

**STUDI PERKECAMBAHAN BIJI, PERTUMBUHAN
SEEDLING DAN AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK
Phalaenopsis HIBRIDA**

(Tesis)

Oleh

NUR AFLAMARA



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER AGRONOMI
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

STUDI PERKECAMBAHAN BIJI, PERTUMBUHAN SEEDLING DAN AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK *Phalaenopsis* HIBRIDA

NUR AFLAMARA

Phalaenopsis merupakan satu genus anggrek (anggota famili Orchidaceae) yang sangat populer dan sangat menjanjikan dari segi bisnis, pangsa pasar maupun nilai ekonominya, sehingga memberi peluang yang baik bagi pelaku usaha untuk mengembangkan usaha anggrek. Dihasilkannya *Phalaenopsis* hibrida unggul baru melalui pemuliaan tanaman secara terus-menerus merupakan salah satu kunci keberhasilan usaha peranggrecan nasional, karena selera konsumen yang selalu berubah. Salah satu kendala yang sering dihadapi oleh para penganggrec di Indonesia adalah lemahnya penguasaan teknologi pengecambahan biji, pembesaran seedling dan aklimatisasi planlet. Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan yang bertujuan untuk mempelajari pengecambahan biji, pertumbuhan seedling *in vitro*, serta aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida. Pelaksanaan penelitian ini diawali dengan pemilihan tanaman induk, persilangan dialel lengkap dua tetua *Phalaenopsis* hibrida, yaitu (*Phalaenopsis* berbunga pink muda dengan labelum merah tua x *Phalaenopsis* berbunga ungu matang dengan labelum merah tua) dilanjutkan dengan pemeliharaan tanaman induk hingga polong buah masak hijau. Polong buah berbiji digunakan sebagai bahan untuk percobaan pengecambahan biji dan seedling dari hasil pertumbuhan protokorm digunakan untuk bahan percobaan pertumbuhan seedling *in vitro*. Planlet *Phalaenopsis* hibrida dari nursery digunakan untuk percobaan aklimatisasi planlet. Semua aktivitas penelitian tersebut dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman mulai dari April 2014 hingga Juni 2015.

Ketiga percobaan dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang perlakuannya disusun secara faktorial (2x3). Setiap kombinasi perlakuan diulang tiga kali. Data hasil pengamatan dianalisis ragam dan jika terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan pemisahan nilai tengah dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Percobaan 1 bertujuan untuk mempelajari pengaruh media dasar (MS atau Growmore biru 2,5 g/l) dan penambahan kinetin (0, 0,5, 1,0) terhadap pengecambahan biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* hibrida *in vitro*. Setelah 2 bulan sejak biji disemai dilakukan pengamatan banyaknya biji yang berkecambah dengan cara memberi skor pada rentang 1 (biji yang berkecambah sedikit), 2 (biji yang berkecambah agak banyak), 3 (biji yang berkecambah banyak), hingga 4 (biji yang berkecambah sangat banyak). Pertumbuhan protokorm diukur dengan menghitung persentase protokorm yang sudah membentuk primordia daun, dan

bobot 100 protokorm. Percobaan II bertujuan untuk mempelajari pengaruh media dasar (MS atau Growmore biru 2,5 g/l) dan kinetin (0, 0,5, 1,0 mg/l) terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*. Tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, bobot segar akar, dan bobot segar tanaman diamati setelah 3 (tiga) bulan dikulturkan. Percobaan III bertujuan untuk mempelajari pengaruh media aklimatisasi (serutan kayu gergaji atau serat sabut kelapa) dan zat pengatur tumbuh benziladenin (BA) atau *gibberelic acid* (GA), masing-masing 30 mg/l terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida. Persentase keberhasilan aklimatisasi, jumlah, panjang, dan diameter daun, jumlah dan panjang akar, serta bobot segar planlet diamati pada umur empat bulan setelah planlet berada di kondisi *ex vitro*.

Hasil percobaan I menunjukkan bahwa pada umur dua bulan setelah biji disemai, banyaknya biji yang berkecambah secara signifikan dipengaruhi oleh media dasar, dan konsentrasi kinetin, namun tidak terdapat interaksi antar kedua faktor. Media Growmore biru 2,5 g/l menghasilkan biji berkecambah yang lebih banyak daripada media MS. Demikian juga, penambahan 1 mg/l kinetin meningkatkan banyaknya biji berkecambah, sedangkan penambahan 0,5 mg/l kinetin tidak berpengaruh. Walaupun demikian, untuk pertumbuhan protokorm, tanpa kinetin media MS lebih baik daripada media Growmore karena menghasilkan persentase protokorm yang sudah membentuk primordia daun dan bobot 100 protokorm tertinggi. Media Growmore yang ditambah dengan 0,5 atau 1 mg/l kinetin menghasilkan persen protokorm berprimordia daun cukup tinggi. Oleh karena itu, media Growmore + 1 mg/l kinetin dapat digunakan untuk penecambahan biji *Phalaenopsis* hibrida sebagai alternatif yang mudah dan murah untuk menggantikan media MS.

Hasil percobaan II menunjukkan bahwa setelah tiga bulan di dalam kultur *in vitro*, pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in vitro* secara umum tidak dipengaruhi media dasar kecuali jumlah tunas dan panjang akar, dimana media Growmore menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak dan akar lebih panjang dibandingkan dengan media MS. Penambahan kinetin ke dalam media MS maupun Growmore maupun interaksi antar kedua faktor juga tidak berpengaruh terhadap semua variabel pertumbuhan *seedling* yang diamati.

Hasil percobaan III menunjukkan bahwa pada umur empat bulan sejak planlet dikeluarkan dari botol, baik jenis media, penambahan ZPT dan interaksi antara kedua tidak berpengaruh nyata terhadap persentase keberhasilan aklimatisasi, jumlah daun, panjang akar dan bobot segar planlet. Media serutan kayu gergaji maupun serat sabut kelapa, baik dengan maupun tanpa BA atau GA, semuanya dapat digunakan untuk aklimatisasi anggrek *Phalaenopsis* hibrida karena menghasilkan keberhasilan aklimatisasi 100%, namun media serutan kayu gergaji sedikit lebih baik daripada serat sabut kelapa karena menghasilkan diameter daun lebih tinggi.

Kata kunci: *Phalaenopsis* hibrida, media dasar, kinetin, penecambahan biji, *in vitro*, pertumbuhan *seedling*, aklimatisasi planlet, serutan kayu gergaji, serat sabut kelapa, BA, GA.

ABSTRACT

STUDY OF *IN VITRO* SEED GERMINATION, SEEDLING GROWTH AND PLANTLET ACCLIMATIZATION IN HYBRID *Phalaenopsis*

By

NUR AFLAMARA

Phalaenopsis is a worldwide popular genus in Orchidaceae which has an economically promising prospect due to its beauty and long lasting vase life. Continuous production of new hybrids of *Phalaenopsis* is needed to meet consumers' taste changes. Among the technical constraints which are experienced by orchid breeder in Indonesia are low seed germination and seedling growth, and variable success of plantlet acclimatization. This research consisted of three studies in the breeding activities of *Phalaenopsis*, namely: (1) Effects of basal media and kinetin concentrations on *in vitro* seed germination and protocorm growth; (2) Effects of basal media and kinetin concentrations on *in vitro* seedling growth; and (3) Effects of potting media and growth regulators application on survival and plantlet growth during acclimatization. Two of flowering hybrid *Phalaenopsis* plants (light pink petal with dark red labellum x purple petals with dark red labellum) were selected as parent plants for diallel mating to produce green mature seedpods which were subsequently used for the seed germination experiment. Seedlings resulted from the growing protocorms from the first experiment were used as plant materials in the second experiment. Parallel with the first and the second experiments, the acclimatization study was conducted using *Phalaenopsis* plantlets obtained from a nursery in Malang, East Java. All of the steps mention above were conducted in Plant Science Laboratory, Faculty of Agriculture, Lampung University, Indonesia since April 2014 to June 2015.

Each experiment was conducted using a completely randomized design with three replicates, namely : (1) Effects of basal medium (MS vs 2.5 g/l Growmore Compound Fertilizer, NPK 32:10:10) and kinetin concentrations (0, 0.5 and 1mg/l) on *in vitro Phalaneopsis* seed germination; (2) Effects of basal medium (MS vs 2.5 g/l Growmore compound Fertilizer, NPK 32:10:10) and kinetin concentrations (0, 0.5 and 1mg/l) on *in vitro* seedling growth; and (3) Effects of media (saw shredded woods vs coconut husk fibre) and application of growth regulators (30 mg/l benzyladenine (BA) or 30 mg/l of gibberelic acid (GA) on survival and growth of *Phalaenopsis* plantlets. Scoring of the amount of seed germinated, percent of protocorms with leaf primordia, and fresh weight of 100 protocorms were recorded at two months after seed sowing. In the study of seedling growth, length and width of leaves, number of leaves, number of roots,

length of longest roots and seedling fresh weight were recorded after the seedlings were three months in culture. In the study of plantlet acclimatization, plantlet survival, number of leaves, length and width of leaves, number and length of roots and plantlet fresh weights were recorded at four months after the placement of plantlets in *ex vitro* condition. All data were subjected to analysis of variance, if there be any significant difference among treatments, mean separations were calculated using least significant difference (LSD) at $\alpha=0.05$.

Results the first experiment showed that at two months after seed sowing, the amount of seed germinated was significantly affected by both basal media and addition of kinetin, but not the interaction between the two factors. Growmore medium resulted in much higher amount of seeds germinated than those in MS medium. Furthermore, addition of 1 mg/l kinetin also increased the amount of seeds germinated. However, for the growth of protocorms, which indicated by the proportion of protocorms with leaf primordia compared to globular ones and fresh weight of 100 protocorms, MS medium devoid kinetin was better than Growmore or other treatments assigned. Since the growth of protocorms produced by Growmore supplemented with 1 mg/l kinetin was still good for further growth, it was concluded that 2.5 g/l Growmore supplemented with 1 mg/l kinetin was the best medium for hybrid *Phalaenopsis* seed germination.

Results of the second study showed that after three months in culture, *Phalaenopsis* seedlings growth in general was not affected by basal media tested, with the exception that Growmore medium resulted in higher number of shoots and longer roots compared to MS medium. In addition, neither addition of kinetin in the medium nor interaction between the two factors influenced *Phalaenopsis* seedling growth, as shown by no significant difference in all variables observed. Therefore, it could be concluded that 2.5 g/l Growmore could be used as a good alternative to MS medium for *Phalaenopsis* seedling growth.

Results of the third study showed that after four months in *ex vitro* condition, neither the potting media (saw-shredded woods or coconut husk fibre) nor growth regulators added (BA or GA), nor the interaction between the two factors affected plantlet survival and plant growth as shown by no difference in the number of leaves, length of roots, and fresh weight of plantlets, with the exception that the saw-shredded woods produced more number of leaves compared to or coconut husk fibre. Therefore, both media tested, with or without application of BA or GA were suitable for *Phalaenopsis* plantlet acclimatization, since all treatments resulted in 100 % plantlet survival with almost the same growth.

Key Words: Hybrid *Phalaenopsis*, basal media, kinetin, *in vitro*, seed germination, seedling growth, plantlet acclimatization, saw-shredded woods, coconut husk fibre, benzyladenine, gibberelic acid.

**STUDI PERKECAMBAHAN BIJI, PERTUMBUHAN SEEDLING DAN
AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK
Phalaenopsis HIBRIDA**

Oleh

,

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS

Pada

Program Studi Pasca Sarjana Magister Agronomi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER AGRONOMI
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Tesis : **STUDI PERKECAMBAHAN BIJI,
PERTUMBUHAN SEEDLING DAN
AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK
*Phalaenopsis Hibrida***

Nama Mahasiswa : **Nur Aflamara**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1324011010**

Program Studi : **Magister Agronomi**

Jurusan : **Agroteknologi**

Fakultas : **Pertanian**



MENYETUJUI
1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.
NIP 19610803 198603 2 002

Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.
NIP 19610402 198603 1 003

2. Ketua Program Studi Magister Agronomi

Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.
NIP 19610803 198603 2 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.

Anggota : Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.

Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc.

2. Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Iryan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 19611020 198603 1 002

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.

NIP. 19530528 198103 1 002

4. Tanggal Lulus Ujian : 13 Juni 2016

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul "STUDI PERKECAMBAHAN BIJI, PERTUMBUHAN *SEEDLING* DAN AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK *Phalaenopsis* HIBRIDA" adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Pembimbing penulisan tesis ini berhak mempublikasikan sebagian atau seluruh isi tesis ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Unila.

Apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya, dan saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 20 Juni 2016

Pembuat Pernyataan,



Nur Aflamara
NPM 1324011010

RIWAYAT HIDUP

Penulis di lahirkan di Talang padang pada tanggal 11 April 1973 sebagai anak pertama dari enam bersaudara pasangan Drs. H. Abu Makruf Harun dan Hj. Amisah.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar Negeri 1 Banding Agung pada tahun 1984, kemudian melanjutkan sekolah di Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama Negeri 1 Talang Padang pada tahun 1988, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 3 Bandar Lampung pada tahun 1991. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Politeknik Negeri Lampung pada Program Studi Budidaya Tanaman Pangan dan lulus tahun 1994. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan pada Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian di Universita Sumatera Utara dan lulus pada tahun 1997. Penulis melanjutkan pendidikan di Pascasarjana Universitas Lampung pada Program Studi Magister Agronomi pada tahun 2013.

Sejak tahun 2009 penulis bekerja pada Instansi Pemerintah sebagai THL-TBPP di Kecamatan Talang padang Kabupaten Tanggamus.

Alhamdulillahillobbi alamin....

Puji syukur kepada Allah SWT, atas limpahan berkat dan rahmat-Nya jualah sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Kupersembahkan karya kecil penuh perjuangan ini sebagai tanda cinta dan baktiku Untuk Bapak dan Emak tercinta, serta adik-adikku yang telah melimpahkan kasih sayang, pengorbanan, dorongan, serta doa agar anak-anaknya senantiasa diberikan kemudahan dalam menjalani kehidupan dan meraih keberhasilan.

Dan untuk Almamaterku Universitas Lampung

Tugas manusia sebagai khalifah Allah SWT di Bumi akan sukses jikalau memiliki ilmu pengetahuan. Sehingga mengetahui dan memahami segala sesuatu yang bermanfaat untuk kehidupannya dan ini ditegaskan dalam surat Al-Baqarah (2): 30-31

Berusahalah untuk tidak menjadi manusia yang berhasil, tetapi berusahalah untuk menjadi manusia yang berguna. (Albert Einstein)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian, dan menyusun tesis ini. Penulis banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc., selaku pembimbing pertama dan Ketua Program Studi Magister Agronomi yang telah memberikan ide penelitian, gagasan, bimbingan, bantuan, saran, perhatian, masukan dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat melakukan penelitian dan menyelesaikan penulisan tesis ini.
2. Bapak Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc., selaku pembimbing kedua dan dosen pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran, motivasi dan bantuannya selama penelitian penelitian dan penyelesaian penulisan tesis ini.
3. Bapak Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc., selaku pembahas dan penguji yang telah memberikan saran, masukan, kritik, dan motivasi untuk penulisan tesis ini.
4. Keluarga besar laboratorium Kultur Jaringan Yane, Desi, Budi, Defika, Resti, Wiwik, Linda, Yenni, Yanti dan fani atas perhatian dan kerjasamanya.
5. Sahabat seperjuangan Leni Marlina dan Endang Sri Ambarwati, atas persahabatn, bantuan, dan kerjasamanya Dan teman-teman Program Studi

Magister Agronomi 2013: Sri Nurmayanti, Anisa Ayu Fitri, Reny Mita Sari, Sri Haryani, Meliya Indriyati, Dudy Arfian, Heri Hendarto, dan Iskandar Zulkarnain, atas persahabatan, bantuan, motivasi dan kebersamaannya selama perkuliahan.

6. Kedua orang tua penulis: Bapak dan Emak atas doa, kasih sayang, perjuangan, semangat, motivasi, pengorbanan, perhatian, dan pengertian dalam setiap langkah penulis untuk meraih keberhasilan.
7. Adik-adikku semua, ponakan-ponakanku dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas doa, kasih sayang, dukungan dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan membalas semua kebaikan-kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini dan semoga hasil penelitian ini bermanfaat.

Bandar Lampung, Juni 2016
Penulis

Nur Aflamara

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Kerangka Pemikiran.....	8
1.5 Hipotesis.....	12
II. TINJAUAN PUSATAKA	14
2.1 <i>Phalaenopsis</i> (anggrek bulan).....	14
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Anggrek <i>Phalaenopsis</i>	16
2.3 Perslingan Anggrek <i>Phalaenopsis</i>	23
2.4 Perkecambahan Biji Anggrek <i>Phalaenopsis</i> Hibrida.....	24
2.5 Media Kultur <i>In Vitro Phalaenopsis</i>	25
2.6 Pertumbuhan <i>Seedling In Vitro</i>	26
2.7 Aklimatisasi Planlet <i>Phalaenopsis</i>	27
2.8 Peranan Pupuk Daun Untuk Pertumbuhan Bibit.....	29
2.9 Benziladenin (BA) dan Giberrelin (GA).....	30
III. METODE PENELITIAN	32
3.1 Penyerbukan Anggrek untuk mendapatkan Polong Buah Berbiji.....	34
3.2 Percobaan 1. Studi Pengecambahan Biji <i>Phalaenopsis</i> Hibrida.....	35
3.3 Percobaan 2. Studi Pembesaran <i>Seedling Phalaenopsis</i> Hibrida <i>In Vitro</i>	44
3.4 Percobaan 3. Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet <i>Phalaenopsis</i> Hibrida.....	46

IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1	Hasil.....	51
4.1.1	<i>Perkembangan Polong Buah dari Persilangan Dialel lengkap Phalaenopsis Ruby Lih Beauty dengan Phalaenopsis Mount Lip</i>	<i>51</i>
4.1.2	<i>Pengaruh Media Dasar (MS atau Pupuk Lengkap Growmore Biru 2,5 g/l) dan Konsentrasi Kinetin (0, 0.5, 1 mg/l) terhadap Pengecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Phalaenopsis Hibrida In Vitro</i>	<i>53</i>
4.1.3	<i>Pengaruh Media Dasar (MS atau Pupuk Lengkap Growmore Biru) dan Konsentrasi Kinetin (0, 0.5, 1 mg/l) terhadap Pertumbuhan Seedling Phalaenopsis Hibrida In Vitro</i>	<i>59</i>
4.1.4	<i>Pengaruh Media dan ZPT (Ba atau GA) Terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet Angrek Phalaenopsis Hibrida</i>	<i>65</i>
4.2	Pembahasan.....	73
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	81
5.1	Kesimpulan.....	81
5.2	Saran.....	83
	DAFTAR PUSTAKA.....	84
	LAMPIRAN.....	88

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persilangan dialel lengkap dua tetua anggrek <i>Phalaenopsis</i>	33
2. Kriteria skoring untuk banyaknya biji <i>Phalaenopsis</i> hibrida yang berkecambah di media perlakuan setelah berumur 2 bulan sejak biji disemai.....	42
3. Hasil analisis ragam banyaknya biji <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> yang berkecambah dan bobot 100 protokorm di media dasar MS atau Gromore biru dengan atau tanpa kinetin serta interaksinya.....	54
4. Hasil analisis ragam percobaan pembesaran protokorm <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> menjadi <i>seedling</i> pada media dasar MS atau Gromore biru dengan atau tanpa kinetin serta interaksinya.....	60
5. Pengaruh media dan kinetin terhadap rata – rata tinggi tanaman (cm).....	60
6. Pengaruh media dan kinetin terhadap rata – rata jumlah daun (helai).....	61
7. Pengaruh media dan kinetin terhadap rata – rata jumlah akar (helai).....	62
8. Pengaruh media dan kinetin terhadap rata – rata bobot segar akar (g).....	63
9. Pengaruh media dan kinetin terhadap rata – rata bobot segar tanaman (g).....	64
10. Hasil analisis ragam pengaruh media aklimatisasi, ZPT dan interaksi antar kedua faktor terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet <i>Phalaenopsis</i> hibrida setelah 4 bulan dalam kondisi <i>ex vitro</i>	66
11. Pengaruh media dengan ZPT (BA atau GA) terhadap rata – rata jumlah daun (helai).....	68

12.	Pengaruh media dan ZPT terhadap rata – rata panjang akar (cm).....	71
13.	Pengaruh media dan ZPT terhadap rata – rata bobot segar (g).....	72
14.	Kandungan bahan kimia pada formulasi media dasar Murashige dan Skoog (1962).....	89
15.	Komposisi Pupuk Lengkap Growmore Biru 32-10-10.....	89
16.	Rata –rata skoring banyaknya biji anggrek yang berkecambah pada masing - masing perlakuan.....	90
17.	Analisis ragam rata-rata skoring banyaknya biji anggrek yang sudah membentuk primordia daun pada masing - masing perlakuan.....	90
18.	Persentase protokorm pada perkecambahan biji anggrek yang sudah membentuk primordia daun dari masing - masing perlakuan.....	91
19.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot 100 protokorm (mg) pada percobaan perkecambahan biji anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	91
20.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot 100 protokorm (mg) pada perkecambahan biji anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	92
21.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap tinggi tanaman (cm) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	92
22.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap tinggi tanaman (cm) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	93
23.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah daun (helai) pada percobaan perumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	93
24.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah daun (helai) pada percobaan perumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	93
25.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah tunas (helai) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	94

26.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah tunas (helai) <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	94
27.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah akar (helai) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	94
28.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap jumlah akar (helai) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	95
29.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap panjang akar (cm) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	95
30.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap panjang akar (helai) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	95
31.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot segar akar (g) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	96
32.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot segar akar (g) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	96
33.	Pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot segar tanaman (g) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	97
34.	Analisis ragam pengaruh media dasar dengan atau tanpa kinetin terhadap bobot segar tanaman (g) pada percobaan pertumbuhan <i>seedling</i> anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i>	97
35.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap jumlah daun (helai) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	98
36.	Analisis ragam pengaruh media dengan ZPT terhadap jumlah daun (helai) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	98
37.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap panjang daun (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	99

38.	Analisis ragam pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap panjang daun (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	99
39.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap diameter daun (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	100
40.	Analisis ragam pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap diameter daun (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	100
41.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap jumlah akar (helai) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i>	101
42.	Analisis ragam pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap jumlah akar (helai) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	101
43.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap panjang akar (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	102
44.	Analisis ragam pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap panjang akar (cm) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	102
45.	Pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap bobot segar (g) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	103
46.	Analisis ragam pengaruh media aklimatisasi dengan ZPT terhadap bobot segar (g) pada percobaan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	103

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tahapan strategi penelitian untuk mendapatkan anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	9
2. Akar anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	18
3. Daun anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida.....	19
4. Bunga Anggrek <i>Phalaenopsis</i>	22
5. Buah anggrek <i>Phalaenopsis</i>	23
6. <i>Phalaenopsis</i> Ruby Lih Beauty (P1), dan <i>Phalaenopsis</i> Mount Lip (P2).....	33
7. Polong anggrek <i>Phalaenopsis</i> yang dipanen pada umur 4,5 bulan setelah penyerbukan yang bijinya akan disemai untuk bahan Percobaan I.....	36
8. Persiapan botol dan alat diseksi kultur <i>in vitro</i>	37
9. Pembuatan media kultur <i>in vitro</i>	38
10. Sterilisasi polong anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida (a) polong di cuci, (b) larutan pensteril, (c) plpmg disterilkan, (d) polong diletakkan pada cawan petridis, (e) polong dibakar secara cepat, (f) polong dibelah untuk mengeluarkan biji anggrek.....	40
11. Penyebaran polong anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida di media MS atau Growmore biru (a) biji disebar di media, (b) media yang telah diisi biji, (c) biji anggrek dilihat dengan mikroskop.....	41
12. Penampakan visual banyaknya biji yang berkecambah pada setiap nilai skoring: Skor 1 biji yang berkecambah sedikit, skor 2 biji yang berkecambah agak banyak, skor 3 biji yang berkecambah banyak, skor 4 biji yang berkecambah sangat banyak.....	43

13.	Penampakan visual protokorm <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> berumur 2 bulan berbentuk globular (a), sudah membentuk primordia daun (b).....	43
14.	<i>Seedling Phalaenopsis hibrida</i> awal yang dikulturkan di media perlakuan.....	44
15.	Bibit botol anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida yang diperoleh dari Handoyo Budi Orchids, Batu, Malang, Jawa Timur untuk bahan aklimatisasi yang mempunyai ukuran yang kurang lebih sama.....	46
16.	Media tanam planlet anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida (a) bagian dasar pot diisi arang kayu, (b) di atasnya diberi serutan kayu gergaji, (c) atau serat sabut kelapa, (d) planlet ditanam secara kompot.....	50
17.	Mahkota bunga mulai layu pada hari ke 5- 7 setelah penyerbukan disertai pembesaran ovarium (a); Ovarium sudah mulai membesar membentuk polong muda pada hari ke 15 setelah penyerbukan (b) pada umur 2 bulan setelah penyerbukan, polong buah mengalami perkembangan yaitu ukurannya lebih besar dan garis-garis karpel pada buah sudah tampak (c); Pada umur 4,5 bulan setelah penyerbukan, polong buah telah berkembang penuh dengan garis-garis karpel tampak jelas dan bagian polong di dekat perhiasan bunga sudah mulai mengecil tetapi polong belum pecah (d).....	52
18.	Warna polong buah <i>Phalaenopsis</i> pada tetua betina berbunga merah keunguan adalah hijau kemerahan (a), sedangkan pada tetua betina berbunga putih lidah merah adalah dominan hijau (b).....	53
19.	Banyaknya biji <i>Phalaenopsis</i> hibrida yang berkecambah: (a,b,c) di media MS tanpa atau dengan konsentrasi kinetin 0, 0,5, 1,0 mg/l, dan (d,e,f) di media Growmore biru 2.5 g/l tanpa atau dengan konsentrasi kinetin 0, 0,5, 1,0 mg/l.....	55
20.	Pengaruh media dasar terhadap banyaknya biji yang berkecambah pada perkecambahan <i>in vitro</i> biji anggrek <i>Phalaenopsis</i> , banyaknya biji anggrek yang berkecambah diukur dengan skoring sebagaimana diuraikan pada Gambar 12. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata menurut uji BNT 5%.....	56
21.	Pengaruh kinetin terhadap banyaknya biji anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida yang berkecambah. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata menurut uji BNT 5%.....	56
22.	Pengaruh media dasar dan konsentrasi kinetin terhadap persentase protokorm <i>Phalaenopsis</i> hibrida yang sudah membentuk primordia daun pada umur dua bulan.....	57

23.	Pengaruh media dasar dan konsentrasi kinetin terhadap bobot seratus protokorm. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata menurut uji BNT 5%.....	59
24.	Pengaruh media dasar terhadap jumlah tunas pada seedling <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> yang dikulturkan di media MS atau media Growmore. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata menurut uji BNT 5%.....	61
25.	Pengaruh media dasar terhadap panjang akar terpanjang pada <i>seedling Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> di media MS atau di media Growmore. Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata menurut uji BNT 5%.....	63
26.	Penampakan visual <i>seedling Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> pada umur 12 MST dengan media kultur (a) MS+kinetin 0 g/l; (b) MS+kinetin 0.5 g/l; (c) MS+kinetin 1 g/l; (d) Growmore+kinetin 0 g/l; (e) Growmore+kinetin 0,5 g/l; dan (f) Growmore+kinetin 1 g/l.....	65
27.	Penampilan planlet <i>Phalaenopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> pada umur 4 bulan pada media serat sabut kelapa atau serutan gergaji kayu dengan perlakuan BA atau GA dalam kondisi <i>ex vitro</i>	67
28.	Pengaruh media aklimatisasi terhadap panjang daun planlet <i>Phalaenopsis</i> hibrida pada umur 4 bulan dalam kondisi <i>ex vitro</i> . dua nilai tengah yang diikuti oleh huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata pada uji BNT 5%.....	68
29.	Pengaruh media aklimatisasi terhadap diameter daun planlet <i>Phalaenopsis</i> hibrida pada umur 4 bulan dalam kondisi <i>ex vitro</i> . Dua nilai tengah yang diikuti huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata pada uji BNT 5%.....	69
30.	Pengaruh media aklimatisasi terhadap jumlah akar pada planlet <i>Phalaenopsis</i> hibrida pada umur 4 bulan dalam kondisi <i>ex vitro</i> . Dua nilai tengah yang diikuti oleh huruf yang berbeda dinyatakan berbeda nyata pada uji BNT 5%.....	70
31.	Penampilan tanaman anggrek <i>Phaleonopsis</i> hibrida <i>in vitro</i> yang ditanam di media serutan kayu gergaji (a,b,c) dan media serat sabut kelapa (d,e,f) pada umur 4 bulan dalam kondisi <i>ex vitro</i>	72

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keragaman anggrek spesies alam yang sangat besar, diantaranya yaitu spesies anggrek *Phalaenopsis*. *Phalaenopsis* merupakan satu genus anggrek (dalam famili Orchidaceae) yang paling banyak dibudidayakan dan diminati di seluruh dunia, karena mempunyai keragaman bentuk, ukuran, warna, dan corak bunga yang tinggi sehingga banyak disukai konsumen (Christenson, 2001). Keindahan bunganya telah diakui sejak awal abad ke-19 (Tim Redaksi Trubus, 2005).

Produksi *Phalaenopsis* di dunia semakin meningkat dan menjadi komoditi unggulan yang tetap prospektif. Sebagai salah satu negara yang memiliki sumber genetik anggrek bervariasi, Indonesia memiliki kesempatan yang cukup tinggi untuk lebih memberdayakan sumber daya genetik tersebut. Keberhasilan dalam pemberdayaan sumber genetik akan menjadi kekuatan yang berarti untuk pengembangan anggrek Indonesia.

Phalaenopsis hibrida adalah jenis anggrek yang dari segi bisnis, pangsa pasar maupun nilai ekonomi yang menjanjikan, sehingga memberi peluang yang baik bagi pelaku usaha untuk mengembangkan usaha anggrek. Kenyataan tersebut bersamaan dengan kemudahan beradaptasi dan daya regenerasi dalam kultur

embrio *in vitro*, yang membuatnya menjadi jenis anggrek yang paling banyak dipelajari dan diteliti (Christenson, 2001). Hibrida-hibrida *Phalaenopsis* yang dihasilkan dan terkenal di dunia banyak ditemukan memiliki induk yang berasal dari *Phalaenopsis* spesies di Indonesia. Nilai ekonomi *Phalaenopsis* hibrida yang relatif tinggi memberikan prospek pasar yang cerah dan membuat *Phalaenopsis* hibrida termasuk salah satu anggrek yang mendominasi pasar anggrek di dunia. Dihasilkannya hibrida anggrek baru unggul merupakan salah satu kunci keberhasilan usaha di bidang peranggrekan nasional.

Perbanyakan generatif anggrek *Phalaenopsis* umumnya dilakukan dengan cara penyerbukan buatan hingga didapatkan polong buah berbiji. Namun demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua bunga anggrek dapat diserbukkan menghasilkan polong buah berbiji viabel, karena beberapa faktor yang mempengaruhi persilangan antara dua tetua anggrek, misalnya faktor genetik, saat mekar bunga, dan iklim (cuaca, suhu, kelembaban) di sekitar bunga (Darmono, 2008).

Pengecambahan biji anggrek pada umumnya dilakukan secara *in vitro* atau secara asimbiotik. Hal ini karena biji anggrek berukuran sangat kecil, tidak mempunyai cadangan makanan (endosperm) dan apabila terdapat cadangan makanan jumlahnya sangat sedikit, dan untuk berkecambah secara alami diperlukan simbiose dengan cendawan mikoriza yang sesuai (George, 1993), maka dari itu untuk dapat berkecambah secara alami sangat sulit. Perbanyakan generatif teknik kultur *in vitro* dari pengecambahan biji, subkultur, hingga plantlet siap diaklimatisasikan memerlukan waktu yang cukup lama, yaitu 10-12 bulan.

Faktor yang berperan dalam keberhasilan kultur *in vitro* anggrek di antaranya adalah media kultur. Formulasi media buatan yang digunakan sangat menentukan kecepatan pengecambahan biji, pertumbuhan protokorm dan seedling anggrek dalam botol. Formulasi media buatan yang dapat digunakan di antaranya adalah modifikasi formulasi Vacin and Went (1949), Knudson C , atau Murashige and Skoog (1962) (MS) baik setengah maupun konsentrasi penuh. Media tersebut terdiri dari unsur hara makro, mikro, vitamin, hormon, myo-inositol, Ca-pantotenat, dan glukosa (Mariska dan Syahid, 1998). Penggunaan formulasi tersebut membutuhkan biaya yang cukup mahal, di samping secara teknis pengerjaannya juga relatif sulit. Oleh karena itu, perlu penelitian untuk mendapatkan media alternatif untuk pengecambahan biji dan pertumbuhan seedling yang murah dan mudah dibuat serta memenuhi kebutuhan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan tanaman *in vitro*.

Menurut Gunawan (1998), media Knudson C dapat diganti dengan media pupuk daun. Biasanya, pupuk daun mengandung unsur hara makro antara lain C, H, O, S, P, K, Ca, Mg dan unsur hara mikro antara lain Mo, Mn, Cu, Cl, Na, Zn, Se, Si, Co. Pupuk daun yang beredar di pasaran antara lain Hyponex, Gandasil D, Pokon, Molyfert, Trimogen, Welgro, Graviota, Bayfolan, Wuxsol, Nitrophoska, Vitabloom, Growmore, dan Complezal Fluid (Sarwono, 2002). Menurut Sandra (2002) supaya tumbuh dengan baik, maka tanaman anggrek perlu diberikan pupuk dengan unsur hara makro dan mikro yang lengkap (seperti Gandasil D, Growmore, Hyponex, dan lain-lain). Beberapa hasil percobaan menunjukkan bahwa penggunaan pupuk daun seperti Vitabloom 2 g/l menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dan lebih cepat dibandingkan penggunaan medium

dengan formulasi Vacin dan Went (1949) dan Knudson C (Erfa, dkk., 2012). Media Hyponex hijau ditambah tripton dapat menggantikan media Vacin dan Went untuk perkecambahan biji anggrek secara *in vitro* (Indrawati, 2008).

Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah pupuk daun Growmore biru (NPK: 32-10-10) yang berbentuk kristal berwarna biru pada konsentrasi 2,5 g/l dan media MS (Murashige dan Skoog, 1962). Diharapkan media dasar dengan pupuk daun Growmore ini menghasilkan perkecambahan biji dan pertumbuhan vegetatif seedling *in vitro* yang tidak kalah baiknya dengan media MS.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah suatu senyawa alami atau sintetik yang dalam konsentrasi rendah dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman (Yusnita, 2010), sehingga dalam percobaan ini media ditambahkan ZPT dari golongan sitokinin, yaitu kinetin (*6-furfurylaminopurine*). Kinetin merupakan senyawa sintetik yang dapat menstimulir terjadinya pembelahan sel dan proliferasi meristem ujung (Sandra, 2012). Zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin berperan antara lain merangsang pertumbuhan tunas dengan meningkatkan pembelahan sel di meristem apikal, merangsang pertumbuhan tunas lateral melawan dominansi apikal, menghambat senesens daun, meningkatkan pergerakan hara ke daun, berinteraksi dengan auksin dalam pembentukan kalus, dan mengontrol perkembangan jaringan vaskuler (Taiz dan Zeiger, 2010). Hidayati (2007) melaporkan bahwa penambahan 1-2 mg/l kinetin ke media $\frac{1}{2}$ MS dapat meningkatkan perkecambahan biji dan pertumbuhan protokorm anggrek *Dendrobium in vitro*.

Aklimatisasi adalah pengadaptasian planlet dari kultur *in vitro* yang aseptik dengan suplai hara dan energi berkecukupan (heterotrof) dengan lingkungan terkontrol ke lingkungan eksternal yang autotrof. Planlet yang diaklimatisasikan harus dikondisikan di lingkungan *ex vitro* yang mula – mula berkelembaban tinggi, lalu secara bertahap kelembabannya dikurangi, sedangkan cahaya matahari mula – mula berintensitas rendah lalu secara bertahap ditingkatkan (Yusnita, 2004).

Aklimatisasi bibit anggrek memerlukan media tanam yang sesuai dengan sifat – sifat fisiologis bibit anggrek, yaitu mempunyai daya memegang air dan hara yang baik, cukup *porous* sehingga menjamin aerasi yang baik di lingkungan perakaran bibit. Di samping itu media aklimatisasi harus dapat menjadi tempat berpijak sehingga bibit anggrek tidak mudah rebah dan tidak mengandung toksin, tidak mudah lapuk, tidak menjadi inang penyakit, ramah lingkungan, dan mudah diperoleh serta relatif murah harganya. Ginting (2008), mengemukakan bahwa media tumbuh tanaman anggrek yang umum digunakan adalah arang, pakis, sphagnum moss, potongan kayu, potongan bata atau genting, serutan kayu gergaji, kulit pinus dan sabut kelapa. Indrawati (2008) melaporkan bahwa pada aklimatisasi planlet *Dendrobium* hibrida, media serat sabut kelapa menghasilkan persen keberhasilan aklimatisasi yang tinggi (100%) dan pertumbuhan planlet yang sama baiknya dengan pada media pakis. Serat sabut kelapa merupakan limbah pertanian yang selama ini kurang memiliki nilai ekonomi. Serat sabut kelapa dapat digunakan sebagai media pembesaran bibit kompot anggrek bulan sehingga meningkatkan nilai ekonominya. Serat sabut kelapa dapat menjadi media tanam alternatif dengan penampilan hasil yang tidak

kalah dibandingkan dengan media pakis. Serabut kelapa mampu menyerap dan menyimpan air dengan baik dan tidak memicu penyakit busuk akar karena aerasi yang baik. Serutan kayu gergaji mempunyai sifat-sifat dapat memegang air dengan baik, *porous*, tidak mudah lapuk dan ketersediaannya cukup banyak. Oleh karena itu, perlu diteliti apakah serutan kayu gergaji dapat digunakan untuk aklimatisasi planlet anggrek.

Setelah planlet beradaptasi dari lingkungan *in vitro* ke *ex vitro* maka pertumbuhannya perlu dipacu dengan nutrisi atau zat pengatur tumbuh (ZPT) (Yusnita, 2004). Zat pengatur tumbuh yang dapat memacu pertumbuhan anggrek pada saat aklimatisasi di antaranya adalah benziladenin (BA) dan gibberelin (GA). BA adalah golongan sitokinin yang berperan merangsang pembelahan sel, pembentukan tunas lateral atau adventif, dan morfogenesis, menstimulasi pertumbuhan tunas dan daun (Taiz and Zeiger, 2010). Handayani (2011) melaporkan bahwa penyemprotan BA 20 mg/l yang diberikan satu minggu sekali sebanyak 8 kali aplikasi pada saat aklimatisasi dapat meningkatkan ukuran dan bobot planlet *Phalaenopsis amabilis* secara signifikan. Gibberelin berperan dalam merangsang pertumbuhan batang, menstimulasi pembungaan, memecahkan dormansi benih, merangsang perkecambahan biji yang dorman dan merangsang terbentuknya buah parthenokarpi serta memperbaiki susunan buah (Taiz and Zeiger, 2010). Zasari (2010) melaporkan bahwa pemberian GA pada konsentrasi 20 mg/l pada planlet *Dendrobium* yang diaklimatisasi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan oleh peningkatan tinggi tanaman.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah serutan kayu gergaji dan serat sabut kelapa dengan penambahan ZPT benziladenin (BA) 30 mg/l atau giberelin (GA) 30 mg/l yang diaplikasikan melalui daun seminggu sekali sebanyak 8 kali. Diharapkan pemberian BA atau GA dapat merangsang pertumbuhan bibit *Phalaenopsis* hibrida selama periode aklimatisasi.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh jawaban dari beberapa permasalahan dalam upaya menghasilkan anggrek hibrida *Phalaenopsis*, yaitu:

1. Apakah formulasi media MS atau Growmore biru 2,5 g/l menghasilkan perkecambahan biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* hibrida *in-vitro* yang berbeda.
2. Apakah penambahan kinetin ke dalam media kultur berpengaruh terhadap perkecambahan biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*.
3. Apakah formulasi media MS atau Growmore biru 2,5 g/l menghasilkan pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in-vitro* yang berbeda.
4. Apakah penambahan kinetin ke dalam media kultur berpengaruh terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*.
5. Apakah jenis media aklimatisasi (serat sabut kelapa atau serutan kayu gergaji) berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida.

6. Apakah zat pengatur tumbuh (BA atau GA) berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida.

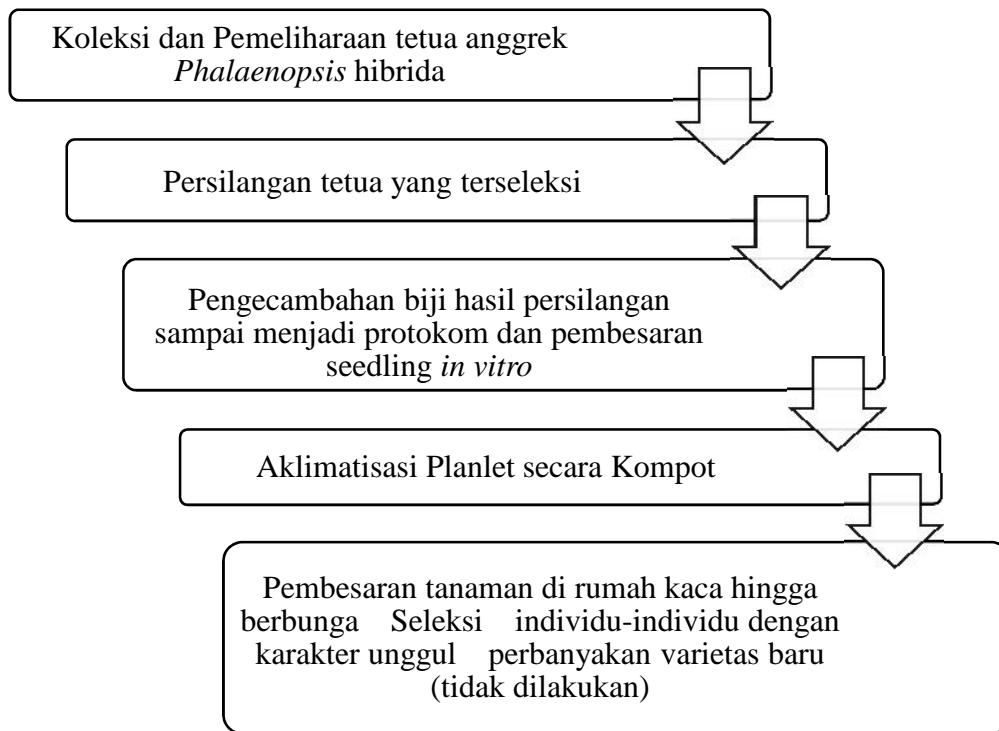
1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mempelajari pengaruh media dasar (MS atau Growmore biru 2,5 g /l) dan kinetin (0, 0,5, 1,0) terhadap pengecambahan biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*.
2. Mempelajari pengaruh media dasar (MS atau Growmore biru 2,5 g /l) dan kinetin (0, 0,5, 1,0) terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*.
3. Mempelajari pengaruh media aklimatisasi (serat sabut kelapa atau serutan kayu gergaji) dan zat pengatur tumbuh (BA atau GA) terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in-vitro*

1.4 Kerangka Pemikiran

Karakter unggul hibrida *Phalaenopsis* yang baru dapat dihasilkan dengan menggabungkan karakter unggul dari dua jenis tetua *Phalaenopsis* hibrida yang sudah terdapat di pasar. Langkah pertama yang perlu dilakukan adalah memilih dan memelihara anggrek *Phalaenopsis* yang akan digunakan sebagai tetua persilangan hingga tanaman berbunga. Selanjutnya dilakukan persilangan di antara tanaman tetua sampai dihasilkan polong buah berbiji *viable*. Skema strategi penelitian ini dapat digambarkan sebagaimana pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Tahapan strategi penelitian untuk mendapatkan anggrek *Phalaenopsis* hibrida

Biji-biji dalam polong buah hasil silangan harus dikecambahkan secara *in vitro* untuk mendapatkan protokorm. Protokorm yang sudah berdaun selanjutnya ditransfer ke media pembesaran *seedling in vitro*, sampai dihasilkan bibit *Phalaenopsis* hibrida yang mempunyai beberapa daun dan akar dan berukuran cukup besar untuk dapat diaklimatisasi ke lingkungan *ex vitro*.

Dalam penelitian ini, dipilih dua *Phalaenopsis* hibrida sebagai tetua, yaitu *Phalaenopsis* Ruby Lih Beauty (P1), yang bunganya berukuran besar berwarna merah cerah keunguan dengan warna *labellum* yang sedikit lebih tua daripada warna petalnya dan *Phalaenopsis* Mount Lip dengan bunga berwarna pink dan *labellum* berwarna merah hati (P2). Polong buah hasil persilangan kedua tetua ini diharapkan akan menghasilkan beberapa hibrida baru yang mempunyai perpaduan

keunggulan kedua tetua, misalnya bunga dengan warna pertengahan antara merah ungu tua dan muda, bunga besar dan labelum merah tua, jumlah kuntum bunga banyak atau karakter unggul lainnya.

Hibridisasi dilakukan secara dialel lengkap, yaitu P1 x P1; P1 x P2; P2 x P2; P2 x P1. Setelah berumur 4 bulan sejak penyerbukan polong sudah cukup tua tetapi belum pecah dipanen, dan digunakan untuk bahan percobaan pengecambahan biji *in vitro*.

Agar didapatkan formulasi media yang mudah, murah dan praktis dengan kualitas protokorm dan *seedling* yang baik, maka dilakukan percobaan I dan percobaan II. Percobaan I mempelajari pengaruh media dasar (MS atau 2,5 g/l Growmore) dan penambahan kinetin (0, 0,5 g/l, 1 g/l) terhadap pengecambahan biji dan pertumbuhan protokorm, sedangkan percobaan II mempelajari pengaruh media dasar dan konsentrasi kinetin terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida *in vitro*. Seiring dengan bertambahnya waktu pengulturan, dan subkultur ke media pembesaran, *seedling* anggrek *Phalaenopsis* akan tumbuh sehingga *seedling* berukuran cukup besar, mempunyai daun 4-6 helai dan akar lebih dari 3 sehingga dapat diaklimatisasi ke lingkungan eksternal.

Supaya dapat bertahan hidup dengan persentase yang tinggi dan pertumbuhan planlet yang cepat, maka dua faktor penting yang perlu dipelajari adalah media aklimatisasi dan pemberian zat pengatur tumbuh perangsang pertumbuhan, misalnya sitokinin.

Serat sabut kelapa dapat digunakan sebagai media aklimatisasi bibit botol anggrek karena sifatnya yang porous, mempunyai kemampuan memegang air dan hara cukup baik, harganya relatif murah dan mudah diperoleh. Serat sabut kelapa mengandung selulosa dan lignin yang cukup tinggi dan mengandung unsur-unsur hara esensial seperti kalsium (Ca), magnesium (Mg), kalium (K), natrium (Na), dan fosfor (P). Namun serat sabut kelapa mengandung senyawa tanin, yaitu senyawa fenolik yang dapat menghambat pertumbuhan anggrek. Adanya zat tanin ditandai dengan keluarnya warna merah bata saat serat sabut kelapa direndam dalam air. Untuk menghindari zat tanin yang berlebihan, maka dilakukan perendaman serat sabut dalam air bersih selama beberapa jam dan air perendamnya diganti dengan air bersih yang baru, dan tindakan ini diulang beberapa kali.

Serutan kayu gergaji dan serat sabut kelapa mempunyai sifat fisik yang porous, mempunyai daya memegang air cukup tinggi, ketersediaannya melimpah dan kontinyu serta sangat murah. Serutan kayu gergaji mungkin dapat digunakan sebagai alternatif media aklimatisasi anggrek.

Jenis media aklimatisasi yang berbeda kemungkinan mempunyai sifat fisik dan kimia yang berbeda, sehingga mungkin akan berinteraksi dengan ZPT yang diberikan dalam mempengaruhi pertumbuhan planlet. Oleh karena itu, pada percobaan III dipelajari pengaruh dua jenis media aklimatisasi (serat sabut kelapa dan serutan kayu gergaji) dan aplikasi ZPT (BA 30 mg/l atau GA 30 mg/l) terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet *Phalaenopsis* hibrida. Benziladenin (BA) merupakan salah satu golongan sitokinin yang mempunyai

pengaruh fisiologis merangsang pembelahan sel, pembentukan klorofil dan secara umum merangsang pertumbuhan tanaman sehingga jika diaplikasikan pada planlet anggrek yang monopodial seperti *Phalaenopsis*, diharapkan dapat memacu pertumbuhannya selama masa aklimatisasi. Giberelin juga merupakan ZPT yang dapat merangsang pertumbuhan batang, menstimulasi pembungaan, memecahkan dormansi benih, merangsang perkecambahan biji yang dorman dan merangsang terbentuknya buah parthenokarpi serta memperbaiki susunan buah (Taiz and Zeiger, 2010).

1.5 Hipotesis

Hipotesis untuk Percobaan I adalah:

1. Media dasar MS lebih baik daripada pupuk lengkap Growmore biru (NPK 32-10-10) 2,5 g/l untuk pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro*.
2. Penambahan kinetin 1 mg/l menghasilkan pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro* yang lebih baik daripada tanpa kinetin atau dengan kinetin 0.5 mg/l.
3. Kombinasi media dasar MS dengan kinetin 1 mg/l merupakan media terbaik untuk pengecambahan biji anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro*.

Hipotesis untuk Percobaan II:

1. Media dasar MS lebih baik daripada pupuk lengkap Growmore biru (NPK 32-10-10) 2,5 g/l untuk pertumbuhan *seedling* anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro*.

2. Penambahan kinetin 1 mg/l menghasilkan pertumbuhan *seedling* anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro* yang lebih baik dari pada tanpa kinetin atau dengan kinetin 0.5 mg/l.
3. Kombinasi media dasar MS dan kinetin 1 mg/l merupakan media terbaik untuk pertumbuhan *seedling* anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro*.

Hipotesis untuk Percobaan III:

1. Media serat sabut kelapa lebih baik daripada serutan kayu gergaji untuk aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida.
2. Penambahan ZPT (BA atau GA) menghasilkan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida *in vitro* yang lebih baik dari pada kontrol.
3. Kombinasi terbaik untuk aklimatisasi anggrek *Phalaenopsis* hibrida adalah media serta sabut kelapa dan penambahan ZPT (BA atau GA).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Phalaenopsis* (Anggrek Bulan)

Tanaman anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang mempunyai keragaman sangat tinggi. Anggota famili Orchidaceae ini terdiri dari 25.000 – 30.000 spesies dan merupakan 10% dari jumlah tanaman berbunga di dunia (Tuhuteru, dkk., 2012). Keindahan bunganya membuat tanaman ini disebut *queen of flower*. Anggrek merupakan tanaman hias yang mempunyai nilai estetika yang tinggi karena selain bunganya indah juga bentuk dan warnanya yang menarik, bernilai ekonomis.

Genus *Phalaenopsis* mempunyai kurang lebih 2000 spesies (Rentoul, 2003). Seorang Ahli botani memberi nama genus anggrek dengan *Phalaenopsis* pada tahun 1825 adalah Blume. *Phalaenopsis*, diberikan pada waktu Blume dalam hutan dan mengira telah melihat sekawan kupu-kupu putih yang tengah hinggap pada sebatang ranting kayu (Rentoul, 2003). Nama *Phalaenopsis* berasal dari Yunani, yaitu *Phalaenos* yang berarti ngengat atau kupu-kupu dan *opsis* berarti bentuk atau penampakan.

Salah satu spesiesnya adalah *Phalaenopsis amabilis* atau di Indonesia disebut anggrek bulan. Karena keindahan dan keragamannya *Phalaenopsis* mulai dimasukkan ke dalam tanaman penghias ruangan oleh Jhon Seden, dan mulai

dilakukan perbanyakan dan penyiangan. Di Indonesia wilayah penyebaran *Phalaenopsis* sangat luas, misalnya *Phalaenopsis amabilis* banyak terdapat dipulau Jawa, Sumatera, dan Kalimantan (Tim Redaksi Trubus, 2005).

Keindahan bunga *Phalaenopsis* telah banyak menyebabkan peneliti melakukan pemuliaan, dengan tujuan antara lain adalah: untuk mendapatkan tanaman yang berdaya hasil tinggi, berkualitas baik, dan mempunyai nilai estetika. Tingginya apresiasi terhadap keindahan bunga anggrek oleh konsumen dicerminkan oleh banyaknya jenis dan jumlah tanaman di pasar dunia maupun lokal, serta perbanyakan anggrek hibrida dalam jumlah besar secara *in vitro* (Christenson, 2001).

Sifat tumbuh anggrek *Phalaenopsis* adalah tipe monopodial, yaitu batang tanaman hanya mempunyai satu poros tumbuh vertikal (terus menerus ke atas), tidak mempunyai tunas anakan, tidak memiliki cabang atau hanya terdiri atas satu titik tumbuh, akar adventif yang muncul dari batang diantara bukannya, dan bunga muncul dari ketiak daun (Yusnita, 2010).

Perbanyakan anggrek *Phalaenopsis* secara konvensional dapat dilakukan melalui keiki dan sangat jarang menggunakan anakan, karena anakan hanya tumbuh ketika titik tumbuh tanaman mengalami gangguan atau kerusakan. Cara perbanyakan konvensional ini membutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkan bahan tanaman dalam jumlah banyak. Di samping itu, kondisi bibit hasil perbanyakan konvensional rawan serangan penyakit. Perbanyakan tanaman untuk memproduksi bibit baik melalui biji (secara generatif) maupun secara

vegetatif dalam skala besar umumnya dilakukan menggunakan kultur *in vitro* (Yusnita, 2010).

Permintaan pasar anggrek cenderung meningkat setiap tahunnya, namun perkembangan produksi anggrek di Indonesia masih relatif lambat sehingga perlu ditunjang dengan penyediaan bibit dalam jumlah banyak dengan kualitas baik dan dalam waktu yang singkat. Hal ini dapat dilakukan dengan memperbanyak secara kultur *in vitro*.

Beberapa faktor penting yang perlu mendapat perhatian serius untuk kultur *in vitro* anggrek adalah formulasi media kultur seperti komposisi nutrisi, hara makro, mikro, vitamin dan zat pengatur tumbuh yang mendukung pertumbuhan tanaman. Di samping penggunaan zat pengatur tumbuh sintetik, addenda organik seperti air kelapa, ekstrak tomat, ekstrak nanas juga dapat digunakan dalam media kultur (Yusnita, 2010).

2.2 Klasifikasi dan Morfologi Anggrek *Phalaenopsis*

2.2.1 Klasifikasi Anggrek *Phalaenopsis*

Phalaenopsis memiliki kurang lebih 46 spesies yang tersebar di beberapa negara dan di Indonesia memiliki lebih dari 30 spesies (Djaafarer, 2008). Salah satu spesies yang terkenal di Indonesia adalah *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume (anggrek bulan). Sebagai salah satu negara yang memiliki sumber genetik anggrek bervariasi, Indonesia memiliki kesempatan yang cukup tinggi untuk lebih memberdayakan sumber daya genetik tersebut. Keberhasilan dalam

pemberdayaan sumber genetik akan menjadi kekuatan yang berarti dalam pengembangan anggrek Indonesia khususnya *Phalaenopsis*.

Phalaenopsis merupakan merupakan salah satu genus anggrek (*Orchidaceae*) yang dianggap cukup penting karena peranannya sebagai induk dapat menghasilkan berbagai hibrida (Rukmana, 2000). Keistimewaan lainnya adalah kemampuannya untuk berbunga sepanjang tahun dengan masa berbunga rata-rata selama satu bulan (Iswanto, 2002), mempunyai ciri khas dengan keanekaragaman corak dan warna beragam. Klasifikasi botani *Phalaenopsis* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Orchidales
Famili	: Orchidaceae
Genus	: <i>Phalaenopsis</i>
Spesies	: <i>Phalaenopsis amabilis</i> , <i>P.amboinensis</i> , <i>P. violaceae</i> , <i>P. Javanica</i> , dll.

(Yusnita, 2010).

2.2.2 Morfologi Anggrek *Phalaenopsis*

2.2.2.1 Perakaran Anggrek *Phalaenopsis*

Phalaenopsis amabilis termasuk dalam jenis anggrek epifit, dicirikan dengan akarnya yang menempel pada batang atau dahan tanaman lain (*host*). Akar anggrek berwarna putih dan hijau di bagian ujungnya (Puspitaningtyas, 2006). Akar berbentuk silindris memanjang dan berdaging. Ada 2 jenis sistem perakaran yang dimiliki anggrek *Phalaenopsis*, yaitu akar serabut (*radix adventicia*), yang berfungsi melekatkan diri mengembangkan akar sukulen pada batang pohon tempatnya tumbuh dengan bagian yang menempel tampak mendatar mengikuti bentuk permukaan batang inangnya (Tim Redaksi Trubus, 2005), dan akar udara yang memiliki adaptasi struktur yang berupa lapisan pelindung berfungsi untuk membantu menyerap unsur hara. Adaptasi lain dari akar udara ini adalah ditemukannya kloroplas yang kemungkinan dapat mempengaruhi sistem distribusi hasil fotosintesis. Kedua jenis akar tersebut berbentuk silindris, tebal dan tidak bercabang. Akar *Phalaenopsis* mempunyai rambut akar yang pendek sekali dengan diameter 5-8 mm (Tim Redaksi Trubus, 2005).



Gambar 2. Akar anggrek *Phalaenopsis* hibrida

2.2.2.2 Daun Anggrek *Phalaenopsis*

Daun anggrek *Phalaenopsis* berwarna hijau dan melekat pada batang tanpa tangkai daun. Bentuknya biasanya oval memanjang (roset), melebar di bagian ujungnya, sedikit meruncing dengan tulang daun memanjang pula khas daun monokotil dan mengimpit batang atau pangkal daun di bagian atasnya. Lebar daun berkisar 5 – 20 cm, panjang 50 cm dan ketebalan daun 2 – 3 mm. Helaian daun tersusun berselang seling dan duplikatif sehingga hanya tumbuh pada 2 arah kiri dan kanan (Tim Redaksi Trubus, 2005). Permukaan daun *Phalaenopsis* mempunyai lapisan lilin yang berguna untuk melindungi tanaman dari serangan hama, penyakit, dan pertahanan terhadap kondisi lingkungan yang kurang sesuai. Daun menebal dan berfungsi sebagai penyimpan air. Batang dan daun anggrek berwarna hijau yang mengandung klorofil sehingga keduanya dapat melakukan fotosintesis, akan tetapi daun memiliki kemampuan untuk berfotosintesis lebih tinggi (Tim Redaksi Trubus, 2005).



Gambar 3. Daun anggrek *Phalaenopsis* hibrida

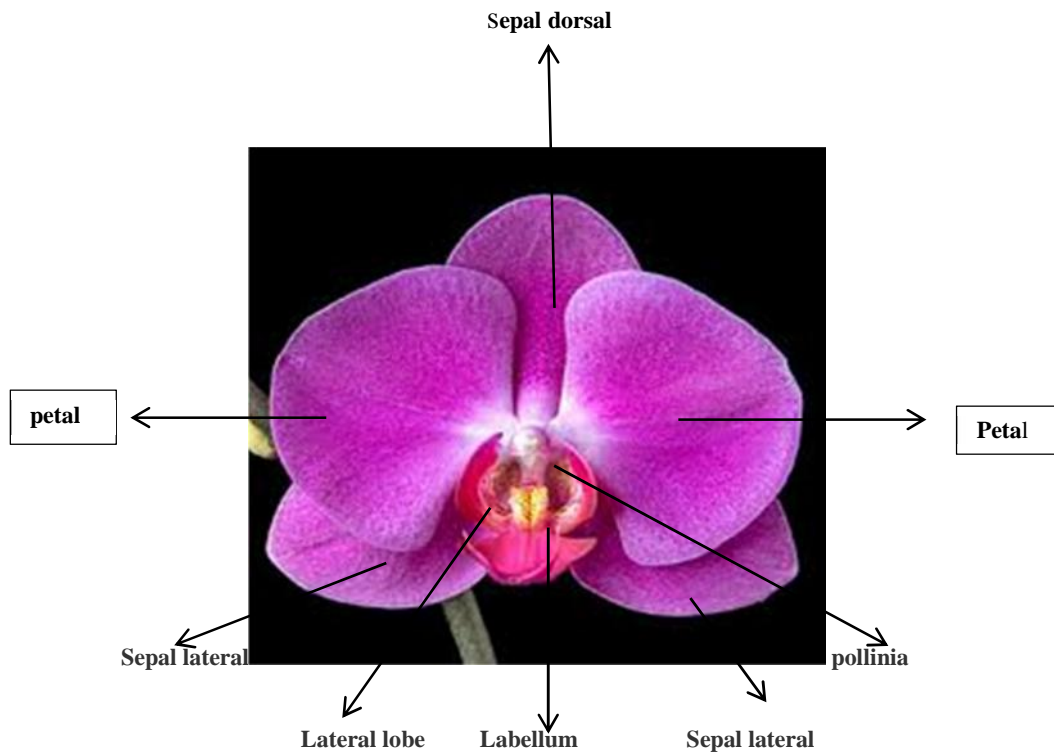
2.2.2.3 Batang *Phalaenopsis*

Anggrek *Phalaenopsis* mempunyai batang yang menebal dan terlindungi lapisan lilin untuk mencegah penguapan berlebihan. Pertumbuhan batang bersifat memanjang, yaitu hanya memiliki satu batang dan satu titik tumbuh saja. Batangnya sangat pendek dan terbungkus oleh seludang daun. Batang anggrek biasanya mengalami penebalan yang merupakan batang semu yang membentuk seperti umbi pada pangkal daun dan dikenal dengan nama *pseudobulb* yang ditutupi oleh lapisan kutikula tebal dan terdapat sedikit stomata. Batang pada anggrek berfungsi sebagai penyimpan dan mengalirkan hasil fotosintat (Heward Yong., 2004).

2.2.2.4 Bunga *Phalaenopsis*

Anggrek *Phalaenopsis* memiliki karakteristik bunga yang berbeda dengan bunga-bunga lain. Karakteristik anggrek ini dapat dilihat dari ukuran bunga, tangkai bunga, jumlah kuntum bunga, ketahanan bunga, dan aroma bunga. Bentuk, warna, dan aroma bunga anggrek sangat beragam. Bunganya berbentuk khas dan tersusun majemuk, muncul dari tangkai bunga yang memanjang pada ketiak daun. Bentuk bunganya simetri bilateral dengan helaian kelopak bunga (sepal). Bunga anggrek mempunyai tiga sepal yang terletak di bagian belakang bunga dan tiga petal yang terletak di depan sepal. Ketiga sepal ini mempunyai bentuk hampir sama. Sepal teratas disebut sepal dorsal, sedangkan kedua sepal lain yang terletak di sebelah kiri dan kanan bawah disebut sepal lateral. Ketiga sepal tersebut terletak dalam satu lingkaran (Jenny, dkk., 2009). Umumnya sepal berwarna mirip dengan mahkota bunga (petal). Sepal berguna sebagai pelindung

bunga paling luar ketika bunga masih dalam keadaan kuncup. Petal adalah perhiasan bunga ketika masih kuncup, petal terbungkus oleh sepal. Petal berjumlah tiga buah. Kedua petal yang paling atas mempunyai bentuk yang sama, sedangkan petal ketiga yang terletak paling bawah termodifikasi menjadi bibir atau labellum. Labellum merupakan tempat terjadinya pembuahan karena pada bagian tersebut terdapat pollen dan stigma yang tersimpan dalam suatu struktur yang disebut tugu atau *column*. *Column* berada tepat di atas labellum. Bentuk *column* biasanya menyerupai bentuk paruh burung. Secara umum, bentuk labellum yang unik berfungsi menarik serangga yang akan membantu proses pembuahan pada anggrek (Yusnita, 2012). Satu helai mahkota bunga termodifikasi membentuk semacam 'lidah' yang melindungi suatu struktur aksesoris yang membawa benang sari dan putik. Tangkai benang sari pendek dengan dua kepala sari berbentuk cakram kecil (*pollinia*) yang terlindung oleh struktur kecil yang harus dibuka oleh serangga penyerbuk dan membawa serbuk sari ke mulut putik. Putik berisi materi perekat yang berada dibawah *anter cap* menghadap labellum. Ovari terletak pada dasar bunga di bawah tugu (tempat alat reproduksi betina dan jantan) dan biasanya bersatu dengan tangkai bunga (Tim Redaksi Trubus, 2005), bunga anggrek *Phalaenopsis* dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bunga Anggrek *Phalaenopsis*

2.2.2.5 Buah Anggrek *Phalaenopsis*

Buah anggrek berbentuk kapsul, berwarna hijau dan jika masak berwarna kuning. Buah anggrek bulan merupakan buah capsular yang memiliki 6 rusuk (Gambar 5). Dalam satu buah anggrek terdapat ratusan bahkan jutaan biji (Iswanto, 2002). Apabila mengering maka buah terbuka dari samping, dan di dalamnya terdapat biji dalam jumlah yang banyak. Biji berukuran sangat kecil sehingga tidak memiliki endosperma (cadangan makanan), dan ringan sehingga biji sulit untuk berkecambah sendiri tanpa tambahan nutrisi dari luar serta mudah terbawa angin. Perkecambahan baru terjadi jika biji jatuh pada medium yang sesuai dan melanjutkan perkembangan hingga kemasakan, sehingga perbanyak

anggrek *Phalaenopsis* hibrida umumnya dilakukan secara *in vitro* (Hew and Yong., 2004)..



Gambar 5. Buah anggrek *Phalaenopsis*

2.3 Persilangan Anggrek *Phalaenopsis*

Persilangan/ hibridisasi adalah Penyerbukan dengan bantuan manusia yang bertujuan untuk memperkaya keanekaragaman genetik pada tanaman anggrek. Jadi hibridisasi merupakan suatu metode untuk menghasilkan kultivar tanaman baru dengan menggabungkan karakter – karakter baik tanaman, memperluas variabilitas genetik melalui rekombinasi gen, dan untuk mendapatkan hibrid vigor (Poehlman and Sleper, 1996).

Langkah awal dalam persilangan adalah pemilihan atau seleksi tetua jantan maupun betina yang merupakan hal sangat penting dalam pemuliaan tanaman dan hal tersebut menentukan berhasil atau gagalnya program pemuliaan (Poehlman and Sleper, 1996). Menurut Andayani (2011) persilangan pada anggrek dapat dilakukan dengan penyerbukan sendiri atau penyerbukan silang. Penyerbukan sendiri dengan cara putik satu bunga diserbuki dengan serbuk sari (pollen) berasal dari bunga yang sama. Penyerbukan silang artinya putik pada

satu bunga diserbuki dengan menggunakan serbuk sari yang berasal dari bunga pada tanaman lain tetapi masih satu jenis tanaman. Sepuluh hari setelah pelaksanaan penyerbukan dilakukan pengamatan untuk mengetahui keberhasilan penyerbukan.

2.4. Perkecambahan Biji Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida

Menurut Pierik (1987), biji anggrek sulit berkecambah secara alami karena kulit biji yang tebal dengan ukuran biji yang sangat kecil (biasanya panjang 1.0-2.0 mm, lebar 0.5-1.0 mm dan berdiameter ± 0.1 mm) dan hanya terdiri dari embrio dengan beberapa ratus sel. Media untuk menumbuhkan biji harus dilengkapi dengan unsur hara makro, mikro, serta karbohidrat sebagai sumber karbon (Gunawan, 1998).

Perkecambahan merupakan suatu proses dimana radikula (akar embrionik) memanjang ke luar menembus kulit biji. Untuk perkecambahan *Phalaenopsis* umumnya secara *in vitro*. Biji anggrek dikecambahkan secara *in vitro* dilandasi dengan beberapa alasan sebagai berikut: biji berukuran sangat kecil dan mengandung cadangan makanan yang sangat sedikit atau bahkan tidak ada. Apabila biji dikecambahkan tidak secara *in vitro*, kemungkinan besar cadangan makanan tidak mencukupi. Perkecambahan dan perkembangan biji tergantung simbiosis dengan fungi dan jika ditumbuhkan tanpa fungi maka disebut perkecambahan asimbiotik. Perkecambahan anggrek membutuhkan kondisi lingkungan dan nutrisi tertentu terutama jika biji anggrek masih muda.

Lingkungan yang mendukung seperti suhu dan cahaya tertentu dapat mematahkan dormansi dan memicu perkecambahan.

2.5 Media Kultur *In vitro Phalaenopsis*

Pertumbuhan anggrek dalam kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor, diantaranya komposisi media yang digunakan. Media dalam perbanyakan secara kultur *in vitro* sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan dan bibit yang dihasilkannya. Perbanyakan anggrek secara *in vitro* dapat menyediakan bibit anggrek yang lebih banyak dan seragam dalam waktu yang relatif singkat. Keberhasilan perbanyakan anggrek secara *in vitro* ditentukan oleh banyak hal, antara lain komposisi media yang digunakan. Media yang umumnya digunakan seperti media $\frac{1}{2}$ MS, MS, Vacin dan Went, Knudson C, Murashige dan Skoog (1962) yang mengandung garam-garam mineral dan nutrisi yang lengkap untuk pertumbuhan biji anggrek (Yusnita, 2010).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media Growmore lebih baik dari pada media MS untuk perkecambahan benih dan berpengaruh sama dengan MS untuk pertumbuhan *seedling Phalaenopsis*. Penambahan AC di dalam medium menghambat perkecambahan benih tetapi mendorong pertumbuhan bibit (Yusnita dan Handayani, 2011). Kasutjianingati dan Irawan (2013) melaporkan bahwa penggunaan pupuk organik cair sebagai media mampu menjadi media alternatif kultur *in vitro* anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*).

2.6 Pertumbuhan *Seedling In vitro*

Subkultur merupakan salah satu tahap dalam memperbanyak tanaman secara kultur jaringan, dengan cara pemindahan tanaman dari suatu botol kultur ke media baru untuk pembesaran *seedling*. Tujuannya agar tanaman tercukupi nutrisinya sehingga pertumbuhan dapat optimal. Subkultur ini juga sangat menuntut adanya kebersihan lingkungan kultur dan kesterilan alat-alat yang digunakan. Pada dasarnya subkultur merupakan tahap kegiatan yang relatif mudah dibandingkan dengan kegiatan lain dalam kultur jaringan. Subkultur dilakukan karena tanaman sudah memenuhi atau sudah setinggi botol, sehingga pertumbuhan dan hara mulai berkurang, atau jika media dalam botol sudah mengering (Yusnita, 2010).

Untuk tanaman anggrek, subkultur dapat dilakukan sekitar 1-4 bulan setelah ribuan embrio di dalam biji yang disemaikan di atas permukaan media sudah berkembang menjadi protokorm dalam botol. Setelah berumur delapan (8) minggu protokorm sudah membesar dan menampakkan primordia daun dan saat telah membuka maka bahan tanaman tersebut disebut *seedling* yang jumlahnya bisa mencapai ribuan per botol yang semakin lama akan tumbuh membesar dan padat di dalam botol, sehingga perlu dijarangkan dengan cara di-subkultur ke media baru dengan tujuan untuk menghindari kekurangan hara dan energi untuk pertumbuhan *seedling* (Yusnita, 2010).

2.7 Aklimatisasi Planlet *Phalaenopsis*

Aklimatisasi atau penyesuaian terhadap lingkungan baru dari lingkungan yang terkendali lingkungan yang relatif berubah merupakan masalah penting apabila membudidayakan tanaman menggunakan bibit yang diperbanyak dengan teknik kultur jaringan. Aklimatisasi planlet merupakan periode kritis bagi pertumbuhan dan perkembangan planlet karena sejak embrio dalam biji anggrek tumbuh dan berkembang menjadi protokorm kemudian menjadi *seedling* dalam kultur *in vitro* yang aseptik, bibit berada pada kondisi kelembaban nisbi hampir selalu jenuh ($RH = 100\%$), intensitas cahaya dan suplai gas di dalam botol rendah, dan tersedianya suplai energi serta hara dari media. Selanjutnya anggrek dari hasil kultur *in vitro* yang aseptik heterotrof selama 8 - 12 bulan atau lebih yang hendak dipindahkan ke lingkungan luar yang autotrof supaya dapat hidup dalam lingkungan photoautotrophic tanpa suplai hara dan energi dari media, memerlukan penyesuaian lingkungan tumbuh supaya dapat hidup mandiri (Yusnita, 2010).

Tahapan aklimatisasi merupakan faktor pembatas dalam mendapatkan bibit anggrek hingga siap ditanam di pot individu karena biasanya bibit anggrek yang dihasilkan secara *in vitro* umumnya peka terhadap kondisi lingkungan seperti cahaya, temperatur, kelembaban nisbi, Intensitas penyinaran, sirkulasi udara maupun serangan pathogen. Sebelum bibit anggrek diaklimatisasi, terlebih dahulu dilakukan *hardening* sehingga saat dipindahkan ke luar botol, bibit anggrek yang masih sangat muda harus dapat diadaptasikan ke lingkungan yang mempunyai kelembaban nisbi rendah dan intensitas cahaya tinggi supaya dapat melakukan

fotosintesa dan menghasilkan energi serta menyerap hara mineral esensial dari lingkungan baru (Yusnita, 2010).

Planlet yang dapat diaklimatisasi adalah planlet yang telah lengkap organ pentingnya seperti daun, akar, dan batang (jika ada), sehingga dalam kondisi lingkungan luar planlet dapat melanjutkan pertumbuhannya dengan baik. Bibit anggrek dari botol yang siap diaklimatisasi sebaiknya berukuran panjang sekitar 5-8 cm, mempunyai 3-5 daun membuka, beberapa akar dan bibit kokoh dan sehat (Yusnita, 2010).

Media untuk aklimatisasi untuk planlet anggrek supaya tumbuh baik maka sebaiknya bersifat porous, tidak mudah terdekomposisi, kemampuan mengikat air dan hara tinggi, tidak mudah menjadi sumber patogen, dan mudah diperoleh (Yusnita, 2010). Bahan media tanam yang dapat digunakan selama aklimatisasi antara lain adalah batang pakis, moss, arang sekam, serutan atau potongan kayu, dan serat sabut kelapa (Yusnita, 2010).

Serat sabut kelapa umumnya mudah diperoleh karena ketersediaannya banyak dan relatif murah. Menurut Astuti dan Nengah (2013) komposisi kimia serat sabut kelapa tua antara lain lignin (45,8%), selulosa (43,4%), hemiselulosa (10,25%), dan pektin (3,0%). Serat sabut kelapa yang belum diproses umumnya memiliki sifat mudah lapuk dan mudah busuk dan mengandung tanin yang kurang baik untuk pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* dan dapat menjadi sumber penyakit yaitu tumbuhnya jamur dan bakteri, sehingga sebelum digunakan sebagai media aklimatisasi planlet anggrek *Phalaenopsis* maka serat sabut kelapa direndam dengan fungisida terlebih dahulu.

Serutan kayu gergaji merupakan limbah dari sisa pengergajian kayu yang ketersediaannya banyak, mudah diperoleh dan murah. Menurut Lakitan (2004), Serutan kayu gergaji mengandung sedikit hara N, P, K, dan Mg, mengikat air yang baik dan terdapat komposisi kimia lain yang tidak mudah terdekomposisi, seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Oleh karena serutan kayu gergaji memiliki daya tahan yang sangat baik. Akan tetapi baik serutan kayu maupun potongan kayu memiliki kemampuan mengikat air yang sangat rendah, sehingga dalam penggunaannya media tanam tersebut lebih cepat kering. Perlakuan pada media tanam dari serutan kayu atau potongan kayu ini tidak jauh berbeda dengan media tanam dari pakis.

Penanaman bibit anggrek *phalaenopsis in vitro* selama aklimatisasi menggunakan sistem kompot, yaitu di dalam satu pot ditanam beberapa bibit. Biasanya bibit diaklimatisasi selama 4 – 6 bulan dalam kompot, selanjutnya secara individu dipindahkan ke dalam pot yang lebih besar lagi.

2.8 Peranan Pupuk Daun untuk Pertumbuhan Bibit

Pupuk daun adalah pupuk yang diaplikasikan melalui daun. Jenis pupuk yang dipakai untuk anggrek umumnya berupa pupuk majemuk, yaitu pupuk yang mengandung unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur hara makro adalah unsur hara yang banyak dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak misalnya N, P, K juga C, H, K, S, Mg dan Ca. Sedangkan unsur hara mikro adalah unsur hara yang sedikit dibutuhkan tanaman seperti Cu, Zn, Mo, Cl. Pengaplikasian pupuk harus disesuaikan dengan fase pertumbuhan tanaman.

Pupuk majemuk daun yang sering digunakan pada tanaman anggrek antara lain adalah Hyponex, Growmore, dan Gandasil. Gandasil D memiliki kandungan unsur hara N (20 %), P (15 %), K (15 %) serta tambahan unsur mikro Mg, Mn, B, Cu, Co, dan Zn. Hyponex mengandung N (20 %), P (20 %), K (29 %) serta tambahan unsur mikro (Iswanto, 2002). Growmore diantaranya tersedia dalam formulasi Growmore Biru (32:10:10) dan Growmore Merah (10:55:10). Growmore Biru mengandung kadar N tinggi, sedangkan Growmore Merah mengandung kadar P tinggi. Growmore juga dilengkapi dengan unsur hara mikro seperti Mg, Mn, Mo, Fe, Ca, Co, B, S, dan Zn (Lingga dan Marsono, 2004). Pemberian Growmore Biru dapat mendorong pertumbuhan vegetatif sedangkan pemberian Growmore Merah dapat mendorong pembungaan.

2.9 Benziladenin (BA) dan Giberrelin (GA)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan hara yang jika diberikan dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi proses fisiologi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Jika diaplikasikan dalam dosis tinggi ke tanaman akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Yusnita, 2010). Zat pengatur tumbuh diaplikasikan untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga tanaman tumbuh lebih baik dan berproduksi lebih tinggi.

Benziladenin (BA) merupakan salah satu kelompok ZPT sitokinin yang sering digunakan pada tanaman karena efektifitasnya tinggi, harganya murah, dan bisa disterilisasi. Zat pengatur tumbuh diaplikasikan ke tanaman dengan tujuan

untuk memacu pertumbuhan tanaman dan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan, dan diferensiasi. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Giberrelin sebagai hormon tumbuh pada tanaman berpengaruh terhadap memobilisasi karbohidrat selama perkecambahan, mendukung perpanjangan sel, aktivitas kambium, mendukung pembentukan RNA baru, serta sintesa protein (Taiz dan Zeiger, 2010), merangsang pembesaran dan pemanjangan ukuran sel sehingga terjadi peningkatan aktivitas fotosintesis (Salisbury and Ross, 1995).

III.METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan serangkaian studi yang meliputi beberapa tahapan pada pemuliaan *Phalaenopsis*, yang dimulai dari pemilihan dua jenis *Phalaenopsis* hibrida sebagai induk persilangan, memelihara tanaman hingga polong buah masak (tetapi belum pecah) dilanjutkan dengan pemanenan polong buah, yang digunakan untuk bahan percobaan I, yaitu studi pengecambahan biji. Biji yang berkecambah menjadi protokorm dalam botol-botol kultur, dipelihara di ruang kultur hingga berumur 3 bulan, hingga *seedlingPhalaenopsis* hibrida mempunyai dua daun membuka. *Seedling* ini digunakan untuk bahan tanaman pada percobaan II, yaitu studi pembesaran *seedlingin vitro*. Pada percobaan III (studi aklimatisasi planlet), *seedlingPhalaenopsis* yang digunakan untuk bahan tanaman sudah cukup besar ukurannya (4-5 cm) berdaun 4-6, dan sudah mempunyai 3-5 akar













Dua tetua *Phalaenopsis* hibrida yang dipilih adalah *Phalaenopsis* Ruby Lih Beauty yang berbunga merah keunguan dengan labellum merah hati lebih tua (P1), dan *Phalaenopsis* Mount Lip berbunga merah muda (pink) dengan *labellum* berwarna merah hati (P2) (Gambar 6).



Gambar 6. *Phalaenopsis* Ruby Lih Beauty (P1), dan *Phalaenopsis* Mount Lip (P2).

Persilangan dialellengkap pada bunga-bunga kedua tetua *Phalaenopsis* tersebut dilakukan pada tanggal 14 Mei 2014, sedemikian rupa sehingga terdapat empat pasang tetua persilangan yaitu P1 x P1, P1 x P2, P2 x P1 dan P2 x P2. Untuk masing-masing pasangan tetua tersebut dilakukan 4 persilangan, sehingga untuk semua pasangan dilakukan 16 persilangan (Tabel 1).

Tabel 1. Persilangan dialel lengkap dua tetua anggrek *Phalaenopsis*

Tetua Persilangan	P1 ♂ 	P2 ♂ 
P1 ♀ 	 X  Selfing	 X  Crossing
P2 ♀ 	 X  Crossing	 X  selfing

Setelah dilakukan penyerbukan bunga, dilakukan pelabelan dan pemeliharaan tanaman induk hingga dihasilkan polong buah yang dipanen pada umur 4,5 bulan setelah penyerbukan.

Penelitian ini terdiri dari 3 percobaan yaitu:

- I. Pengaruh media dasar (MS atau pupuk lengkap Growmore biru 2,5 g/l) dan konsentrasi kinetin (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l) terhadap penebaran biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis in vitro*.
- II. Pengaruh media dasar (MS atau pupuk lengkap Growmore biru 2,5 g/l) dan konsentrasi kinetin (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l) terhadap pertumbuhan *seedling Phalaenopsis in vitro*.
- III. Pengaruh jenis media (serat sabut kelapa atau serutan kayu gergaji) dan ZPT (BA 30 mg/l atau GA 30 mg/l) terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida.

3.1 Penyerbukan Anggrek untuk mendapatkan Polong Buah Berbiji.

Cara menyilangkan bunga *Phalaenopsis* hibrida adalah sebagai berikut :
Terlebih dahulu dilakukan pemilihan bunga yang akan digunakan sebagai induk jantan dan induk betina. Tanaman tua dipilih yang sehat (tidak menunjukkan gejala terserang hama dan penyakit), pertumbuhan batang yang kokoh, berakar banyak, kuntum bunga masih segar dan berjumlah banyak. Pada persilangan P1 x P2, bunga tanaman P1 digunakan sebagai induk betina sedangkan polen diambil dari bunga tanaman P2 (induk jantan) begitu juga sebaliknya pada persilangan P2 x P1, bunga tanaman P2 digunakan sebagai induk betina sedangkan polinasi diambil dari bunga tanaman P1 (induk jantan).

Polinasi atau serbuk sari diambil dari kantong sari (*anther cap*) bunga induk jantan dengan menggunakan tusuk gigi yang bersih, yaitu dengan cara

mencungkil pelan kantong sari, lalu menempelkan ujung tusuk gigi pada polinia, sehingga polinia menempel di ujungnya. Selanjutnya polinia dibawa ke bunga induk betina, ditempelkan pada putik, yaitu bagian lekukan berlendir yang terletak persis di bawah kantong sari. Setelah penyerbukan, labellum (bibir) bunga yang telah diserbuki dilepaskan supaya tidak menjadi landasan bagi serangga yang mungkin dapat menggugurkan serbuk sari atau membawa serbuk sari baru. Selanjutnya tanaman diberi label yang berisi informasi tetua betina, tetua jantan, tanggal penyilangan dan inisial penyilang. Penyerbukan yang berhasil ditandai oleh membesarnya bakal buah dan layunya perhiasan bunga setelah 7 hari dari proses penyilangan. Polong buah berbiji dipanen ketika sudah masak fisiologis tetapi belum pecah, yaitu pada umur 4,5 bulan sejak penyerbukan.

3.2 Percobaan I, Studi Pengecambahan Biji *Phalaenopsis* Hibrida:

Pengaruh media dasar (MS atau pupuk lengkap Growmore biru 2.5 g/l) dan konsentrasi kinetin (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l) terhadap pengecambahan biji dan pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* hibridain vitro.

3.2.1 Tempat dan Waktu Percobaan

Percobaan ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 2014.

3.2.2 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah polong buah berbiji yang dihasilkan dari persilangan P1xP1 dan antara P2xP2, yang sudah masak fisiologis namun buah belum pecah (Gambar 7).



Gambar 7. Polong angrek *Phalaenopsis* yang dipanen pada umur 4,5 bulan setelah penyerbukan yang bijinya akan disemai untuk bahan Percobaan I.

3.2.3 Rancangan Percobaan

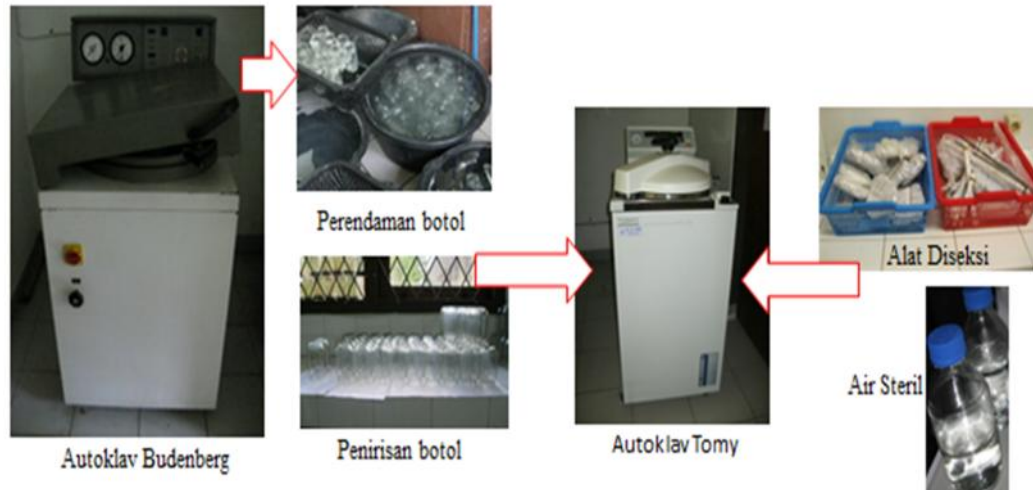
Percobaan ini dilaksanakan dalam rancangan teracak lengkap dengan enam perlakuan yang disusun secara faktorial 2×3 , masing-masing dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah formulasi media dasar, yaitu Murashige dan Skoog (MS) (1962) dan pupuk lengkap Growmore biru (NPK 32:10:10) pada konsentrasi 2,5 g/l. Faktor kedua adalah konsentrasi kinetin, yaitu 0, 0,5 mg/l atau 1,0 mg/l. Setiap satuan percobaan terdiri dari 6 botol kultur yang di dalamnya disemaikan biji angrek *Phalaenopsis* hibrida dalam jumlah yang diusahakan sama yaitu ditakar dengan ujung spatula steril.

3.2.4. Pelaksanaan Percobaan I

3.2.4.1 Penyiapan Botol Kultur, Akuades Steril dan Alat-Alat Tanam

Botol kultur dan alat-alat tanam seperti pisau *scalpel*, pinset dan alas keramik dicuci bersih dan disterilkan dengan autoklaf sebelum digunakan.

Akuades dimasukkan ke dalam botol-botol *Schott* hingga mencapai volume maksimum 2/3 leher botol, lalu disterilkan dengan autoklaf, (Gambar 8).

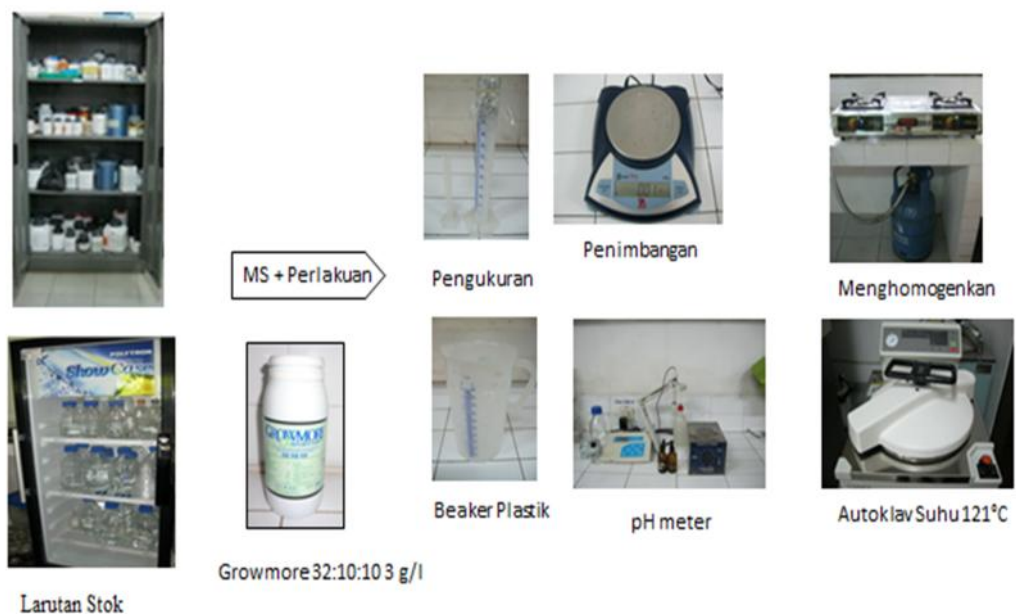


Gambar 8. Persiapan botol dan alat diseksi untuk pengulturan *in vitro*.

3.2.4.2 Pembuatan Media.

Media dasar yang diuji dalam percobaan ini adalah MS dan Growmore (Tabel Lampiran 14 dan 15). Kedua formulasi media dasar tersebut masing – masing ditambah dengan 150 ml/l air kelapa, 500 ml/l CH, vitamin MS, 20 g/l sukrosa, dan kinetin pada konsentrasi sesuai dengan perlakuan. Pembuatan media MS dilakukan dengan mula-mula membuat larutan stok makro, Ca, mikro A, mikro B, Fe, vitamin MS dan mio-inositol, sedangkan sukrosanya ditimbang. Disamping itu dibuat pula larutan stok kinetin. Setelah semua larutan stok garam mineral, stok vitamin, stok mio-inositol, sukrosa, stok kinetin dan air kelapa dimasukkan ke dalam gelas piala sesuai dengan takarannya, larutan media ditambah dengan akuades hingga volume akhir tertentu dan diaduk hingga homogen. Pembuatan media Growmore dilakukan dengan menimbang pupuk

lengkap Growmore biru dan sebanyak 2,5 g selanjutnya dilarutkan dalam akuadest. Setelah itu ditambahkan vitamin MS, sukrosa, dan air kelapa, CH, serta kinetin sesuai dengan perlakuannya masing-masing, kemudian ditambahkan pelarut akuades hingga volume akhir tertentu. Semua media perlakuan diatur pH-nya menjadi 5,8 sebelum diberi pematat media, yaitu 8 g/l bubuk agar-agar. Selanjutnya larutan media dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan agar-agar. Media dimasukkan ke botol kultur yang sebelumnya sudah disterilkan, 30 ml/botol, lalu ditutup plastik transparan dan diikat dengan karet gelang. Sterilisasi media dilakukan dengan mengautoklafnya pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm² selama 7 menit. Media yang sudah disterilkan disimpan pada suhu kamar selama sedikitnya satu minggu sebelum ditanami biji angrek. Bahan – bahan yang digunakan untuk pembuatan media kultur dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Alur pembuatan media untuk kultur *in vitro*

3.2.4.3 Sterilisasi Polong Buah dan Penanaman Biji

Sterilisasi bertujuan untuk menciptakan bahan tanaman yang akan digunakan untuk memperbanyak secara *in vitro* dalam kondisi aseptik. Untuk itu sebelum biji ditanam, polong buah anggrek *Phalaenopsis* hibrida yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi dilakukan dengan cara membersihkan kotoran yang menempel pada polong buah secara hati-hati. Selanjutnya polong buah dicuci dengan deterjen dan dicuci dengan air mengalir secara hati-hati. Setelah itu dilakukan sterilisasi polong buah anggrek di dalam *aminar air flow cabinet* (LAF). Polong buah direndam-kocok dalam larutan pensteril yang berisi air steril ditambah larutan Bayclin 15% dan Tween 20 sebanyak 1 tetes selama 10 menit, kemudian dibilas sebanyak 3 kali dengan air steril. Setelah itu polong buah dicelupkan ke dalam alkohol 96% dan dibakar dengan cepat sampai nyala api di permukaan polong buah padam. Perlakuan ini dilakukan dua kali. Selanjutnya polong buah diletakkan dalam cawan petri steril dan dipotong bagian ujung dan pangkalnya, sedangkan bagian tengahnya dibelah pada kedua sisinya dengan menggunakan pisau scalpel steril untuk mengeluarkan biji-biji anggrek dari polong (Gambar 10).

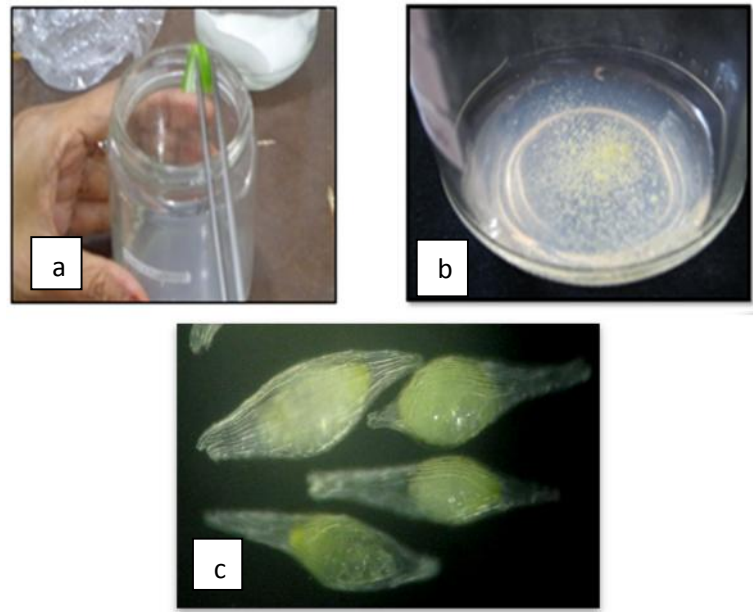


Gambar 10. Sterilisasi polong angrek *Phalaenopsis* hibrida (a) polong dicuci, (b) larutan pensteril, (c) polong disterilkan, (d) polong diletakan pada cawan petridis, (e) polong dibakar secara cepat, (f) polong dibelah untuk mengeluarkan biji angrek.

Penanaman biji dilakukandengan cara menaburkan sejumlah biji kepermukaan media perlakuan menggunakan ujung spatula steril, diusahakan agar volumenya sama(Gambar 11). Setelah itu botol ditutup kembali dan diikat dengan karet. Kemudian botol tersebut diberi label tanggal penanaman dan jenis bahan tanaman yang digunakan. Selanjutnya botoldiletakkan di rak-rak dalam ruang kultur yang bersuhu 24-28⁰C denganpencahayaan lampu flouresens ±1000 lux secara terus menerus.

Penanaman biji dilakukandengan cara menaburkan sejumlah biji kepermukaan media perlakuan menggunakan ujung spatula steril, diusahakan agar volumenya sama(Gambar 11). Setelah itu botol ditutup kembali dan diikat dengan karet. Kemudian botol tersebut diberi label tanggal penanaman dan jenis

bahan tanaman yang digunakan. Selanjutnya botol diletakkan di rak-rak dalam ruang kultur yang bersuhu $24-28^{\circ}\text{C}$ dengan pencahayaan lampu fluoresens ± 1000 lux secara terus menerus.



Gambar 11. Penyebaran polong angrek *Phalaenopsis* hibrida di media MS atau Growmore biru (a) biji disebar di media, (b) media yang telah diisi biji, (c) biji angrek dilihat dengan mikroskop.

3.2.4.4 Kondisi Ruang Kultur

Kultur jaringan harus steril sehingga dapat mengurangi kontaminasi kultur jaringan. Ruang kultur yang digunakan untuk memelihara kultur biji dan tanaman *in vitro* terkontrol baik temperatur, sirkulasi udara, kelembaban maupun kualitas dan lamanya cahaya. Semua kultur biji dan *seedling* dipelihara di rak-rak kultur dengan penerangan lampu fluoresens berintensitas ± 1000 lux dan suhu $24^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ secara terus menerus.

3.2.5 Pengamatan dan Analisis Data

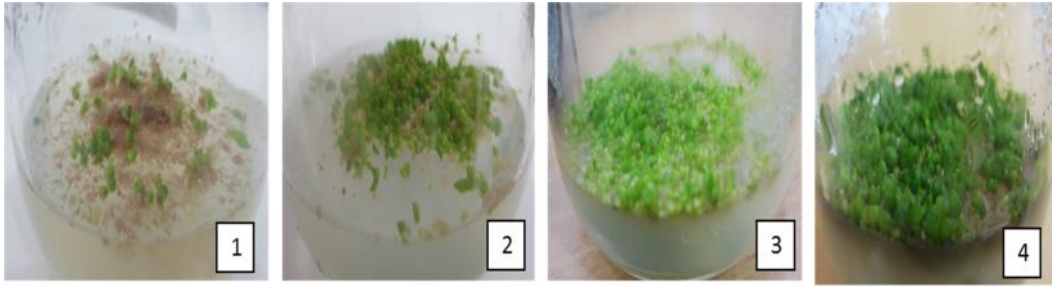
Pengamatan dilakukan pada waktu protokorm berumur 2 bulan setelah penyemaian biji *in vitro*, dengan variabel pengamatan sebagai berikut:

1. Pengamatan visual menggunakan kamera.
2. Menghitung banyaknya biji yang berkecambah yang dilakukan dengan skoring, hal ini dilakukan karena protokorm anggrek *Phalaenopsis* sangat kecil dan banyak sehingga sangat sulit untuk menghitungnya secara manual sehingga dilakukan secara skoring. Dilakukan dengan mengurutkan banyaknya biji yang berkecambah, dapat dilihat pada Gambar 12.
3. Menghitung persentase protokorm yang sudah membentuk primordia daun (Gambar 13).
4. Menghitung bobot 100 protokorm yang berkecambah.

Data dianalisis ragamnya dengan uji Bartlett, dan apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, analisis dilanjutkan dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 0,05.

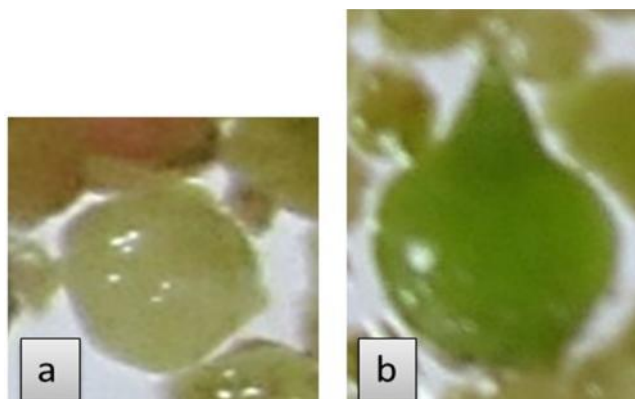
Tabel 2. Kriteria skoring untuk banyaknya biji *Phalaenopsis* hibrida yang berkecambah di media perlakuan setelah berumur 2 bulan sejak biji disemai

Nilai Skor	Banyaknya Biji Yang Berkecambah
1	Biji yang berkecambah sedikit
2	Biji yang berkecambah agak banyak
3	Biji yang berkecambah banyak
4	Biji yang berkecambah sangat banyak



Gambar 12. Penampakan visual banyaknya biji yang berkecambah pada setiap nilai skoring: Skor 1 biji yang berkecambah sedikit, skor 2 biji yang berkecambah agak banyak, skor 3 biji yang berkecambah banyak, skor 4 biji yang berkecambah sangat banyak.

Protokorm hasil perkecambahan biji pada umur 2 bulan setelah semai ada yang masih berbentuk globular, belum menampakkan primordia daun (Gambar 13a) namun ada pula yang sudah menampakkan primordia daun (Gambar 13b). Protokorm yang sudah mempunyai primordia daun dapat dianggap tumbuh lebih cepat daripada yang masih berbentuk globular. Oleh karena itu, persentase protokorm yang sudah mempunyai primordia daun pada umur tertentu (dalam percobaan ini ditentukan 2 bulan) dapat dianggap mempunyai pertumbuhan lebih cepat daripada yang kebanyakan masih berbentuk globular.



Gambar 13. Penampakan visual protokorm *Phalaenopsis* hibridain vitro berumur 2 bulan berbentuk globular (a), sudah membentuk primordia daun (b).

3.3 Percobaan II, Studi Pembesaran *SeedlingPhalaenopsis* hibrida *In Vitro*.

Pengaruh media dasar (MS atau pupuk lengkap Growmore biru) dan konsentrasi kinetin (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l) terhadap pertumbuhan *seedlingPhalaenopsis in vitro*.

3.3.1 Tempat dan Waktu Percobaan

Percobaan ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Januari sampai dengan bulan April 2015.

3.3.2 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah *seedlingPhalaenopsis* hibrida *in vitro* yang pertumbuhannya seragam dan sudah mempunyai sepasang daun membuka, serta berukuran kurang lebih 0.7-1.0 cm setelah 3 bulandikecambahkansetelah 3 bulandikecambahkan (Gambar 14).



Gambar 14. *SeedlingPhalaenopsis hibrida* awal yang dikulturkan di media perlakuan.

3.3.3 Rancangan Percobaan, Pengamatan dan Analisis Data

Percobaan ini dilaksanakan dalam rancangan teracak lengkap dengan tiga ulangan dengan enam perlakuan yang disusun secara faktorial 2 x 3. Faktor pertama adalah formulasi media dasar, yaitu Murashige dan Skoog (MS) (1962) (Tabel Lampiran 14) dan pupuk lengkap Growmore biru (NPK 32:10:10) (Tabel Lampiran 15) pada konsentrasi 2,5 g/l. Faktor kedua adalah konsentrasi kinetin, yaitu 0, 0,5 mg/l atau 1,0 mg/l. Setiap satuan percobaan terdiri dari 3 botol kultur, masing-masing berisi 4 *seedling* anggrek *Phalaenopsis* hibrida berukuran 0,7-1,0 cm dengan sepasang daun membuka. Setelah berumur tiga bulan sejak pemindahan *seedling* dilakukan pengamatan terhadap beberapa variabel yang mencerminkan pertumbuhan *seedling*, yaitu tinggi tanaman (cm), jumlah daun (helai), jumlah tunas (bh), jumlah akar (helai), panjang akar (cm), dan bobot segar akar (g), dan bobot segar tanaman (g).

Data dianalisis ragamnya dan jika nilai F-nya menunjukkan signifikansi, maka perbedaan nilai variabel yang diukur diuji lebih lanjut dengan uji bedanya taterkecil (BNT) pada taraf 0,05.

3.4 Percobaan III, Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet *Phalaenopsis* hibrida

Pengaruh Media (serat sabut kelapa atau serutan kayu gergaji) dan ZPT (BA atau GA) terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida

3.4.1 Waktu dan Tempat Percobaan

Percobaan dilakukan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung, mulai bulan Agustus 2014 sampai dengan bulan Desember 2014.

3.4.2 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah bibit botol anggrek *Phalaenopsis* hibrida yang diperoleh dari Handoyo Budi Orchids, Batu, Malang, Jawa Timur. Ukuran dan umur planlet *Phalaenopsis in vitro* tersebut kurang lebih sama (Gambar 15).



Gambar 15. Bibit botolan anggrek *Phalaenopsis* hibrida yang diperoleh dari Handoyo Budi Orchids, Batu, Malang, Jawa Timur untuk bahan aklimatisasi yang mempunyai ukuran yang kurang lebih sama.

3.4.3. Disain Percobaan, Pengamatan dan Analisis Data

Percobaan dilaksanakan menggunakan rancangan kelompok teracak lengkap, dengan 4 perlakuan. Perlakuan disusun secara faktorial 2 x 2. Sebagai faktor pertama adalah jenis media tanam (serutan kayu gergaji dan seratsabut kelapa) dan faktor kedua adalah perlakuan ZPT(BA 30 mg/l dan GA3 30 mg/l)). Perlakuan dikelompokkan berdasarkan bobot *seedling*. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali, dan setiap satu unit percobaan terdiri dari 10 bibit angrek yang ditanam secara bersama-sama dalam satu pot atau disebut kompot (*community pot*).

Setelah planlet berada dalam kondisi *ex vitro* selama 4 bulan, dilakukan pengamatan. Variabel yang diamati adalah keberhasilan aklimatisasi (%), jumlah daun (helai), panjang daun (cm), diameter daun (cm), jumlah akar (helai), panjang akar (cm), dan bobot segar (g).

Data dianalisis ragam dan jika nilai F-nya menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan, maka perbedaan nilai variabel yang diukur diuji lebih lanjut dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 0,05.

3.4.4 Pelaksanaan Percobaan 3

3.4.4.1 Cara Aklimatisasi Planlet *Phalaenopsis* Hibrida.

Sebelum aklimatisasi terlebih dahulu dilakukan *hardening* atau penguatan planlet yaitu dengan cara meletakkan botol-botol planlet angrek pada suhu ruang di tempat yang terkena cahaya matahari tidak langsung selama satu minggu, selanjutnya dilakukan aklimatisasi.

Langkah-langkah aklimatisasi planlet yaitu : mula-mula botol berisi planlet angrek *Phalaenopsis* hibrida diberi air bersih dan dikocok perlahan untuk memudahkan pengambilan planlet dari media agar-agar. Selanjutnya planlet angrek *Phalaenopsis* hibrida dikeluarkan secara hati-hati dengan menggunakan ujung pinset supaya akar dan daunnya tidak rusak. Planlet angrek yang telah keluar dari botol dicuci bersih dari sisa-sisa media yang mengandung sukrosa dengan cara hati-hati di bawah air keran mengalir, kemudian direndam dalam larutan fungisida Dithane M-45 10g/l selama sekitar 10 menit, kemudian ditiriskan dan ditaskert supaya air yang berlebihan menempel pada bintir serap oleh kertas. Selanjutnya planlet ditanam secara kompot pada media yang telah diisi arang kayu dan serutan kayu gergaji atau serabut kelapa sebanyak 40 bibit dalam satu pot dan diatur sedemikian rupa supaya tidak saling tumpang tindih, dan diletakkan pada ruang laboratorium kultur jaringan selama dua minggu. Setelah dua minggu di ruang kultur jaringan, kemudian ditimbang per 10 planlet untuk memperoleh keseragaman beratnya. Karena planlet masih muda dan berukuran kecil maka ditanam secara kompot sesuai dengan media perlakuan sebanyak 10 tanaman per pot secara serentak, selanjutnya diletakkan di meja rumah kaca bernaungan paranet ($\pm 50\%$ dari cahaya penuh). Untuk menjaga kelembaban media dan tanaman maka dilakukan penyiraman dengan air bersih setiap pagi hari. Pemeliharaan tanaman dengan pemberian pupuk daun Growmore biru (NPK 32:10:10) diberikan pada tanaman satu minggu sekali. Pemupukan dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan pupuk ke tanaman menggunakan *hand sprayer* sebanyak ± 10 ml (10 kali semprotan). Pemupukan dilakukan bersamaan dengan perlakuan

ZPT. Aplikasi ZPT (BA dan GA)

dilakukan setelah tanam anggrek *Phalaenopsis* hibrida berumur 1 bulan sampai 4

bulan dengan dosis masing - masing 30 mg/l. Aplikasi ZPT

dilakukan satu minggu sekali dengan cara menyemprotkan dengan menggunakan *hand*

sprayer sebanyak ±10 ml (10 kali semprotan) pada setiap perlakuan. Untuk

melindungi tanaman anggrek *Phalaenopsis* hibrida dari serangan hama seperti

tungau maka dilakukan penyemprotan insektisida matador dengan dosis 1 ml/l .

3.4.4.2 Media Tanam

Percobaan ini menggunakan 2 jenis media tanam yaitu serutan kayu

gergajidanserat sabut kelapa yang diletakkan di pot yang bagian dasarnya diberi

arang kayu (Gambar 12 a,b,c). Untuk menghilangkan tanin yang bersifat racun

pada bibit *Phalaenopsis* maka sabut kelapa

sebelum digunakan direndam dahulu dengan air bersih selama 3 x 24 jam dan

setiap hari air untuk merendam diganti supaya tanin yang terkandung pada serat

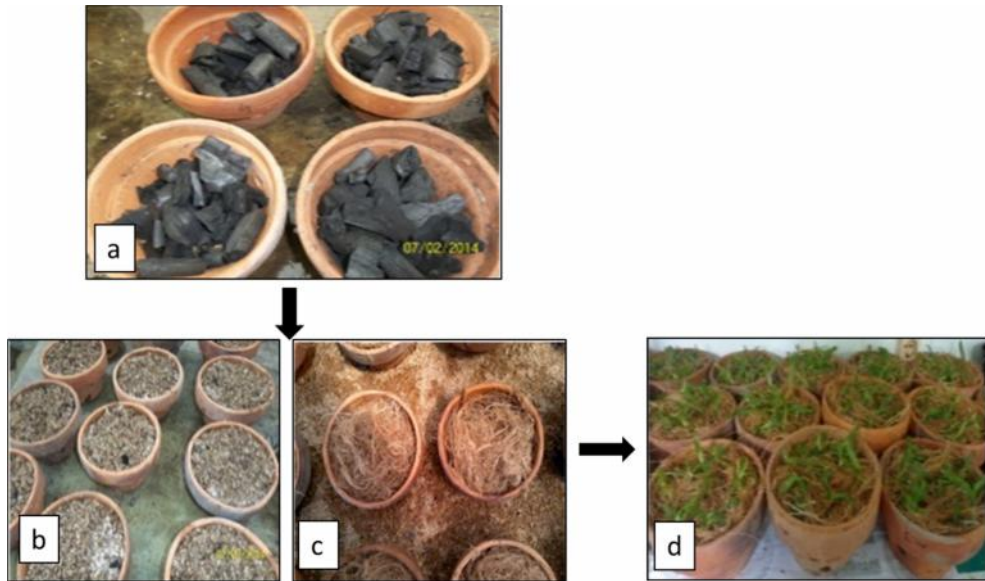
sabut kelapa cepat hilang. Selanjutnya serat sabut

kelapa direndam dalam larutan fungisida Antracol 5 g/l selama 24 jam, lalu ditiriskan.

Setelah itu media

dikeringkan dan selanjutnya dimasukkan ke dalam pot untuk ditanam bibit yang

sudah disiapkan (Gambar 16).



Gambar16 : Media tanam planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida (a)bagiandasar pot diisi arang kayu, (b) di atasnya diberi serutan kayu gergaji, (c) atau serat sabut kelapa, (d) planlet ditanam secara kompot.

3.4.5 Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan pada waktu tanaman anggrek berumur 4 bulan berada di kondisi *ex vitro* (di luarbotol). Variabel yang diamati adalah keberhasilan aklimatisasi (%), jumlah daun (helai), panjang daun (cm), diameter daun (cm), jumlah akar (helai), panjang akar (cm), dan bobot segar tanamam (g).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Percobaan I: Studi Perkecambahan *Phalaenopsis* Hibrida Biji *In Vitro*

1. Pada umur dua bulan setelah biji disemai, banyaknya biji yang berkecambah secara signifikan dipengaruhi oleh media dasar, dan konsentrasi kinetin, namun tidak dipengaruhi oleh interaksi antar kedua faktor. Media Growmore biru 2,5 g/l menghasilkan biji berkecambah yang lebih banyak daripada media MS. Demikian juga, penambahan 1 mg/l kinetin meningkatkan banyaknya biji berkecambah, sedangkan penambahan 0,5 mg/l kinetin tidak berpengaruh.
2. Pertumbuhan protokorm *Phalaenopsis* di media MS tanpa kinetin lebih baik daripada di media Growmore karena menghasilkan persentase protokorm yang sudah membentuk primordia daun dan bobot 100 protokorm yang lebih tinggi daripada perlakuan lain. Media Growmore yang ditambah dengan 0,5 atau 1 mg/l kinetin menghasilkan persen protokorm berprimordia daun cukup tinggi. Oleh karena itu, media Growmore + 1 mg/l kinetin dapat digunakan untuk penkecambahan biji *Phalaenopsis* hibrida sebagai alternatif yang mudah dan murah untuk menggantikan media MS.

Percobaan II: Studi Pertumbuhan Seedling *Phalaenopsis* Hibrida In Vitro

1. Setelah tiga bulan di dalam kultur *in vitro*, pertumbuhan *seedling Phalaenopsis* hibrida secara umum tidak dipengaruhi oleh media dasar kecuali jumlah tunas dan panjang akar, dimana media Growmore menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak dan akar lebih panjang dibandingkan dengan media MS.
2. Penambahan kinetin ke dalam media MS maupun Growmore maupun interaksi antar kedua faktor juga tidak berpengaruh terhadap semua variabel pertumbuhan *seedling* yang diamati.

Percobaan III: Studi Aklimatisasi Planlet *Phalaenopsis* Hibrida

1. Pada umur empat bulan sejak planlet dikeluarkan dari botol, baik jenis media, penambahan ZPT dan interaksi antara kedua tidak berpengaruh nyata terhadap persentase keberhasilan aklimatisasi, jumlah daun, panjang akar dan bobot segar planlet. Media serutan kayu gergaji maupun serat sabut kelapa, baik dengan maupun tanpa BA atau GA, semuanya dapat digunakan untuk aklimatisasi anggrek *Phalaenopsis* hibrida karena menghasilkan keberhasilan aklimatisasi 100%.
2. Media serutan kayu gergaji sedikit lebih baik daripada serat sabut kelapa karena menghasilkan diameter daun lebih tinggi.
3. Pemberian BA atau GA pada planlet *Phalaenopsis* yang diaklimatisasi secara umum tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mempelajari perlakuan beberapa jenis formulasi media yang lain terhadap pengecambahan *Phaeonopsis* hibrida *in vitro*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mempelajari perlakuan beberapa jenis media lain terhadap pertumbuhan planlet *Phaeonopsis* hibrida selama aklimatisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, A. 2011. Standar Operasional Prosedur Budidaya Bunga Potong Anggrek Terrestrial. Jakarta: Direktorat Budidaya dan Pascapanen Horikultura, Direktorat Jenderal Hortikultura Kementerian Pertanian.
- Astuti, H.K., dan D.K. Nengah. 2013. Efektifitas Pertumbuhan Jamur Tiram (*Plerotus osreatus*) dengan Variasi Media Kayu Sengon (*Paraserianthes falcatarial*) dan Sabut Kelapa (*Cocosmucifera*). Jurnal Sains dan Seni. Pomits Vol 2. No 2.
- Christenson, E.A. 2001. *Phalaenopsis* A Monograph. Timber Press, Portland Oregon. 330 p.
- Darmono, D.W. 2003. Menghasilkan Anggrek Silangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 77 hlm.
- Darmono, D.W. 2008. Bertanam Anggrek. Penerbit Panebar Swadaya. Jakarta
- Djaafarer, R. 2008. *Phalaenopsis species*. Cetakan II. Penebar Swadaya. Jakarta. 96 hal.
- Erfa, L., Ferziana, dan Yuriansyah. 2012. Pengaruh Formulasi Media dan Konsentrasi Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Phalaenopsis* *In Vitro*. Jurnal Penelitian Pertanian Terapan Vol.12(3): 169-174.
- George, E.F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture In Practice*. 2nd edition. Edington, Wilts, England: Exegetics Ltd. 1361 hlm
- George, E.F., and G-J de-Klerk. 2008. The components of plant tissue culture media. In: *Plant Propagation By Tissue Culture*. 3rd Edition. Volume I. The Background. George, E.F, M.A. Hall and G-J de-Klerk (eds). Springer, Dordrecht, The Netherland. 501p.
- Ginting, B. 2008. Media Tanam Anggrek. KP Penelitian Tanaman Hias, Departemen Pertanian. Dimuat pada surat kabar Sinar Tani.
- Gunawan, L.W. 1998. Teknik Kultur Jaringan. Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Gunawan, L.W. 2006. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta. 91 hlm.

- Handayani, Y. 2011. Persilangan Dialel Lengkap Dua Tetua Anggrek, Pengecambahan Biji dan Pembesaran *Seedling In Vitro* Serta Aklimatisasi Planlet *Phalaenopsis*. Tesis. Universitas Lampung. Tidak dipublikasikan.
- Hendaryono, D. P. S., dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Pengenalandan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif. Media. Kanisius. Yogyakarta.
- Hendaryono, D. P. S. 2001. Budidaya Anggrek dengan Bibit dalam Botol. Kanisius. Yogyakarta.
- Hew, C.S., and J.W.H. Yong. 2004. The Physiology of Tropical Orchids in Relation to The Industry. Second Edition: World Scientific. 370 p.
- Hidayati, R.D. 2007. Pengaruh Beberapa Konsentrasi Kinetin atau Pepton pada Perkecambahan Biji Anggrek *Denrobium* sp. Secara *In vitro*. (Skripsi). Universitas Lampung. 66 hlm.
- Indrawati, W. 2008. Hibridisasi Berbagai Tetua Anggrek *Dendrobium*, Optimasi Media Pengecambahan Biji *In Vitro* Serta Aklimatisasi Planlet untuk Menghasilkan Hibrida Baru. Tesis. Universitas Lampung. Tidak dipublikasikan.
- Iswanto, H. 2002. Petunjuk Perawatan Anggrek. Agromedia Pustaka. Jakarta 66 hal.
- Jenny, J., Rondonuwu, D.D. Pioh. 2009. Kebutuhan hara tanaman hias anggrek. *Soil environment* 7(1):73-79.
- Kasutjianingati, dan R. Irawan. 2013. Media Alternative Perbanyak *In-Vitro* Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis*) an Alternative Media For *In-Vitro* Multiplication Of (*Phalaenopsis Amabilis*). *Jurnal Agroteknos*. Vol. 3 No. 3. Hal 184-189 Issn: 2087-7706.
- Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seed. *American Orchid Society Buletin*. 15: 214-217.
- Lakitan. 2004. Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan. Buku. Cetakan ke 5. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 203 hal.
- Lingga, P., Marsono. 2004. Petunjuk Penggunaan Pupuk. Penebar Swadaya. Jakarta. 80-92.
- Mariska, I., dan S. F. Syahid. 1998. Upaya Penyediaan Benih Tanaman Jahe Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Litbang Pertanian* 17: 9-13
- Marlina, L. 2015. Studi Perkecambahan Biji dan Pembesaran *Seedling In Vitro*

- Serta Aklimatisasi Planlet Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida. Tesis. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 94 hlm.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. London. 344 p.
- Poehlman, J.M., and D.A. Sleper. 1996. *Breeding Field Crop* (Fourth Edition). Ames, Iowa: Iowa State University Press. Iowa: Iowa State University Press.
- Puspitaningtyas, D.M., S. Mursidawati, dan S. Wijayanti. 2006. Studi fertilitas anggrek *Paraphalaenopsis serpentilim* (J.J.Sm) A.D. Hawkes. Biodiversitas. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Hal 237-241.
- Ramadiana, S., R.D.Hidayati, D. Hapsoro, dan Yusnita. 2007. Pengaruh Pepton Terhadap Pengecambahan Biji Anggrek *Phalaenopsis amabilis* dan *Dendrobium* Hybrids *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Universitas Lampung*. Bogor. 1- 2 Agustus 2007.
- Rentoul, J.N. 2003. *Growing Orchids, Complete and Unbridged*. Singapore. Publishing Solutions. 790 p.
- Rukmana, R. 2000. *Budidaya Anggrek Bulan*. Kanisius. Yogyakarta. 76 hlm
- Salisbury, F. B., dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Dr. Diah R. Lukman dan Sumaryono. Jilid 3. ITB. 343 hlm.
- Sandra, E. 2002. *Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Sandra, E. 2012. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. IPB Press. Bogor.
- Sarwono, B. 2002. *Menghasilkan Anggrek Potong Kualitas Prima*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. Ed ke-5. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publisher. Sunderland, Massachusetts, USA. 782 hal.
- Tim Redaksi Trubus. 2005. *Anggrek Phalaenopsis*. Trubus Info Kit Vol 2. Penebar Swadaya. Jakarta. 228 p.
- Tisdale, S. L. W. N. Nelson, and J.D. Beaton. 1990. *Soil Fertility and*

Fertilizers. 4th Ed. Newyork. MacMillan. 75 page.

- Tuhuteru, S., M.L. Hehanussa, dan S.H.T. Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia* 1(1): 1-12.
- Widiastoety, D., dan S, Kartikaningrum. 2003. Pemanfaatan Ekstrak Ragi dalam Kultur *In Vitro* Planlet Media Anggrek. *Jurnal Hortikultura*. 13: 82-86.
- Vacin, E., and F. Went. 1949. Some pH Changes in Nutrient Solution. *Botanical Gazette* 110: 605-613.
- Yusnita. 2004. Kultur Jaringan: Cara memperbanyak Tanaman Secara Efisien. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 103 hlm.
- Yusnita. 2010. Perbanyak In Vitro Tanaman Anggrek. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 128 hlm.
- Yusnita. 2012. Pemuliaan Tanaman Untuk Menghasilkan Anggrek Hibrida Unggul. Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung. 179 hlm.
- Yusnita, dan Y. Handayani. 2011. Pengecambahan Biji Dan Pertumbuhan *Seedling Phalaenopsis* Hibrida *In Vitro* Pada Dua Media Dasar Dengan atau Tanpa Arang Aktif. *Jurnal Agrotropika* 16(2): 70-75, Juli-Desember 2011. 70-75 (1-6 hlm).
- Zasari, M. 2010. Studi perbanyak dan regenerasi *In Vitro* Protocorm-Like Bodies Serta Aklimatisasi Planlet Anggrek *Dendrobium* Hibrida. (Tesis). Fakultas Pertanian : Universitas Lampung. 67 hlm.