (kutikula) yang tidak berkembang sempurna dan akar yang belum bisa berfungsi dengan baik. Saat pemindahan tanaman ke kondisi normal atau dalam media pakis, tanah, atau compost, harus dilakukan secara bertahap dan menghindari infeksi dari fungi serta bakteri karena tanaman hasil kultur jaringan belum mampu beradaptasi dengan pathogen-patogen yang biasa ditemukan di lingkungan luar.

Pemberian fungisida diperlukan untuk mencegah serangan jamur, pembersihan media secara benar juga mengurangi resiko serangan. Pemindahan pertama dilakukan ke dalam 'community pot' yang bisa menampung jumlah bibit yang cukup banyak. Pada tahap awal kelembaban sangat perlu dijaga dan pemberian nutrisi tambahan bisa dilakukan dengan penyemprotan pupuk daun. Selanjutnya bibit bisa dipindah ke pot-pot individu saat daun dan akar siap untuk mendukung pertumbuhannya.





Gambar 4. Tahap aklimatisasi anggrek, dari atas kiri, menurut arah jarum jam : pembersihan media agar, perendaman dalam larutan fungisida, bibit dalam community pot, dan bibit dalam pot individu.

(Sumber gambar : kasopondok.blogspot.com, anggrekayah.wordpress.com, bioscugm.blogspot.com)

DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. 2010. Plenary Presentation : History of Orchid Propagation. *AsPac J.Mol.Biol.Biotechnol.* Vol 18 (1) Supplement : 171-174.
- Damayanti, E. 2011. *Budidaya Tanaman Anggrek*. Penerbit Araska. Yogyakarta. Hal 24.
- Hendaryono, D.P.S., dan A.Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 139p.
- Henuhili, V. 2012. *Kultur Jaringan Tumbuhan. Petunjuk Praktikum FMIPA UNY*. Yogyakarta.
- Mantell, S.H., J.A.Matthews, and R.A.McKee. 1985. *Principles of Plant Biotechnology – An Introduction to Genetic Engineering in Plants*. Blackwell scientific Publications. Oxford. 269p.
- Mursidawati.S. 2007. Asosiasi Mikoriza dalam Konservasi Anggrek Alam. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. Vol 10. No 1.Hal 24-30.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands.

DAFTAR WEBSITE

<http://www.anggrekayah.wordpress.com>. Diakses tanggal 21 Januari 2013

Makalah PPM – Kultur Jaringan Anggrek
Paramita Cahyaningrum K., M.Sc. (email : paramita@uny.ac.id)
2012

[http.www.atjenese.blogspot.com](http://www.atjenese.blogspot.com). Diakses tanggal 21 Januari 2013

[http. www.beyondthehumaneye.blogspot.com](http://www.beyondthehumaneye.blogspot.com). Diakses tanggal 2 Juli 2012.

[http.www.bioscugm.blogspot.com](http://www.bioscugm.blogspot.com). Diakses tanggal 21 Januari 2013

[http.www.euisnovitasari.blogspot.com](http://www.euisnovitasari.blogspot.com). Diakses tanggal 2 Juli 2012.

[http.www.kasopondok.blogspot.com](http://www.kasopondok.blogspot.com). Diakses tanggal 21 Januari 2013

[http.www.sukasuka.blogspot.com](http://www.sukasuka.blogspot.com). Diakses tanggal 2 Juli 2012.

[http.www.ugm.ac.id](http://www.ugm.ac.id). Diakses tanggal 21 Januari 2013

[http.www.wordpress.com](http://www.wordpress.com) Diakses tanggal 2 Juli 2012.

.