

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Spesies anggrek di Indonesia memiliki sifat yang khas dan hanya dapat dijumpai di pulau – pulau tertentu di Indonesia seperti anggrek *Dendrobium taurulinum* yang hanya ditemukan di Pulau seram bagian utara dan bagian tengah, Maluku. *D. taurulinum* merupakan jenis anggrek khas Indonesia yang memiliki keunikan di bagian bunga yang memiliki antena dengan bunga kecil berwarna kuning. Habitat dominan dari *D. taurulinum* adalah di dataran rendah dan banyak ditemukan tumbuh di pohon tepi laut. Dalam setahun, anggrek ini berbunga pada bulan September-Oktober (Intan *et al.*, 2012).

Dalam upaya meningkatkan keragaman anggrek spesies ini maka diperlukan kualitas tanaman yang lebih baik. Menurut bawonoadi (2017), tingginya permintaan terhadap tanaman anggrek mendorong dilakukannya pengembangan keberagaman produk anggrek, terutama untuk mendapatkan bentuk dan warna bunga anggrek yang menarik dan berkualitas baik. Indah & Waluya (2017) menyatakan bahwa semakin tinggi keanekaragaman genetiknya maka semakin besar kemungkinan diperoleh genotipe unggul. Salah satu upaya tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan metode pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman secara umum yaitu metode yang digunakan untuk membuat tanaman baru yang memiliki sifat-sifat yang unggul dibandingkan dengan tanaman biasa.

Secara umum anggrek termasuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan dikarenakan bijinya tidak memiliki endosperm sehingga sulit tumbuh di alam. Biji ini hanya akan dapat tumbuh apabila bersimbiosis dengan mikoriza yang sesuai (Andersen & Rasmussen, 1996). George (2008), menyatakan bahwa biji anggrek tidak memiliki cadangan makanan, sehingga biji hanya akan tumbuh bila ditanam dalam media artifisial melalui kultur *in vitro*. Selain itu perbanyakan anggrek secara vegetatif dengan sistem konvensional membutuhkan waktu yang lama dan kondisi bibit rawan terhadap penyebaran penyakit. Oleh karena itu, untuk meningkatkan produksi tanaman anggrek maka dilakukan perbanyakan anggrek secara vegetatif yang lebih cepat, dalam jumlah yang banyak, dan memiliki sifat yang sama dengan induknya yaitu melalui teknik kultur *in vitro* (Sofialita, 2016).

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* dengan induksi mutasi merupakan metode alternatif untuk menambah keragaman genetik dari tanaman hias khususnya anggrek. Induksi mutasi dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu menggunakan mutagen fisik dengan memberikan penyinaran sinar gama atau menggunakan mutagen kimia dengan memberikan kolkisin pada tanaman tersebut. (Dhooghe, 2011).

Kolkisin merupakan zat penghambat pertumbuhan yang digunakan untuk mutasi sehingga menyebabkan terjadinya poliploid dimana organisme memiliki tiga set atau lebih kromosom dalam sel-selnya (Sulistianingsih, 2006). Efektivitas penggunaan konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin pada setiap spesies berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu spesies yang dikembangkan, konsentrasi yang digunakan dan lama perendaman.

Konsentrasi kolkisin merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan induksi poliploid. Pemberian konsentrasi kolkisin pada tanaman anggrek pada umumnya yaitu 0,001 – 1 %. Kolkisin yang terlalu rendah (dibawah 0,001%) tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman. Namun jika penggunaan konsentrasi yang terlalu tinggi (lebih dari 1) dapat mengakibatkan penghambatan yang tinggi sehingga terjadi kematian pada tanaman.

Lama perendaman kolkisin akan berpengaruh terhadap induksi poliploid yang terjadi pada tanaman dimana terjadinya penggandaan kromosom pada sel yang telah diberikan perlakuan perendaman. Lama perendaman pada anggrek *D. taurulinum* dapat dilakukan 1 – 72 jam (Bawonoadi, 2013). Semakin lama perendaman, maka akan semakin tinggi kemungkinan terjadi ploidi pada tanaman tersebut. Karena dengan demikian semakin lama perendaman maka semakin banyak waktu yang didapatkan oleh kolkisin menyerap pada eksplan.

Konsentrasi dan waktu perlakuan kolkisin untuk mendapatkan tanaman poliploid pada anggrek *D. taurulinum* belum diketahui, sehingga pengaruh konsentrasi dan lama perendaman *Plb* anggrek *Dendrobium taurulinum* pada induksi poliploid dengan menggunakan kolkisin secara *in vitro* perlu dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat diidentifikasi masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah terjadi interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap induksi poliploid tanaman anggrek *D. taurulinum*?
2. Berapa konsentrasi dan lama perendaman kolkisin yang optimum pada setiap taraf perlakuan untuk pembentukan ploidi pada tanaman anggrek *D. taurulinum* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh interaksi konsentrasi dan lama perendaman terhadap pertumbuhan tanaman anggrek *D. taurulinum* hasil induksi poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro*
2. Mendapatkan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin yang optimum untuk pembentukan ploidi pada tanaman anggrek *D. taurulinum*

1.4 Kegunaan penelitian

Kegunaan Penelitian ini adalah :

1. Secara ilmiah penelitian ini untuk mempelajari interaksi konsentrasi dan lama perendaman terhadap pertumbuhan tanaman Anggrek *D. taurulinum* hasil induksi poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro*.
2. Secara praktis pertanian penelitian ini dapat bermanfaat sebagai bahan referensi dalam difersivikasi *in vitro* tanaman anggrek *D. Taurulinum* menggunakan metode induksi poliploid.

1.5 Kerangka Pemikiran

Dendrobium taurulinum merupakan anggrek endemik Pulau Seram Maluku Utara yang termasuk kedalam Taman Nasional Manusela. Taman Nasional Manusela merupakan daerah tropis yang lembab dan selalu basah dengan curah hujan tersebar sepanjang tahun lebih dari 2000 mm (FAO, 1981). Temperatur rata-rata di Manusela utara 28° C dengan kelembaban 82%, sedangkan di Manusela tengah dan selatan temperatur rata-rata 26,5° C dengan kelembaban 65,5%. Secara keseluruhan *Dendrobium taurulinum* memiliki penampilan yang sangat menarik dan dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias atau bunga potong.

Dendrobium merupakan satu-satunya genera terbesar di famili Orchidaceae. Lebih dari 10.000 spesies tersebar dari daerah Himalaya hingga kebagian tenggara Asia sampai Jepang, Australia, Tasmania, dan Pulau Pasifik (Kamemoto, et al., 1999). Anggrek *Dendrobium* juga termasuk anggrek yang sangat dicari masyarakat. Namun, terbatasnya perbanyakan anggrek secara konvensional mengakibatkan terbatasnya pula produksi yang dihasilkan. Salah satunya oleh anggrek *D taurulinum*.

Salah satu faktor yang mempengaruhi terhambatnya perbanyakan anggrek secara konvensional ini dapat disebabkan tanaman anggrek pada umumnya tidak memiliki endosperm sehingga sulit untuk dikembangkan. Hasil penelitian (Kade et al., 2014) menyatakan bahwa perbanyakan tanaman secara konvensional yang sulit dapat diatasi dengan teknik perbanyakan anggrek melalui kultur jaringan (*in vitro*). Kultur jaringan adalah teknik pengisolasian bagian tanaman seperti organ, jaringan, sel, dan protoplas yang selanjutnya ditumbuhkan dalam media buatan

secara aseptik sehingga bagian-bagian tersebut beregenerasi menjadi tanaman lengkap (George, 2008).

Anggrek *D taurulinum* merupakan tanaman hasil hutan yang termasuk kedalam komponen keanekaragaman hayati yang perlu dikembangkan. Salah satu pengembangan keanekaragaman dapat dilakukan dengan mutasi. Pada mutasi yang dilakukan diharapkan mampu menambah keberagaman suatu spesies tanaman. Dengan demikian induksi mutasi secara *in vitro* merupakan upaya yang dapat dilakukan untuk menambah keragaman dan sebagai upaya mempermudah perbanyakan dalam budidaya anggrek *D taurulinum*.

Mutasi yang dapat dilakukan diantaranya induksi poliploid secara kimia menggunakan mutan kolkisin. Rahayu (2015) melaporkan hasil induksi poliploid pada *protocorm P. amabilis* dan *P. amboinensis* secara *in vitro* menghasilkan tanaman poliploid sekitar 15% dan terdapat perbedaan nyata karakter planlet diploid dengan poliploid seperti karakter pertumbuhan dan ukuran stomata. Karakter-karakter seperti panjang dan lebar *organ basal protocorm (OBP)*, panjang dan lebar daun, panjang dan diameter akar kemungkinan dapat digunakan untuk *Scriming* awal *planlet putatif* poliploid.

Pemberian kolkisin pada titik tumbuh dari tunas dapat mencegah pembentukan serabut-serabut benang-benang pengikat kromosom dan pemisahan kromosom pada anafase dari mitosis menyebabkan ploidisasi kromosom, tanpa pembentukan dinding sel. Perlakuan ini menyebabkan penambahan jumlah kromosom per sel (Crowder, 1997). Hal ini sesuai dengan laporan penelitian Nasir (2002) Kolkisin menghambat tahap metafase, mencegah polimerisasi tubulin

menjadi mikrotubulin, mencegah tubulin tersebut menjadi serat benang fungsional (benang gelendong) sehingga tahap anafase untuk pemisahan kromosom tidak terjadi. Tanpa benang gelendong tersebut, dinding pemisah gagal terbentuk sehingga kromosom dan duplikatnya tetap berada di dalam sel yang sama. Akibatnya pembelahan sel tidak berlangsung, sehingga pembelahannya dimulai dengan sel diploid diakhiri dengan terbentuknya sel tetraploid.

Induksi poliploidi dengan kolkisin pada protocorm angrek yang dilakukan oleh Sarathum *et al.*, (2010) dengan kolkisin 750 mg L^{-1} dan Kerdsuwan dan Te-chato (2012) dengan kolkisin $2,000 \text{ mg L}^{-1}$ pada *protocorm* menghasilkan persentase mutan tetraploid angrek masing-masing sebesar 43.0 dan 60.0%.

Menurut Sharatum *et al.*, (2010) konsentrasi kolkisin yang dipakai untuk *Dendrobium* yaitu 0,01 – 0,1% dengan lama perendaman 0 – 24 jam. Keduanya tergantung dari bahan dan jenis tanaman yang akan digunakan dalam percobaan. Penggunaan konsentrasi larutan kolkisin dan waktu perlakuan yang kurang tepat, maka poliploidi belum dapat diperoleh. Penggunaan konsentrasi kolkisin yang terlalu tinggi (lebih dari 0,1%) atau waktu perlakuan terlalu lama mengakibatkan kolkisin akan memperlihatkan pengaruh negatif, yaitu penampilan tanaman menjadi abnormal, sel-sel banyak yang rusak atau bahkan menyebabkan kematian pada tanaman (Suryo 1995). Menurut suharni (2004), pemberian kolkisin yang tepat akan memberikan pengaruh terhadap morfologi, anatomi, fisiologi dan sitologi yang meningkat. Pengaruh kolkisin terhadap morfologi diantaranya pada tinggi tanaman, jumlah anakan dan jumlah daun. Secara anatomi pengaruh kolkisin

dapat dilihat melalui jumlah kloroplas, jumlah dan kerapatan stomata pada daun. Sedangkan, secara sitologi dapat dilakukan dengan menggunakan uji kromosom.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Yenchon dan Techato (2014) menunjukkan bahwa konsentrasi larutan kolkisin dan lama perendaman mempengaruhi persentase tanaman yang mengalami poliploidi pada tanaman *Dendrobium*. Menurut Sharatum *et al.*, (2010) konsentrasi kolkisin yang dipakai untuk *Dendrobium* yaitu 0,01% – 0,1%. Pada penelitian ini Lama Perendaman tanaman dengan kolkisin mengacu pada penelitian Bawonoadi (2017) , yaitu 1 Jam, 24 Jam, 48 jam dan 72 jam. sedangkan konsentrasi pada penelitian ini mengacu pada penelitian Ardi (2015) terhadap anggrek *Dendrobium lashiantera* dimana konsentrasi yang digunakan merupakan 0,00% ; 0,025%; 0,05%; dan 0,075%. Perlakuan yang digunakan tidak sampai taraf 0,10% karena pada penelitian Saratum *et al.*, (2010) konsentrasi 0,10% mengakibatkan kematian eksplan sebesar 60% pada *Plb* anggrek *Dendrobium scabrilingue* L.

Penyebab kematian eksplan pada penelitian tersebut dipengaruhi oleh penghambatan yang terlalu tinggi yang terjadi didalam sel pada tahap metafase dengan penghambatan pembelahan sel yang terlalu tinggi yang dapat memberikan kematian pada tanaman. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Zeng *et al.*, 2006) dimana, kolkisin dapat menyebabkan efek samping yaitu morfologi abnormal selama proses mutagenesis. Dengan demikian, saat tepapar kolkisin, sel telah memiliki organel-organel dan kromosom yang mengganda namun tidak terjadi pembelahan sel sehingga sel hanya mengalami pembesaran dan tidak mengalami pembelahan (Martha *et al.*, 2006). Dengan eksplan yang masih muda, maka sel juga

perlu pembelahan yang lebih banyak untuk melangsungkan hidupnya. Namun jika dengan konsentrasi yang tinggi maka dikhawatirkan penghambatan pertumbuhannya yang dapat menyebabkan kematian.

Selain pengaruh konsentrasi, semakin lama perendaman maka akan semakin besar peluang penghambatan sel pada eksplan sehingga akan semakin besar peluang eksplan untuk mendapatkan poliploid yang lebih banyak lagi. Sama seperti yang dikemukakan oleh Suryo (1995) jika konsentrasi larutan kolkisin yang kritis dibiarkan berlanjut, maka penambahan genom akan mengikuti suatu deret ukur seperti $4n$, $8n$, $16n$ dan seterusnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Hieter & Griffiths (1999) dalam Sulistianingsih *et al.*, (2004), kolkisin merupakan salah satu bahan kimia untuk mutasi yang menyebabkan terjadinya poliploid dimana organisme memiliki tiga kali atau lebih kromosom dasar dalam sel-selnya.

Dengan demikian penelitian ini dilakukan untuk mengetahui penggunaan Konsentrasi dan lama perendaman kolkisin untuk induksi poliploid Anggrek *D. taurulinum* dengan eksplan jaringan meristem berupa *Protocorm* sehingga mendapatkan *planlet* Anggrek *D. taurulinum* dengan ukuran yang lebih besar.

1.6 Hipotesis

1. Terjadi interaksi konsentrasi dan lama perendaman kolkisin dapat mempengaruhi terhadap pembentukan poliploid pada tanaman Anggrek *D. taurulinum* secara *in vitro*
2. Terdapat satu kombinasi taraf perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin yang optimum untuk pembentukan ploidi tanaman Anggrek *D. taurulinum*.