

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Sejak awal keberadaanya, tanaman anggrek telah menarik berbagai kalangan seperti ahli botani, peneliti, pemulia tanaman dan masyarakat. Tanaman anggrek adalah tanaman hias yang memiliki keindahan bunga yang khas dengan warna dan bentuk bunga yang beragam. Tanaman anggrek juga termasuk salah satu komoditas penting bernilai ekonomi tinggi dalam industri holtikultura.

Secara taksonomi, tanaman anggrek termasuk tanaman berbiji tertutup yang berasal dari famili Orchidaceae yaitu salah satu famili terbesar dari tanaman bunga, terdiri dari 800 genus dengan 25.000 spesies dengan kelimpahan spesies tertinggi ditemukan di daerah tropis (Arditti, 1992), sehingga anggrek sering dianggap sebagai simbol bunga khas tropis. Indonesia memiliki sekitar 5000 jenis anggrek atau sebesar 25 – 33,3 % dari total jenis anggrek di dunia yang terdistribusi diseluruh nusantara (Sarwono, 2002). Diantara genus-genus yang terdapat dalam famili Orchidaceae, genus *Dendrobium* merupakan genus terbesar kedua meliputi lebih dari 1100 spesies yang terdistribusi luas dari Asia Tenggara hingga Australia (Yin dan Hong, 2009). Menurut Gandawidjaya dan Sastrapradja (1980), *Dendrobium* merupakan salah satu kekayaan alam Indonesia yang jumlahnya diperkirakan mencapai 275 spesies.

Sebagian besar jenis anggrek yang ada dipasaran saat ini merupakan hasil silangan atau hibrida. Jumlahnya mencapai lebih dari 75.000 anggrek (Teoh, 2005). Salah satu jenis yang cukup menarik perhatian adalah *Dendrobium* Thong Chai Golden. *Dendrobium* Thong Chai Golden merupakan hibrida interspesifik yang memiliki karakteristik bunga berbentuk bintang berwarna kuning terang (*gold*). Bibirnya berwarna magenta gelap, sangat kontras berbeda dengan warna petalnya.

Permintaan pasar terhadap anggrek jenis *Dendrobium* dan hibridanya baik sebagai tanaman pot maupun dalam bentuk bunga potong masih tinggi. Akibatnya kultivasi anggrek *Dendrobium* dan hibridanya terutama melalui teknik mikropropagasi, paling banyak dilakukan dan persentasenya mencapai 80 % dari jumlah total kultivasi anggrek tropis (Griesbach, 2003; Saiprasad *et al.*, 2004). Sejalan dengan permintaan anggrek yang cukup besar, maka usaha peningkatan dan penganekaragaman produk anggrek jenis *Dendrobium* menjadi sangat penting. Potensi *Dendrobium* sebagai komoditas hortikultura telah dikembangkan dan dimanfaatkan oleh Indonesia, namun pengembangannya masih belum optimal. Menurut Widiastoety *et al.* (2010), secara umum beberapa kendala yang menghambat kemajuan pengembangan anggrek di Indonesia diantaranya rendahnya produktivitas dan kualitas anggrek sehingga tidak dapat bersaing dipasaran internasional. Usaha peningkatan dan penganekaragaman produk anggrek penting dilakukan untuk meningkatkan daya saing dan mempermudah perluasan pasar di dalam dan luar negeri. Usaha peningkatan kualitas dan penganekaragaman anggrek termasuk kedalam kegiatan pemuliaan tanaman.

Pemuliaan tanaman pada anggrek *Dendrobium* telah dilakukan sejak lama oleh para pemulia tanaman melalui teknik konvensional dan variasi somaklonal melalui kultur jaringan. Teknik konvensional melalui persilangan seksual telah berkontribusi besar terhadap peningkatan kualitas dan keragaman pada anggrek *Dendrobium*, akan tetapi pada teknik persilangan seksual sering ditemui beberapa keterbatasan seperti adanya ketidaksesuaian genom tetua antara kedua spesies dan incompatibilitas seksual sehingga sulit dihasilkan hibrida interspesifik dan intergenerik (Widiastoety *et al.*, 2010). Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang berkembang pesat saat ini, maka bioteknologi modern menjadi solusi alternatif dalam mengatasi keterbatasan yang ditemui pada persilangan seksual yaitu melalui teknik hibridisasi somatik atau fusi protoplas. Hibridisasi somatik melalui fusi protoplas memberikan kemungkinan untuk terjadinya persilangan beda genus dan spesies (Davey *et al.*, 2005).

Hibridisasi somatik adalah teknik persilangan untuk menghasilkan hibrida melalui fusi sel tubuh (Bhojwani dan Razdan, 1983). Hibridisasi somatik dapat

terjadi secara buatan melalui dua cara yaitu secara kimiawi seperti perlakuan dengan sodium nitrat, ion kalsium, polietilen glikol (PEG) atau menggunakan medan listrik seperti mikrofusi dan elektrofusi dalam mengatasi hambatan persilangan telah berhasil pada sejumlah besar tanaman (Bajaj, 1994; Chawla, 2002).

Saat ini, hibridisasi somatik telah menjadi satu alat paling signifikan dari bioteknologi modern karena peranannya yang sangat luas dalam pemuliaan tanaman seperti rekayasa tanaman resisten penyakit dan pestisida, peningkatan produk metabolisme sekunder dan pembentukan tanaman poliploid. Dalam hal ini protoplas tanaman menyediakan sistem sel tunggal dan menjadi sumber material terbaik bagi pengembangan tanaman melalui fusi protoplas (Bhojwani dan Razdan, 1983). Akibatnya metode ini telah menarik banyak perhatian dari para pemulia tanaman dan peneliti sehingga pengembangannya dilaboratorium terus berjalan (Davey *et al.*, 2005). Dengan demikian, protoplas dari *Dendrobium* Thong Chai Golden dapat menjadi sumber material yang baik untuk fusi protoplas dalam rangka pengembangan tanaman tersebut. Hibridisasi intergenerik maupun interspesifik pada anggrek telah dilakukan pada beberapa anggrek diantaranya pada *Angraecum giryamae* dengan sumber protoplas berasal dari sepal hijau (Price dan Earle, 1984 dalam Teixeira da Saliva, 2013) dan pada hibrida bigeneric *Renantanda* (*Renanthera* x *Vanda*) dengan *Phalaenopsis* dimana sumber protoplas berasal dari daun muda (Teo dan Neumann, 1978a, 1978b dalam Teixeira da Saliva, 2013).

Salah faktor yang sangat penting dalam menentukan keberhasilan penggunaan protoplas sebagai sumber material dalam hibridisasi somatik adalah kondisi isolasi protoplas (Bajaj, 1994). Kondisi isolasi optimum akan menghasilkan protoplas viabel dalam jumlah banyak. Beberapa faktor yang menentukan perolehan jumlah protoplas diantaranya campuran enzim, medium isolasi, konsentrasi osmotikum, dan waktu inkubasi (Bhojwani dan Razdan, 1983). Pembentukan protokol isolasi pada *Dendrobium* dan hibridinya telah banyak dilaporkan (Kanchanapoom *et al.*, 2001; Kunasakdakul dan Smitamana, 2003; Khentry *et al.*, 2006; Tee *et al.*, 2010) namun belum ada informasi pasti

mengenai protokol isolasi protoplas pada *Dendrobium* Thong Chai Golden. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dalam menentukan kondisi optimum untuk isolasi protoplas *Dendrobium* Thong Chai Golden sebagai satu kajian awal untuk pengembangan hibridisasi somatik pada tanaman anggrek.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut : “ Bagaimana kondisi optimum untuk isolasi protoplas daun *Dendrobium* Thong Chai Golden terhadap perolehan jumlah protoplas ” ?

Dari rumusan masalah yang telah dikemukakan, maka dapat dijabarkan menjadi beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Berapa konsentrasi manitol osmotikum untuk memperoleh jumlah protoplas paling banyak ?
2. Berapa konsentrasi campuran enzim optimal untuk memperoleh jumlah protoplas paling banyak ?
3. Berapa lama waktu inkubasi optimal untuk memperoleh jumlah protoplas paling banyak ?
4. Adakah interaksi antar konsentrasi campuran enzim dan lamanya waktu inkubasi terhadap perolehan hasil protoplas ?
5. Berapa lama waktu yang dibutuhkan protoplas untuk mensintesis dinding sel baru ?
6. Berapa lama waktu yang dibutuhkan protoplas untuk terjadinya pembelahan sel ?

C. BATASAN MASALAH

Agar tidak meluas dalam pelaksanaannya, maka ruang lingkup penelitian ini dibatasi pada beberapa hal diantaranya yaitu

1. Eksplan yang digunakan adalah daun dari tanaman juvenile *in vitro* *Dendrobium* Thongchai Golden yang berumur 1 tahun.

2. Beberapa faktor yang mempengaruhi isolasi protoplas untuk memperoleh kondisi optimumnya diuji dan dievaluasi diantaranya penentuan konsentrasi osmotikum, konsentrasi campuran enzim dan durasi perlakuan enzim atau lamanya waktu inkubasi.
3. Penentuan osmotikum dilakukan terpisah dari perlakuan enzim sebagai tahap pra penelitian
4. Konsentrasi osmotikum terdiri dari 0,3, 0,4, 0,5 dan 0,6 M manitol
5. Campuran enzim terdiri dari tiga macam kombinasi yaitu E1 (1,5 % Selulase dan 0,2 % Pektinase), E2 (1 % Selulase dan 1 % Pektinase) dan E3 (1 % Selulase dan 0,5 % Pektinase).
6. Waktu inkubasi terdiri dari empat durasi yaitu 3, 5, 16 dan 21 jam.
7. Pengamatan dilakukan setiap harinya setelah ditanam dalam media kultur
8. Respon perkembangan protoplas yang diamati adalah pembentukan dinding sel baru dan pembelahan sel secara kualitatif.

D. TUJUAN

Tujuan penelitian ini adalah memperoleh kondisi optimum untuk isolasi protoplas daun *Dendrobium Thong Chai Golden* terutama dengan mencari kombinasi campuran enzim dan lamanya waktu inkubasi optimal.

E. MANFAAT

Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh protokol isolasi protoplas yang tepat dan efisien sehingga dapat digunakan sebagai metode acuan dan informasi awal dalam pengembangan hibridisasi somatik melalui fusi protoplas.

F. ASUMSI

1. Isolasi protoplas dipengaruhi oleh banyak faktor dan kondisi optimumnya. Dua faktor penting yang mempengaruhi perolehan hasil dan viabilitas protoplas adalah osmotikum dan perlakuan enzimatis (Bhojwani dan Razdan, 1983; Chawla, 2002 dan Davey *et al.*, 2005).
2. Manitol dianggap relatif *inert* secara metabolik dan penggunaannya paling luas pada isolasi protoplas sejumlah besar tanaman, terutama untuk isolasi sel mesofil daun (Chawla, 2002).
3. Konsentrasi campuran enzim selulase dan pektinase optimal untuk perolehan hasil protoplas tinggi sebesar 1 % selulase dan 1 % pektinase pada *Dendrobium* Pompadour (Kanchanapoom *et al.*, 2001), 1 % selulase dan 0,2 % pektinase pada *Dendrobium* Sonia (Khentry *et al.*, 2006), serta 1 % selulase dan 0,5 % pektinase pada *Cymbidium* (Pindel, 2007).
4. Lamanya waktu inkubasi pada isolasi protoplas *Dendrobium* terjadi antara interval waktu tiga hingga 16 jam dalam kondisi gelap (Kanchanapoom *et al.*, 2001; Kunasakdakul dan Smitamana, 2003; Khentry *et al.*, 2006; Jayanti, 2011).

G. HIPOTESIS

Hipotesis yang dapat diambil sebagai berikut :

1. Ada pengaruh konsentrasi campuran enzim terhadap perolehan jumlah protoplas
2. Ada pengaruh lamanya waktu inkubasi terhadap perolehan jumlah protoplas
3. Ada interaksi antara konsentrasi campuran enzim dengan lamanya waktu inkubasi pada isolasi daun *Dendrobium* Thong Chai Golden.

