

# **PERSILANGAN DIALEL LENGKAP DUA TETUA ANGGREK, PENGECAMBAHAN BIJI DAN PEMBESARAN *IN VITRO* SERTA AKLIMATISASI PLANLET *PHALAEENOPSIS***

**YIVISTA HANDAYANI MULKAN**

Mahasiswa Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Lampung  
Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro I Bandar Lampung 35145

## **ABSTRACT**

### **CRPSSING DIALEL TWO FULL ELDERS PHALAEENOPSIS ORCHID, SEEDLING AND THEIR ENLERGEMENT IN VITRO PHALENOPSIS PLANTLET ACCLIMATIZATION**

The study consis of four experiment that aimed to study (1). Crosses the full two dialel phalaeniopsis. (2). The influence of the basic medium and activated chargoal on phalaenopsis archidseed germination in vitro. (3). The influence of several kinds offertilizers Growmore addenda in the media, (4). The influence of BA or GA on the growth of plantlet during acclimatitiation.

Keywords : phalaenopsis orchids, BA, GA, Growmore, MS.

## **PENDAHULUAN**

Anggrek merupakan salah satu tanaman anggota famili Orchidaceae yang banyak menarik perhatian para penggemar tanaman hias. Salah satunya adalah genus anggrek *Phalaenopsis* yang mempunyai daya tarik unik. Keunikan bentuk, ukuran dan warna bunganya yang sangat bervariasi, ditunjang oleh daya tahan bunga yang relatif lama menjadi faktor tingginya nilai ekonomi *Phalaenopsis* sehingga memberikan prospek pasar yang cukup cerah dan meningkatkan minat para pemulia tanaman untuk menciptakan hibrida-hibrida baru (Direktorat Tanaman Hias, 2005). Menurut Yusnita (2010, *in press*), dihasilkannya klon dan hibrida anggrek baru merupakan salah satu kunci keberhasilan usaha di bidang peranggrekan. Salah satu cara untuk menghasilkan hibrida baru anggrek adalah dengan melakukan hibridisasi dilanjutkan dengan perbanyakan vegetatif hasil-hasil silangan yang mempunyai sifat-sifat unggul.

Anggrek *Phalaenopsis* spesies maupun hibrida dapat digunakan sebagai tetua persilangan untuk menghasilkan hibrida baru yang sesuai dengan keinginan pasar. Namun hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua pasangan anggrek *Phalaenopsis* dapat disilangkan dan tidak semua tanaman anggrek dapat diserbukkan sendiri dan menghasilkan biji. Oleh karena itu perlu diidentifikasi di antara koleksi tanaman anggrek, yang dapat digunakan sebagai tetua persilangan (Darmono, 2004).

Pengecambahan biji anggrek pada umumnya dilakukan secara *in vitro* atau secara asimbiotik. Hal ini karena biji anggrek sulit berkecambah secara alamiah akibat morfologi biji dan faktor lingkungan yang kurang mendukung (Darmono, 2004). Menurut Pierik 1987, sulitnya biji anggrek berkecambah secara alami disebabkan oleh ukuran bijinya yang sangat kecil (*dust seed*) dan hanya terdiri dari embrio dengan beberapa ratus sel. Biji anggrek yang berukuran sangat kecil hanya terdiri dari embrio yang terdiri dari  $\pm 30$  sel dengan mericarp (George, 1996). Biji anggrek tidak mempunyai cadangan makanan, jika terdapat cadangan makanan jumlahnya sangat sedikit. Tingkat keberhasilan perkecambahan biji anggrek secara alami sangat rendah. Karena ukurannya yang sangat kecil dan tidak memiliki cadangan makanan, maka untuk berkecambah secara alami diperlukan simbiosis dengan cendawan mikoriza (George, 1996, Arditti, 1992).

Formulasi media yang dapat digunakan untuk pengecambahan biji anggrek diantaranya Knudson C, Vacin dan Went, dan Murashige dan Skoog (1962) yang mengandung garam-garam mineral esensial untuk pertumbuhan kecambah biji anggrek (Yusnita, 2006, George, 1996; Khishor *et al*, 2005; Martin and Madaserry 2006). Keberhasilan pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* pada berbagai jenis media telah dilaporkan, misalnya Yusnita *et al*. (2006) dengan menggunakan media Vacin dan Went serta Utami *et al*. (2007) menggunakan media New Phalaenopsis (NP). Media Murashige dan Skoog (MS) *full strength* dapat juga digunakan untuk pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* karena mengandung unsur-unsur nutrisi yang lengkap untuk pertumbuhan biji anggrek. Media perkecambahan biji anggrek *in vitro* yang terdiri dari pupuk lengkap, mungkin dapat digunakan untuk mengecambahkan biji *Phalaenopsis* dengan efektifitas yang tidak kalah baik dibandingkan dengan formulasi lain.

Arang aktif merupakan bahan adenda dalam media kultur yang sering digunakan untuk tujuan tertentu, misalnya untuk pengakaran tunas atau untuk tujuan lain. Arang aktif dilaporkan berpengaruh positif untuk pertumbuhan *in vitro* seedling *Dendrobium*. Pengaruh penambahan arang aktif ke dalam media pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* perlu dipelajari. Arang aktif adalah bahan adenda untuk media kultur jaringan yang mempunyai sifat sebagai penyerap racun dll. dan menghitamkan media. Penambahan arang aktif dapat meningkatkan pertumbuhan seedling anggrek *Dendrobium* *in vitro* (Syaputri, 2009) dan meningkatkan pertumbuhan akar pada tunas anthurium *in vitro* (Sismanto, 2009). Penambahan arang aktif ke media dasar MS atau Growmore mungkin dapat meningkatkan perkecambahan biji dan pertumbuhan seedling *Phalaenopsis*.

Tahapan aklimatisasi merupakan faktor pembatas dalam mendapatkan bibit anggrek untuk tahap berikutnya hingga siap ditanam pot individu (untuk tanaman berbunga). Hal ini biasanya terjadi karena bibit anggrek yang dihasilkan secara *in vitro* umumnya peka terhadap kondisi lingkungan seperti cahaya, kelembaban, maupun serangan pathogen. Meskipun tahapan pemindahan plantlet cukup sulit, namun secara umum berbagai faktor dari dalam maupun faktor dari luar plantlet memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan plantlet di lingkungan *ex vitro*, di antaranya faktor dari luar plantlet yaitu pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) (Yusnita, 2004). Untuk meningkatkan pertumbuhan bibit selama diaklimatisasi

dapat diberikan zat pengatur tumbuh benziladenin (BA) dan giberellin (GA). Pemberian ZPT BA dan GA diharapkan dapat memicu atau merangsang pertumbuhan tunas bibit anggrek selama periode aklimatisasi.

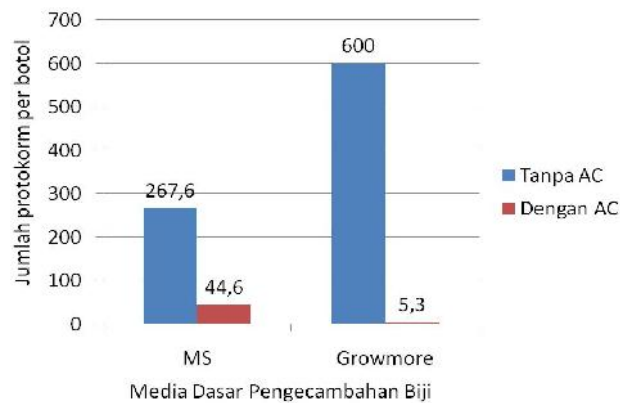
## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri 4 percobaan yaitu :

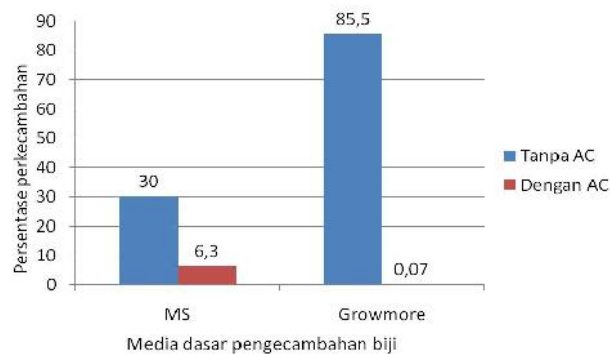
- I. Persilangan dialel lengkap dua tetua anggrek *Phalaenopsis*.
- II. Pengaruh media dasar dan arang aktif terhadap pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis in vitro*
- III. Pengaruh beberapa jenis adenda terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis in vitro*, dan
- IV. Pengaruh BA atau GA terhadap pertumbuhan planlet *Phalaenopsis* pada saat aklimatisasi.

Perbedaan nilai variabel yang diukur dianalisis ragam dan jika nyata diuji dengan uji BNT taraf 5%.

## HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN



Gambar 9. Jumlah Protokorm perbotol pada perkecambahan biji *Phalaenopsis* hibrida *in vitro* pada umur dua bulan setelah persemaian biji.



Gambar 10. Pengaruh media dasar dan arang aktif terhadap Jumlah perkecambahan biji *Phalaenopsis* hibrida *in vitro* pada umur 2 bulan setelah perkecambahan.

Tabel 5. Rekapitulasi analisis ragam pada Percobaan Pembesaran protokorm *Phalaenopsis* menjadi *seedling* pada media dasar MS atau Growmore dengan atau tanpa arang aktif.

Variabel	Arang	Media	Interaksi
Tinggi tanaman	*	tn	tn
Jumlah daun	tn	tn	tn
Jumlah akar	*	tn	tn
Panjang akar	*	tn	tn
Bobot Tanaman	*	tn	tn

Keterangan:

\* : nyata pada  $\alpha = 0,05$

tn : tidak nyata pada  $\alpha = 0,05$

Tabel 6. Hasil analisis ragam.

Variabel pengamatan	Perlakuan BA atau GA
Jumlah daun	n
Diameter daun	**
Jumlah akar	**
Bobot segar tanaman	*

<sup>ns</sup> menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 0.05$

\* menunjukkan berbeda nyata pada taraf  $\alpha = 0.05$

\*\* menunjukkan berbeda nyata pada  $\alpha = 0.05$  dan  $\alpha = 0.01$

Pembahasan

***Percobaan I: Persilangan dialel lengkap dua tetua angrek Phalaenopsis.***

Persilangan *dialel lengkap* yang dilakukan pada kedua tetua angrek *Phalaenopsis* semua menghasilkan polong buah berbiji. Perbandingan dari 4 persilangan 1:2:3:3 sehingga terdapat empat persilangan yaitu P1 x P1, P1 x P2, P2 x P1 dan P2 x P2. Tetua yang disebutkan pertama adalah tetua betina, sedangkan yang disebutkan berikutnya adalah tetua jantan. Semua tetua yang disilangkan dengan *dialel lengkap* adalah kompatibel.

Dugaan tentang tetua *Phalaenopsis* tidak menghasilkan polong buah berbiji atau tidak kompatibel disebabkan karena terbatasnya kuntum bunga sebagai bahan persilangan dan kondisi kuntum bunga masih dalam keadaan siap atau tidak untuk diserbuki sehingga hasil persilangan dialel lengkap ada yang tidak menghasilkan polong berbiji atau tidak kompatibel. Faktor kesesuaian (*compatibility*) juga menentukan faktor keberhasilan dalam proses penyerbukan.

Pemilihan tetua tentunya disesuaikan dengan hasil yang diinginkan dalam suatu proses persilangan. Secara garis besar tanaman induk harus sehat, yang dicirikan dengan penampilan fisik segar, hijau, tumbuh tegak, kuat dan kokoh.

Perkawinan suatu tanaman normal akan menghasilkan tanaman baru dengan kromosom genap/  $2n$ ., sedangkan apabila kromosomnya berjumlah  $3n$  atau triploid tetua anggrek tersebut mengalami fertilisasi. Tetua yang kromosomnya yang tidak genap akan menghasilkan buah yang cepat rontok adapun yang mempunyai jumlah kromosom 4 menghasilkan buah yang besar, sedangkan yang kromosomnya  $6n$  dan  $8n$  justru menghasilkan bunga anggrek yang tidak bagus. Sifat dari tanaman anggrek ditentukan oleh banyak gen sehingga perlu dilakukan persilangan crossing dan resiprokal atau dialel lengkap, agar didapat variasi gen yang besar ditimbulkan pada setiap persilangan.

Untuk dapat menghasilkan persilangan yang diinginkan, maka perlu diketahui sifat-sifat yang dimiliki oleh tetuanya. Sifat-sifat ini ada yang bersifat dominan (sifat yang kuat dan menonjol) dan sifat-sifat yang tidak nampak (resesif, misalnya keawetan bungan dan proses pembungaannya. Sifat-sifat yang diturunkan oleh tetua dari hasil persilangan F1 (keturunan pertama) dapat bersifat dominan, resesif ataupun dominan tidak sempurna yaitu mempunyai sifat antara kedua tetua (*parental*).

### ***Percobaan II. Pengaruh media dasar tanpa dan dengan arang aktif terhadap Perkecambahan angrek Phalaenopsis in vitro.***

Hasil penelitian ini Pengaruh arang aktif pada perkecambahan anggrek Phalaenopsis adalah media Growmore tanpa arang aktif merupakan media yang lebih baik daripada media MS untuk pengecambahan biji *Phalaenopsis*, dan penambahan arang aktif ke dalam kedua media dasar tersebut justru menekan pengecambahan biji. Pada media yang mengandung arang aktif, jumlah protokorm atau biji yang berkecambah hanya 5,3 pada media Growmore dan 44,6 pada media MS, namun kedua media tersebut tanpa penambahan arang aktif menghasilkan 600 protokorm pada Growmore dan 267 protokorm pada media MS.

Menurut George (1996), arang aktif merupakan arang yang sudah dipanaskan selama beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara panas. Arang aktif memiliki sifat adsorpsi yang sangat kuat. Mengadsorpsi persenyawaan-persenyawaan toksik yang terdapat dalam media yang dapat menghambat pertumbuhan kultur terutama pesenyawaan-persenyawaan fenolik dari jaringan-jaringan terluka waktu inisiasi. Arang aktif juga memiliki pengaruh dalam mengadsorpsi persenyawaan 5-hidroksimetilfurfural yang diduga terbentuk dari gula yang berada dalam larutan asam lemah dan mengalami pemanasan tekanan tinggi dan mengadsorpsi zat pengatur tumbuh hingga mencegah pertumbuhan (Nitsch et al, 1968 yang dikutip oleh George, 1996).

#### 4.2.2 Percobaan III. Pengaruh beberapa media MS dan Growmore terhadap pertumbuhan seedling *Phalaenopsis in vitro*.

Hasil percobaan pengaruh media MS dan Grwmore terhadap perkecambah anggrek *Phalaenopsis in vitro* terlihat bahwa media (MS + AC) dan (Growmore + AC) secara umum lebih baik dibandingkan media (MS - AC) dan (Growmore - AC) untuk *seedling Phalaenopsis*. Pada variabel tinggi tanaman, jumlah akar panjang akar dan bobot tanaman berpengaruh nyata sedangkan pada jumlah daun tidak berpengaruh nyata.

Growmore adalah salah satu jenis pupuk daun anorganik mengandung hara makro (N, P, K, Ca, Mg dan S) maupun hara mikro (Cu, Mn, Zn, B) dalam jumlah yang cukup untuk kebutuhan pertumbuhan tanaman. Menurut Steward *et al.* (1952); Burnet dan Ibrahim (1973); Rangan (1974) yang dikutip dalam George (1996), penambahan 10-20% air kelapa ke dalam media kultur tanpa atau mengandung zat pengatur pertumbuhan cukup efektif untuk meningkatkan pertumbuhan eksplan *in vitro*. Selain sejumlah jenis nutrisi organik seperti *difenil urea*, berbagai asam amino, beberapa vitamin, gula serta gula alkohol, air kelapa juga mengandung zat pengatur pertumbuhan seperti auksin dan sitokinin yang keduanya dapat saling bersinergi dalam aksinya mempengaruhi pertumbuhan kultur *in vitro* (George, 1996).

Tinggi tanaman, jumlah akar, panjang akar dan bobot segar tanaman di peroleh pada perlakuan media MS dan Growmore atau media (MS + AC) dan (Growmore + AC) masing masing yaitu tinggi tanaman mengalami peningkatan sebesar 3,08 cm, jumlah akar mengalami peningkatan sebesar 5,7 helai, panjang akar 3,25 cm dan bobot segar tanaman mengalami peningkatan sebesar 3,25 gr. Hasil ini mengindikasikan bahwa pada media (MS + AC) dan (Growmore + AC) terbukti sangat baik untuk disajikan sebagai media alternatif untuk perbesaran *seedling Phalaenopsis*. Menurut George (1996), arang aktif merupakan arang yang sudah dipanaskan selama beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara panas. Arang aktif memiliki sifat adsorpsi yang sangat kuat. Arang aktif dapat ditambahkan pada berbagai tahap perkembangan. Bahan ini dapat ditambahkan pada media inisiasi, media regenerasi, atau media perakaran. Sebelumnya, keberhasilan penggunaan pupuk daun Growmore 2 g/l dalam media kultur untuk pengecambahan dan pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis*, juga telah dilaporkan oleh Ramadiana *et al.* (2008); Soedjono (2005).

#### 4.2.4 Percobaan IV: Respon pertumbuhan dan perkembangan plantlet anggrek *Phalaenopsis* terhadap pemberian BA dan GA selama masa aklimatisasi.

Pengaruh penyemprotan larutan mengandung zat pengatur pertumbuhan BA secara umum memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* selama masa aklimatisasi. Perlakuan zat pengatur pertumbuhan meningkatkan diameter daun, bobot segar tanaman, dan persen tumbuh tetapi jumlah daun tidak berbeda nyata. Hasil ini sejalan dengan penelitian Daza dan Chamber (1993) yang dikutip dalam George (1996) bahwa untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* selama diaklimatisasi dapat diaplikasikan zat pengatur

pertumbuhan tertentu. Menurut Yusnita (2004), secara umum zat pengatur pertumbuhan digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman.

Respon *plantlet* berbeda terhadap pemberian BA atau GA. Spesifikasi respon *plantlet* terhadap jenis zat pengatur pertumbuhan terlihat dari masing-masing peubah yang diamati. Perlakuan BA masing-masing menghasilkan nilai tertinggi tanaman, diameter daun, jumlah akar bobot segar tanaman.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa BA dan GA berperanan sesuai dengan fungsinya dalam memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan *plantlet*. Selain dapat menyebabkan jaringan atau organ aktif menjadi sink' penyedia nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, BA berperanan diantaranya menstimulasi pembelahan sel dan morfogenesis; menstimulasi pertumbuhan tunas lateral atau adventif; menstimulasi pembesaran; dan memicu beberapa tahapan perkembangan akar dan daun. Peranan GA untuk menstimulasi perpanjangan organ (daun atau batang) (Hitchcock dan Zimmerman, 1939; Heddy, 1996; George, 1996).

Aplikasi BA atau GA dengan merupakan perlakuan yang menghasilkan peningkatan diameter daun, jumlah akar, bobot basah, *plantlet* selama masa aklimatisasi. Sesuai pendapat Dwijoseputro (1990) bahwa manfaat zat pengatur tumbuh tergantung konsentrasi yang diberikan. Jika konsentrasi zat pengatur tumbuh tepat akan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam waktu relatif singkat. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi akan menghambat bahkan meracuni dan mematikan tanaman

Dari penampilan bibit hasil perbesaran *plantlet* selama masa aklimatisasi terlihat bahwa perlakuan BA menunjukkan bibit anggrek dengan pertumbuhan secara proforsional lebih baik daripada perlakuan GA. Dengan demikian, BA dapat dianggap sebagai jenis jenis zat pengatur pertumbuhan yang efektif untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* anggrek *Phalaenopsis*. Selama masa aklimatisasi. Menurut Yasman dan Smits (1988), meskipun pengaruh zat pengatur pertumbuhan sulit dimengerti, namun dapat menghasilkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang optimal.

## KESIMPULAN

Berdasarkan data hasil dan pembahasan dari percobaan 1, 2,3 dan 4 yang telah dikemukakan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut

1. Semua tetua anggrek *phalaenopsis* yang disilangkan secara dialel lengkap kompatibel yang ditunjukkan oleh terbentuknya polong buah pada setiap pasangan yang disilangkan atau silang dalam.
2. Media Growmore merupakan media yang lebih baik daripada media MS untuk perkecambahan biji *Phalaenopsis*.
3. Pemberian arang aktif kedalam media menghambat pertumbuhan biji *Phalaenopsis*.

4. Pada pembesaran seedling *Phalaenopsis* in vitro, jenis media dasar (MS atau Growmore) tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tetapi pemberian arang aktif meningkatkan pertumbuhan seedling yang ditunjukkan oleh peningkatan tinggi tanaman, jumlah akar, panjang akar dan bobot basah tanaman. Pemberian BA kepada planlet *Phalaenopsis* yang di aklimatisasi meningkatkan pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan oleh peningkatan diameter daun, jumlah akar dan bobot tanaman, sedangkan pemberian GA hanya meningkatkan jumlah akar tetapi tidak berpengaruh terhadap diameter daun dan bobot basah tanaman

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aktar, S., K.M. Nasiruddin, & K. Hossain. 2008. Effects of Different Media and Organic Additives Interaction on *In Vitro* Regeneration of *Dendrobium* Orchid. *Agric Rural Dev.* 6(1:2): 69-74.
- Anjum, S., M. Zia and M.F. Chaudhary. 2006. Investigations of Different Strategies for High Frequency Regeneration of *Dendrobium malones* 'Victory'. *African Journal of Biotechnology.* 5 (19): 1738-1743.
- Bhalerao, R.P., J. Eklof, K. Ljung, A. Marchant, M. Bennett, and G. Sanberg. 2002. Shoot-derived Auxin is Essential for Early Lateral Root Emergence in *Arabidopsis* Seedling. *Plant Journal.* 29: 325-332.
- Chase, M.W., K.M. Cameron, R.I. Barrell, and J.V. Freudenstein. 2003. DNA Data and Orchidaceae Systematic: A New Phylogenetic Classification. In Dixo, K.W., S.P. Kell, R.L/ Barrett and P.J. Cribb (Eds). *Orchid Conservation.* Natural History. Sabah. Pp 69-89.
- Damayanti, F. 2006. Pembentukan Beberapa Hibrida Anggrek serta Pengaruh Beberapa Media Perkecambahan dan Media Perbanyakan Cepat secara In Vitro pada Beberapa Anggrek Hibrida. Laporan Akhir Program Hibah Kompetisi. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Davies, P.J. 1995. *Plant Hormones : Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.* Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Dendrobium. 2009. <http://id.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 24 Oktober 2009.
- Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2009. Anggrek. <http://www.ristek.go.id>. Diakses pada bulan oktober 2009).
- Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2005. Road Map Pascapanen dan Pemasaran Anggrek 2005-2010. <http://agribisnis.deptan.go.id/>. Diakses pada tanggal 24 Oktober 2009.



- Dwidjoseputro, D. 1990. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Gramedia. Jakarta
- Ernst, R. 1994. Effects of Thidiazuron on In Vitro Propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* (Orchidaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 39:273-275
- Sandra, E. 2004. *Kultur jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 80 hlm.
- Heddy, S. 1996. *Hormon Tumbuhan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Hitchcock, A.E. and P.W. Zimmerman. 1936. *Effect of growth substances on the rooting response of cutting*. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 8:63-79.
- Homma, Y. and T. Asahira. 1985. New Means of *Phalaenopsis* Propagation with Internodal Sections of Flower Stalks. *Japan. Soc. Hort. Sci.* 54: 379–98.
- Indani. 2007. Pengaruh Pepton dan Media Dasar Terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium* Hibrida *In Vitro*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. Tidak dipublikasikan.
- Intuwong, O. and Y. Sagawa. 1974. Clonal Propagation of *Phalaenopsis* by Shoot–tip Culture. *American Orchid Soc. Bull.* 43: 893–5.
- Juh Shiau, Y. S.M. Nalawade, C. Hsia, V. Mulabagal, and H. Tsay. 2005. In Vitro Propagation of The Chinese Medicinal Plant, *Dendrobium Candidum* Wall. Ex Lindl from Axenic Nodal Segment. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant.* 41(5):666-670.
- Plant Growth Regulator. 2009. <http://styx.nsci.plu.edu/~dhansen/hormones2>. Diakses pada tanggal 13 Nopember 2009.
- Puchooa, D. 2004. Comparison of Different Culture Media for the *In Vitro* Culture of *Dendrobium* (Orchidaceae). *Agriculture & Biology*. <http://www.ijab.org>. Diakses pada tanggal 10 Nopember 2009.
- Martin, KP and J Madassery. 2006. Rapid *In Vitro* Propagation of *Dendrobium* Hybrids through Direct Shoot Formation from Foliar Explants, and Protocorm-like bodies. *Scientia Horticulturae* xxx (xxx-xxx)- [www.elsevier.com/locate/scihorti](http://www.elsevier.com/locate/scihorti). Diakses pada tanggal 22 September 2009.
- Miceli, F.A.G., T.A. Talavera, M.A. Archila, M.S. Figueroa, L.A. Anaya, M.L. Arias, Hernandez, and L. Dendooven. 2008. Acclimatization of Micropropagated Orchid *Guarianthe skinnerii* Inoculated with *Trichoderma harzianum*. *Plant Sciencs.* 7(3): 327-330.

- Nayak, N.R., S Patnak and SP. Rath. 1997. Direct Shoot Regeneration from Foliar Explants of An Epiphytic Orchid *Acampe praemosa* (Roxb.) Blatter and Mc Cann. *Plant Cell Reports* 16: 583-586.
- Pierik, R.L.M., 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Dordrecht/Boston/Lancaster. Martinus Nijhoff Publishers.
- Ramadiana, S. Agus P.S., Yusnita, dan D. Hapsoro. 2008. Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media dasar dan Pepton terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium* Hibrida Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung*. Bandar Lampung. 17-18 November 2008.
- Rentoul, JN. 2003. *Growing Orchids, Complete and Unbridged*. Singapore. Publishing Solutions. 790pp.
- Tryptone. 2010. <http://www.neogen.com/acumedia/pdf>. Diakses pada tanggal 24 April 2010.
- Saiprasad and R. Polisetty. 2003. Propagation of Three Orchid Genera Using Encapsulated Protocorm-like bodies. *In vitro celluler & Developmental Biology-Plant*. 39(1): 42-48.
- Sagawa, Y. 1991. *Clonal Propagation of Orchids. Plant Tissue Culture Manual CI:1-7*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Sandra, E., 2004. *Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 80 hlm.
- Sheelavanthmath, B.P. Hema, E.J. Hahn, and K.Y. Paek<sup>2</sup> 2005. High Frequency of Protocorm like bodies (PLBs) Induction and Plant Regeneration from Protocorm and Leaf Sections of *Aerides crispum* . *Scientia Horticulturae*. 106(3): 395-401 <http://www.sciencedirect.com/>. Diakses pada tanggal 28 Oktober 2009.
- Sim, G.E., Chiang S L., Chong J.G. 2007. High Frequency Early In Vitro Flowering of *Dendrobium Madame Thong-In* (Orchidaceae). *Plant Cell Report*. Springer. 11 pp.
- Stern, K.R., S. Jansky, and J.E. Bidlack. 2003. *Introductory Plant Biology*. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York. Amerika.
- Soedjono, S. 2005. Pengaruh beberapa pupuk daun dalam media agar terhadap pertumbuhan meriklon anggrek *Dendrobium Walter Oumae*. Puslitbang Hortikultura.
- Syaputri, G. 2009. Pengaruh Arang Aktif dan Bubur Pisang Ambon pada Pembesaran *Seedling* *Dendrobium* Hibrida *In Vitro*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. Tidak dipublikasikan.

- Untari, R. D. Puspitaningtyas. 2006. The Effect of Some Organic Compounds and NAA Application on The *In Vitro* Growth of The Black Orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Biodiversita. 7(3): 344-348.
- Utami, E.D., I. Sumardi, Taryono, dan E. Semiarti. 2007. Pengaruh  $\alpha$ -Naphthaleneacetic Acid (NAA) Terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Biodiversita. 8(4): 295-299.
- Vyas, S., S. Guha, M. Bhattacharya, and I. U. Rao. 2009. Rapid Regeneration of Plants of *Dendrobium Lituiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by Using Banana Extract. Scientia Horticulturae. 121 (1): 32-37.
- Yasman, I dan W.T.M. Smits. 1988. *Metode Pembuatan Stek Dipterocarpaceae*. Balai Penelitian Kehutanan. Samarinda
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan Cara memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 103 hlm.
- Wang, P.J. and L.C. Huang. 2008. Beneficial Effects of Activated Charcoal on Plant Tissue and Organ Cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. Springer Berlin. 12(3): 260-262.
- Wetherell, D. F. 1982. *Introduction to In Vitro Propagation*. Avery Publishing Group Inc. Wayne. New Jersey.
- Warganegara, H.A., 2009. Pengaruh Jenis Media Dasar dan Arang Aktif terhadap Pertumbuhan Anthurium Wave of Love *In Vitro*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. Tidak dipublikasikan.
- Widiastoety, D. 2001. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Penebar Swadaya. Jakarta. 77 hlm.