


 GRAHA ILMU

Seri Monograf

View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to you by  CORE

provided by University of Surabaya

Popy Hartatie Hardjo

KULTUR JARINGAN ANGGREK

Embriogenesis somatik Vanda tricolor (Lindl.) var. pallida



KULTUR JARINGAN ANGGREK

Embriogenesis somatik *Vanda tricolor* (Lindl.) var. *pallida*

KULTUR JARINGAN ANGGREK

Embriogenesis somatik *Vanda tricolor* (Lindl.) var. *pallida*

Popy Hartatie Hardjo



GRAHA ILMU

Seri Monograf

KULTUR JARINGAN ANGGREK; Embriogenesis somatik *Vanda tricolor* (Lindl.) var. pallida

oleh Popy Hartatie Hardjo

Editor: Wina Dian Savitri

Hak Cipta © 2018 pada penulis



GRAHA ILMU

Ruko Jambusari 7A Yogyakarta 55283

Telp: 0274-889398; Fax: 0274-889057; E-mail: info@grahailmu.co.id

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, secara elektronis maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Tajuk Entri Utama: Hardjo, Popy Hartatie

KULTUR JARINGAN ANGGREK; Embriogenesis somatik *Vanda tricolor* (Lindl.) var. pallida/Popy Hartatie Hardjo

- Edisi Pertama. Cet. Ke-1. - Yogyakarta: Graha Ilmu, 2018
xii + 60 hlm.; 23 cm

Bibliografi: 51 - 59

ISBN : 978-602-262-801-9

E-ISBN : 978-602-262-802-6

1. Anggrek

I. Judul

584.4

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan atas karunia rahmat-Nya sehingga buku monograf ini dapat diselesaikan.

Anggrek merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan Republik Indonesia. *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida* merupakan spesies lokal endemik yang terancam punah keberadaannya di Hutan Amerta Jati, Taman Wisata Alam (TWA) Buyan Tamblingan, Buleleng, Bali. Oleh karena itu perlu dilestarikan dengan perbanyakan cepat menggunakan teknik kultur jaringan. Buku ini membahas cara perbanyakan *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida* menggunakan teknik embriogenesis somatik secara tidak langsung membentuk embrio somatik sebagai bibit. Bahasan materi ini merupakan hasil beberapa penelitian yang telah dilakukan melalui bantuan hibah yang diberikan DRPM Ristekdikti dan LPPM Ubaya.

Ucapan terima kasih ditujukan kepada berbagai pihak yang telah berkontribusi dalam penerbitan buku ini. Semoga karya ini berguna bagi masyarakat yang membutuhkan dan berkepentingan di bidang perbanyakan tanaman anggrek, serta bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan ke depan.

Buku ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu segala saran, kritik dan arahan dari segenap pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan buku ini.

Surabaya, September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 KULTUR JARINGAN TANAMAN	7
2.1 Pengertian dan bidang aplikasi	7
2.2 Media kultur jaringan	17
2.3 Teknik mikropropagasi	21
2.4 Kultur jaringan anggrek <i>Vanda</i>	24
BAB 3 IMPLEMENTASI	29
3.1 Embriogenesis somatik	
<i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i>	29
3.2 Induksi kalus embriogenik	
<i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i>	32

3.3	Pembentukan embrio somatik	
	<i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i>	40
3.4	Regenerasi embrio somatik	
	<i>Vanda tricolor</i> Lind. Var. <i>pallida</i>	44
BAB 4	KESIMPULAN	49
	DAFTAR PUSTAKA	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Beberapa Spesies Anggrek <i>Vanda</i>	3
Gambar 2.	Anggrek <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i>	25
Gambar 3.	Inisiasi kalus embriogenik dan pembentukan embriosomatik <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i> .	41
Gambar 4.	Histologis perkembangan embrio somatik <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i> .	43
Gambar 5.	Regenerasi embrio somatik <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>pallida</i> membentuk planlet.	47



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Induksi kalus <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. pallida dari eksplan daun, basal daun dan ujung akar pada berbagai media dan ZPT	33
Tabel 2. Waktu terbentuk kalus, morfologi kalus dan persentase eksplan berkalus <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. pallida 120 hari masa kultur	40
Tabel 3. Lama waktu dan persentase embrio somatik yang terbentuk setelah 30 hari masa kultur <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. pallida	42
Tabel 4. Regenerasi embrio somatik <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. pallida membentuk planlet pada beberapa komposisi media dan ZPT setelah 30 hari masa kultur	46



1

PENDAHULUAN

Salah satu faktor penting penentu keberhasilan program pertanian adalah pengadaan bibit bermutu, seragam, dan tersedia sewaktu-waktu dalam jumlah banyak. Kebutuhan yang demikian sulit terpenuhi bila pengadaan bibit dilakukan secara konvensional. Teknik kultur jaringan yang dikenal juga dengan kultur *in vitro* telah terbukti dapat memperbanyak tanaman secara cepat dalam jumlah banyak serta identik dengan induknya di industri pembibitan komersial. Kultur *in vitro* berperan penting untuk memperoleh hasil yang tidak bisa dicapai melalui kultur *ex vitro*.

Perbanyakan secara *in vitro* dilakukan antara lain melalui multiplikasi tunas, jalur embriogenesis somatik dan organogenesis baik langsung maupun tidak langsung melalui fase kalus. Banyak tanaman memiliki kemampuan untuk membentuk embrio non seksual dari jaringan *ovule*

tanpa terjadi fusi sel gamet membentuk zigot, dan dikenal sebagai embrio somatik atau apomiksis. Pembentukan embrio somatik secara alamiah dapat terjadi pada sel-sel somatik dalam kantung embrio dan dari sel-sel nuselus (Sahijram and Bahadur, 2015). Secara *in vitro*, embrio somatik dapat terjadi dari sel-sel somatik eksplan tanaman yang dikulturkan. Eksplan adalah bagian kecil dari tanaman (sel, jaringan, atau organ) yang digunakan untuk memulai suatu kultur.

Keunggulan embriogenesis somatik secara tidak langsung melalui kalus adalah karena embrio somatik berasal dari satu sel somatik. Embrio somatik ideal untuk penyimpanan jangka pendek maupun jangka panjang karena bila diregenerasikan kembali dapat langsung membentuk tanaman utuh (planlet) (Guan *et al.*, 2016).

Pada umumnya perbanyakan anggrek dilakukan dengan cara mengecambahkan biji secara *in vitro*, sehingga diperoleh hasil yang beragam. Agar memperoleh hasil yang seragam dan jumlah banyak secara cepat, maka dilakukan upaya perbanyakan secara *in vitro* dengan teknik embriogenesis somatik baik secara langsung maupun tidak langsung, dan akan dihasilkan embrio somatik yang dikenal juga dengan nama *protocorm-like bodies* (PLBs). Menurut Teixeira da Silva (2012) multiplikasi PLBs merupakan salah satu metode perbanyakan anggrek secara cepat.

Keberhasilan induksi dan multiplikasi PLBs tergantung dari jenis eksplan (Juntada *et al.*, 2015), media kultur (Samala *et al.*, 2014; Liao *et al.*, 2015) dan genotip tanaman (Soe *et al.*, 2014). Induksi dan multiplikasi PLBs memerlukan media dan juga jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang tepat.

Anggrek *Vanda* merupakan salah satu spesies tanaman hias anggrek yang populer dan disukai masyarakat pencinta anggrek. Ada berbagai spesies *Vanda* antara lain: *V. brunnea*, *V. dearei*, *V. lamellata*, *V. hookeriana*, *V. coerulea*, *V. limbata*, *V. teres*, *V. tricolor* (Gambar 1).



V. limbata dari Flores



V. tricolor var. *suavis* dari Bali



V. dearei dari Borneo



V. hookeriana dari Bengkulu

(sumber: <https://goo.gl/G1LpeF>; <https://goo.gl/MAe8AF> ; <https://goo.gl/dA7xXR>; <https://goo.gl/RRygpP>)

Gambar 1. Beberapa Spesies Anggrek *Vanda*

4

KESIMPULAN

Perbanyakan *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida* telah berhasil melalui cara embriogenesis somatik tidak langsung hingga membentuk planlet dan dapat diaklimatisasi. Penggunaan media dasar $\frac{1}{2}$ MS dan penambahan ZPT auksin NAA dan sitokinin BAP dapat menginduksi pembentukan kalus embriogenik dan selanjutnya berkembang membentuk embrio somatik. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan pembentukan embrio somatik *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida* adalah jenis eksplan, media, sumber karbohidrat sukrosa konsentrasi rendah, serta ZPT.

Induksi kalus embriogenik dari eksplan basal daun *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida* terjadi pada media $\frac{1}{2}$ MS (+ sukrosa 1%) dengan penambahan ZPT NAA 0,05 mg.L⁻¹ + BAP 0,01 mg.L⁻¹.

Pembentukan embrio somatik *Vanda tricolor* Lindl. *var. pallida* pada media $\frac{1}{2}$ MS (+ sukrosa 1%) dengan ZPT BAP $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ + NAA $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$.

Regenerasi embrio somatik membentuk primordia tunas terjadi pada $\frac{1}{2}$ MS tanpa ZPT maupun $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan sitokinin BAP $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ dalam masa kultur 15 hari, dan membentuk planlet dalam 15 hari setelah terbentuk tunas terlebih dulu.



DAFTAR PUSTAKA

- Artadana, I.B.M., G.B.F. Suhono, P.H. Hardjo, M.G.M. Purwanto, Y.B. Wang, and K. Supaibulwatana. *Bali Medical Journal* 3(3):S12-S17.
- Backer, C.A. and R.C.B. van den Brink Jr. 1965. *Flora of Java*. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Balipost. "Terancam Punah, Populasi Anggrek *Vanda tricolor* Di Twa Buyan-Tamblingan". 28 Juli 2018. <https://google.com/search?q=3T224C>
- Budisantoso, I., N. Amalia, and Kamsinah. 2017. In vitro callus induction from leaf explants of *Vanda* sp. stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika* 9(3):492-497.
- Bhattacharjee, D.K. and M.M. Hossain. 2015. Effects of plant growth regulators and explants on propagation of a monopodial and sympodial orchid: a study in vitro. *J. Orchid Soc. India* 29:91-102.

- Bhattacharjee, B. and S.M.S. Islam. 2017. Mass propagation of PLBs derived from leaf and shoots of *Vanda tessellata* (Roxb.). Hook. Ex. G. Don. an endangered medicinal orchid in Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 46(2):775-782.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1996. Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Edition. Amsterdam, Elsevier. 749 p.
- Chugh, S.S., I.U. Guha, and Rao. 2009. Micropropagation of orchids: A review on the potential of different explants. *Sci. Hortic* 122:507-520.
- Gantait, S. and U.R. Sinniah. 2012. Rapid micropropagation of monopodial orchid hybrid (*Aranda* Wan Chark Kuan 'Blue' X *Vanda coerulea* Griffth. Ex. Lindl.) through direct induction of protocorm like bodies from leaf segments. *Plant Growth Regul.* 68:129-140.
- Gomes, L.R.P., C.R.B. Franceschi, and L.L.F. Ribas. 2015. Micropropagation of *Brasilidium forbesii* (Orchidaceae) through transverse and longitudinal thin layer culture. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 37(2):143-149.
- Gnasekaran, P., R. Poobathy, M. Mahmood, M.R. Samian, and S. Subramaniam. 2012. Effect of complex organic additives on improving the growth of PLBs of *Vanda*

- Kasem's Delight. *Australian Journal of Crop Science* 6(8):1245-1248.
- Guan, Y., S.G. Li, X.F. Fan, and Z.H. Su. 2016. Application of somatic embryogenesis in woody plants. *Frontiers in Plant Science* 7:938:1-12.
- Gutierrez-Mora, A., A.G. Gonzales-Gutierrez, B. Rodriguez-Garay, A. Ascencio-Cabral, and L. Li-Wei. 2012. Plant somatic embryogenesis: some useful considerations In *Embryogenesis* (Eds. Ken-ichi Sato). DOI: 10.5772/2143
- Hardjo, P.H. 2013. Perbanyak mikro tebu (*Saccharum* spp. hybrids) melalui kultur kalus. *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi* 7(1):15-20.
- Hardjo, P.H. 2015. Overekspresi gen *SoSUT1* untuk meningkatkan translokasi sukrosa pada tanaman tebu (*Saccharum* spp. hybrids). Disertasi (non publikasi). Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hardjo, P.H. 2016. Proliferasi PLBs *Vanda tricolor* Lindl. var. *pallida*. Prosiding Seminar Nasional Biologi. Unesa, Surabaya.
- Hardjo, P.H., C.H.S. Binarto, dan W.D. Savitri. 2016. Induksi protocorm-like bodies (PLBs) *Vanda tricolor* Lindl.

- var. pallida. Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas VI. Unair, Surabaya.
- Hardjo, P.H. and W.D. Savitri. 2017. Somatic embryo from basal leaf segments of *Vanda tricolor* Lindl. var. pallida. *KnE Life Sciences* 3(5):173-179.
- Huan, L.V.T., T. Takamura, and M. Tanaka. 2004. Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium* orchid. *Plant Science* 166:1443-1449.
- Ishii, Y., T. Takamura, M. Goi, M. Tanaka. 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. *Plant Cell Reports* 17:446-450.
- Jainol, J.E. and J.A. Gansau. 2017. Embryogenic callus induction from leaf tip explants and protocorm-like-body formation and shoot proliferation of *Dimorphorchis lowii*: Borneon endemic orchid. *Agrivita Journal of Agricultural Science* 39(1):1-10.
- Jawan, R., J.A. Gansau, and J.O. Abdullah. 2010. In vitro culture of Borneo's endemic orchid, *Vanda dearei*. *Aspac J. Mol. Biol. Biotechnol.* 18(1):203-207.
- Jena, S. R.C. Jena, and R. Bhol. 2013. In vitro propagation of *Acampe papillosa* Lind. (Orchidaceae) through direct somatic embryogenesis using leaf explant. *Asian Journal of Biological and Life Sciences* 2(3):234-240.

- Jitsopakul, N. K. Thammasiri, K. Ishikawa. 2013. Efficient adventitious shoot regeneration from shoot tip culture of *Vanda coerulea*, a Thai orchid. *ScienceAsia* 39:449-455.
- Juntada, K., S. Taboonmee, P. Meetum, S. Poomjae, and P.N. Chiangmai. 2014. Somatic embryogenesis induction from protocorm-like bodies and leaf segments of *Dendrobium Sonia* "Earsakul". *Silpakorn U Science & Tech J* 9(2):9-19.
- Kaur, S. and K.K. Bhutani. 2009. In vitro propagation of *Vanda Testacea* (Lindl.) Reichb.f.- A rare orchid of high medicinal value. *Plant Tissue Cult & Biotech.* 19(1):1-7.
- Lang, N. and N. Hang. 2006. Using biotechnological approaches for *Vanda* orchid improvement. *Omonrice* 14:140-143.
- Liao, Y.W., P.L. Huang, K.L. Huang, I. Miyajima, and S.T. Hsu. 2015. Factors affecting to somatic embryogenesis and plant regeneration from callus and in vitro ontogeny of *Doritaenopsis Taisuco* Ladylip. *J. Fac.Agr.*60(1):13-22.
- Lee, Y.I, S.T. Hsu, E.C. Yeung. 2013. Orchid protocorm-like bodies are somatic embryos. *American J. of Botany* 100(11):2121-2131.

- Majumder, M., S.S. Maiti, and N. Banerjee. 2010. Direct and callus- mediated protocorm-like body induction and high frequency adventitious shoot regeneration in an endanger orchid - *Dendrobium farmer* Paxt. (Orchidaceae). *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 4(Special Issue 1):22-28.
- Mei, T.A., M. Danial, M. Mahmood, and S. Subramaniam. 2012. Exquisite protocol of callus induction and protocorm-like bodies (PLBs) regeneration of *Dendrobium Sonia*-28. *Australian J. of Crop Science* 6(5):793-800.
- Meilasari, D. and Iriawati. 2016. Regeneration of plantlets through PLB (protocorm-like body) formation in *Phalaenopsis* 'Join Angle X Sogo Musadian'. *J. Math. Fund. Sci.* 48(3):204-212.
- Mose, W., A. Indrianto, A. Purwantoro, and E. Semiarti. 2017. The influence of thidiazuron on direct somatic embryo formation from various types of explant in *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume orchid. *Hayati Journal of Biosciences* 24:201-205.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Naing, A.H., J.D. Chung, and K.B. Lim. 2011. Plant regeneration through indirect somatic embryogenesis in *Coelogyne*

crinata orchid. *American Journal of Plant Sciences* 2:262-267.

OrchidRoots. "Spc_000042039_000460986". 26 Juni 2018. <https://goo.gl/MAe8AF>

OrchidRoots. "*Vanda dearei*". 26 Juni 2018. <https://goo.gl/dA7xXR>

Orchidspecies. "Hooker's *Papilionanthe*". 26 Juni 2018. <https://goo.gl/RRygpP>

Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5(2):51-58.

Purwanto, A.W. dan E. Semiarti. 2009. Pesona Kecantikan Anggrek *Vanda*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 51 hal.

Rianawati,S., A. Purwito, B. Marwoto, R. Kurniati, dan Suryanah. 2009. Embriogenesis somatik dari eksplan daun anggrek *Phalaenopsis* sp. L. *J. Agron. Indonesia* 37(3):240-248.

Rijanto, A. dan Hardjo, P.H. 2002. Perakaran dan aklimatisasi planlet *Rauwolfia serpentina* Benth. Prosiding Seminar Nasional XXII Tumbuhan Obat Indonesia, Purwokerto. Hal. 321-324.

Rv-Orchidworks. "*Vanda limbata*". 26 Juni 2018. <https://goo.gl/G1LpeF>

- Sahijram, L. and B. Bahadur. 2015. Somatic Embryogenesis In Plant Biology and Biotechnology Vol . II: Plant Genomics and Biotechnology (B. Bahadur *et al.* eds.). Springer, India. DOI 10.1007/978-81-322-2283-5_15.
- Samala, S., S. Te-chato, S. Yenchon, and K. Thammasiri. 2014. Protocorm-like body proliferation of *Grammatophyllum speciosum* through asymbiotic seed germination. *ScienceAsia* 40:379-383.
- Sebastianraj J., S.J. Britto, D.V. Kumar, J.P. Robinson, and P. Thangavel. 2014. Rapid propagation of *Vanda Testacea* (Lindl.) Rochb.F. -A highly medicinal value epiphytic orchid of India. *World Journal of Agricultural Science* 10(5):223-230.
- Shen, H., J.T. Chen, H.H. Chung, and W.C. Chang. 2018. Plant regeneration via direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Tolumnia Louise Elmore'Elsa'*. *Botanical Studies* 59:4: 1-7.
- Soe, K.W., K.T. Myint, A.H. Naing, and C.K. Kim. 2014. Optimization of efficient protocorm-like body (PLB) formation of *Phalaenopsis* and *Dendrobium* hybrids. *Current Research on Agriculture and Life science* 32(4):179-183.
- Tee, C.S., C.Q. Wong, X.L. Lam, and M. Maziah. 2010. A preliminary study of protocorm-like-bodies (PLBs)

induction using leaf explants of *Vanda* and *Dendrobium* orchids. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.* 18(1):189-191.

Teixeira da Silva, J.A. 2012. Jasmonic acid, but not salicylic acid, improves PLB formation of Hybrid *Cymbidium*. *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 22(2):187-192.

Tissuecultureandorchidologi. "Upaya Pelestarian dan Budidaya *Vanda tricolor*". 28 Juli 2018. <https://goo.gl/i6mQWE>

Wattimena, G.A. 1991. Bioteknologi Tanaman. PAU Bioteknologi, IPB. Bogor. 506 hal.



Saat ini teknik kultur jaringan sudah umum digunakan dalam perbanyakan bibit tanaman, khususnya tanaman yang secara generatif sulit dikembangbiakkan, seperti anggrek. Perbanyakan anggrek umumnya dengan mengecambahkan benih secara *in vitro*, sehingga diperoleh hasil yang tidak seragam. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka dilakukan perbanyakan anggrek dengan cara embriogenesis somatik. Bagian basal daun dari kultivar anggrek yang terpilih yaitu *Vanda tricolor* (Lindl.) var. *pallida* diinduksi membentuk kalus embriogenik, selanjutnya setiap sel kalus diinduksi membentuk embrio somatik, dan akhirnya berkecambah membentuk tanaman utuh. Zat pengatur tumbuh (ZPT) berpengaruh terhadap setiap tahapan induksi kalus embriogenik, embrio somatik, dan akhirnya membentuk tanaman utuh.



Dr. Ir. Popy Hartatie Hardjo, M.Si., menyelesaikan program sarjana di Fakultas Pertanian UPN 'Veteran' di Surabaya (1989), program magister Agronomi Fisiologi Tumbuhan di IPB, Bogor (1994), dan program doktor bidang MIPA Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi, Unair, Surabaya (2014). Ia adalah dosen tetap Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya sejak 2005, pernah menjabat Kepala Laboratorium Bioteknologi Tanaman (2014-2015), Wakil Dekan Fakultas Teknobiologi (2015-2019), dan anggota Senat Universitas Surabaya (2015-sekarang).



GRAHA ILMU

