

ABSTRAK

Pelestarian *Ex-Situ* Anggrek Alam Melalui Identifikasi, Reintroduksi Dan Kultur *In Vitro* Biji Serta Studi Hibridisasi Anggrek Komersial

Oleh

Desi Maulida

Indonesia memiliki biodiversitas anggrek yang sangat besar. Perubahan ekosistem global, kebakaran hutan, bencana alam, alih fungsi lahan, penambangan, dan pengambilan biodiversitas hayati yang tidak bertanggungjawab, telah menyebabkan banyak jenis flora yang terancam punah atau mengalami pengurangan populasi yang signifikan termasuk anggrek. Oleh karena itu konservasi anggrek-anggrek alam menjadi mendesak untuk dilakukan. Salah satu kawasan hutan lindung di Lampung yang kaya akan kekayaan plasma nutfah anggrek adalah hutan Gunung Tanggamus. Kawasan Gunung Tanggamus termasuk daerah yang memiliki risiko bencana alam dengan kriteria yang sedang hingga rendah. Kondisi ini menyebabkan potensi berkurangnya sumberdaya hayati angrek di wilayah Gunung Tanggamus sehingga upaya konservasi sangat diperlukan. Di antara upaya untuk menopang konservasi anggrek alam adalah studi botani, studi perbanyakan tanaman, baik secara konvensional maupun secara *in vitro*, studi adaptasi, dan studi pemanfaatan. Penelitian ini bertujuan untuk (1) mengidentifikasi dan menginventarisasi anggrek alam dari Gunung Tanggamus, Provinsi Lampung; (2) mempelajari kesesuaian tegakan untuk re-introduksi spesies anggrek alam ke kawasan hutan lindung; (3) mengupayakan pelestarian *ex situ* beberapa spesies anggrek melalui kultur *in vitro* biji hasil *selfing* atau silang dalam, dan (4) mendapatkan progeni anggrek hasil hibridisasi inter-spesifik dan hibridisasi kompleks dari tetua beberapa spesies dan hibrida *Dendrobium*. Penelitian ini dilaksanakan di rumah kaca anggrek Anarda Orchids, Bandar Lampung, Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung, dan Taman Hutan Raya Wan Abdul Rachman, Lampung. Penelitian ini terdiri dari empat studi. **Studi pertama** adalah identifikasi dan inventarisasi anggrek alam yang berasal dari Gunung Tanggamus, yang dilakukan dengan cara melakukan pengamatan morfologi tanaman secara langsung dan mendokumentasikan 100 anggrek spesies. Karakterisasi morfologi tanaman anggrek didasarkan atas 22 karakter dengan menggunakan skoring yang dikembangkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian Tahun 2014. **Studi kedua** adalah kesesuaian delapan jenis pohon (tegakan) untuk reintroduksi anggrek *Rhynchostylis retusa* di kawasan hutan lindung Taman Hutan Raya Wan Abdul Rachman. Percobaan ini disusun secara faktorial dalam rancangan acak kelompok

lengkap (RAKL) dengan dua faktor dan empat ulangan. Faktor pertama adalah delapan jenis tegakan yang terdiri dari *Areca catechu*, *Parkia speciosa*, *Aleurites moluccanus*, *Dalbergia sissoo*, *Terminalia catappa*, *Cocos nucifera*, *Ceiba pentandra*, dan *Durio zibethinus*. Faktor kedua adalah ketinggian tempat penanaman anggrek yaitu 2 meter dan 4 meter. Analisis ragam dilakukan terhadap data hasil pengamatan, dan jika terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) Tukey. **Studi ketiga** adalah kultur *in vitro* beberapa spesies anggrek melalui biji hasil *selfing* alami maupun silang dalam buatan. Biji yang dikulturkan berasal dari hasil *selfing* alami *Dendrobium discolor* var. Tanimbar, *Dendrobium discolor* var. Merauke, serta hasil *selfing* buatan *Dendrobium mirbelianum* dan *Dendrobium nindii*. Setelah disterilkan, biji-biji anggrek dikulturkan pada enam formulasi media kultur, yaitu Vacin dan Went (VW), Murashige dan Skoog (MS) dan 2 g/l pupuk daun lengkap (NPK 32:10:10), dengan atau tanpa penambahan 2 g/l tripton. Pengamatan dilakukan pada umur *seedling* 4, 6 dan 8 bulan setelah tanam terhadap berbagai variabel pertumbuhan *seedling*. Data dianalisis ragamnya, dan dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's multiple range test). **Studi keempat** adalah upaya peningkatan performa anggrek dan perakitan hibrida anggrek baru bernilai ekonomi tinggi. Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan yang berkesinambungan yaitu hibridisasi interspesifik dan hibridisasi kompleks dari beberapa tetua persilangan sebagai percobaan satu, perkecambahan biji *in vitro* pada enam formulasi media (MS, VW, 2 g/l pupuk daun lengkap (NPK 32:10:10) dengan atau tanpa 2 g/l tripton) sebagai percobaan dua, dan pertumbuhan *in vitro* *seedling* anggrek hibrida pada keenam media tersebut sebagai percobaan tiga. Data hasil penyerbukan disajikan dalam bentuk persentase keberhasilan polinasi yang dibahas secara deskriptif, umur panen buah, diameter, bobot, dan panjang buah dianalisis secara statistik dengan analisis ragam, dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Percobaan dua dan tiga dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap, tiga ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari sedikitnya lima botol kultur, masing-masing botol berisi ditanam biji dengan volume tertentu (percobaan dua) dan ditanami 10 eksplan untuk percobaan tiga. Data dari setiap variabel pengamatan dianalisis ragam dan jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, maka pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji BNJ 0,05.

Hasil studi 1 mengenai identifikasi dan inventarisasi anggrek spesies yang berasal dari Gunung Tanggamus menunjukkan bahwa (1) Tingkat ketidakmiripan antar klaster tergolong rendah, yakni 8,5% pada genus *Dendrobium* dan 10% pada genus *Eria*, sehingga persilangan antar spesies di dalam genera yang sama masih sangat mungkin terjadi, (2) Dari hasil analisis kekerabatan *Dendrobium* yang diperoleh, secara umum antar-spesies *Dendrobium* memiliki tingkat ketidakmiripan 19%, sedangkan antar-spesies *Eria* hanya memiliki ketidakmiripan antar spesies sebesar 17%. (3) Terdapat tiga pasang spesies yang sangat mirip satu sama lain pada genera *Dendrobium* berdasarkan karakter morfologi yang diamati, yaitu *D. annae* dengan *D. mutabile*, *D. anosnum* dengan *D. aphyllum*, dan *D. leonis* dengan *D. subulatum*.

Hasil studi 2: reintroduksi anggrek *Rhynchostylis retusa* di Taman Hutan Raya Wan Abdur Rahman. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pola variasi suhu

dan kelembaban pada dua ketinggian pohon *Dalbergia sissoo* lebih stabil dibandingkan dengan variasi suhu dan kelembaban pada tegakan *C. nucifera*. (2) Secara umum, anggrek *Rhynchostylis retusa* yang ditempelkan pada ketinggian 4 m memiliki persentase berbunga, panjang bunga dan panjang axis yang lebih tinggi dibandingkan tanaman yang ditanam pada ketinggian 2 m pada pengamatan 36 MST. (3) Tegakan *D. sissoo* menghasilkan jumlah akar total dan jumlah akar anggrek yang menempel di kulit pohon paling banyak dibandingkan dengan tegakan lain pada kedua ketinggian. (4) *D. sissoo* juga menghasilkan persentase *R. retusa* berbunga paling tinggi dan jumlah daun anggrek terbanyak dibandingkan tegakan lainnya.

Studi 3 pelestarian *ex situ* beberapa spesies anggrek melalui kultur *in vitro* biji hasil *selfing* menunjukkan bahwa (1) tidak ada hambatan inkompatibilitas pada seluruh persilangan *selfing* anggrek *Dendrobium*, prosedur persilangan efektif dan dapat diterapkan pada persilangan anggrek lainnya; (2) Biji anggrek hasil *selfing* dapat berkecambah dan *seedling*-nya tumbuh baik pada semua media yaitu media VW, MS atau 2 g/l pupuk lengkap NPK 32:10:10, ; (3) Pupuk daun yang ditambah dengan tripton dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan yang baik pada *seedling* *Dendrobium mirbelianum*, *Dendrobium nindii*, *Dendrobium discolor* Merauke, dan *Dendrobium discolor* Tanimbar.

Studi 4a: hasil hibridisasi interspesifik, perkecambahan benih *in vitro*, pertumbuhan bibit dan aklimatisasi plantlet menunjukkan bahwa; (1) persilangan resiprokal antara *D. mirbelianum* x *D. nindii* dan *D. mirbelianum* x *D. discolor* semuanya menghasilkan polong buah, namun persilangan *D. nindii* x *D. mirbelianum* menghasilkan ukuran buah yang relatif lebih besar dibandingkan dengan persilangan lainnya, dan hanya persilangan resiprok antara *D. mirbelianum* x *D. nindii* yang biji-bijinya dapat berkecambah dan *seedling*-nya tumbuh dengan baik; (3) Persilangan dengan *D. nindii* sebagai tetua betina menghasilkan *seedling* yang tumbuh lebih baik daripada persilangan resiproknya. Selain itu, penambahan tripton ke dalam semua media dasar secara signifikan meningkatkan pertumbuhan *seedling* *Dendrobium* hibrida. Secara keseluruhan, pupuk lengkap NPK (32:10:10) +2 g/l tripton merupakan media terbaik untuk pertumbuhan semai anggrek, ditunjukkan oleh baik tinggi maupun berat *clump seedling*. **Hasil studi 4b,** yaitu hibridisasi kompleks menunjukkan bahwa; (1) Tidak ada hambatan inkompatibilitas pada seluruh persilangan hibrida kompleks *Dendrobium*; (2) Hasil penelitian ini merekomendasikan penggunaan media pupuk lengkap NPK (32:10:10) untuk perkecambahan benih anggrek karena paling mudah dan efisien dibanding media lain; (3) Pupuk daun+tripton dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan yang lebih baik pada *seedling* hibrida *Dendrobium*.

Kata Kunci: anggrek, *ex situ*, hibridisasi, identifikasi, *in vitro*, reintroduksi.

ABSTRACT

Studies on *Ex-Situ* Conservation of Natural Orchids through Identification, Reintroduction, *In Vitro* Seed Cultures, and Commercial Orchid Hybridization

by

Desi Maulida

Indonesia has a very large biodiversity of orchids. Changes in global ecosystem, forest-fire, and un-sustainable harvesting of biodiversity have caused many types of flora to become endangered or to become a significant reduction in population, including orchids. Therefore, conservation of natural orchids is urgent to conduct. One of the protected forest areas in Lampung which is rich in orchid germplasm is the Tanggamus Mount Forest. The Tanggamus Mount area has a natural disaster risk with moderate to low criteria. This area has the potential for reducing the biological resources of orchids. Therefore, conservation of orchids indigenous of Tanggamus Mount area is urgently needed. Studies to support natural orchid conservation include botanical studies, plant propagation studies both conventionally and *in vitro* propagation, studies on orchid adaptation, and germplasm utilization studies. This research aimed (1) to inventory and characterize natural orchids native to Tanggamus Mount forest, Lampung Province, (2) to obtain methods to reintroduce natural orchid species in various trees in Great Forest Park (Taman Hutan Raya) of Wan Abdul Rachman, Lampung Province, (3) to conserve *ex-situ* several orchid species through *in vitro* culture of seeds resulting from natural or artificial *selfing*, and (4) to produce hybrid progenies through inter-specific hybridization and complex hybridization. This research was conducted at the Anarda Orchid Greenhouse, Plant Sciences Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Lampung, and the Great Forest Park of Wan Abdul Rachman, Lampung Province, Indonesia.

This research consisted of four studies. **The first study:** Identification and characterization of natural orchids from Mount Tanggamus, Lampung Province. This study was conducted through direct morphological observations, characterization and documentation of 100 orchids species, including intact plants and their organs. Morphological characterization of *Dendrobium* and *Eria* were conducted using scoring based on 22 characters developed by the Agricultural

Research and Development Agency of The Ministry of Agriculture issued in 2014. **The second study:** Reintroduction of *Rhynchostylis retusa* to various trees (stands) in the Great Forest Park of Wan Abdul Rachman, Lampung. The study was conducted in a completely randomized block design with four replications. The treatments were factorially arranged in an (8x2) factors. The first factor was eight species of trees, namely *Areca catechu*, *Parkia speciosa*, *Aleurites moluccanus*, *Dalbergia sissoo*, *Terminalia catappa*, *Cocos nucifera*, *Ceiba pentandra*, and *Durio zibethinus*. The second factor was two heights of the orchid planting sites, namely two and four meters. Observation was conducted on the new root formation, growth and flowering of the orchid *R. retusa* mounted on the trees. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and if there was significant different among treatments, the mean separation analysis was done by Tukey's HSD (honestly significant difference) test. **The third study:** *In vitro* seed cultures of several orchids species from artificial selfing and natural selfing. The orchid species used for natural selfing were *Dendrobium discolor* Tanimbar, and *Dendrobium discolor* Merauke, while those for artificial self-pollination were *Dendrobium mirbelianum* and *Dendrobium nindii*. Fruit pods were sterilized, and seeds were aseptically sown on six media formulation consisted Vacin and Went (VW), Murashige and Skoog (MS) and commercial foliar fertilizer NPK 32:10:10 at 2 g/l, with or without addition of 2 g/l tryptone. Data on seedling growth were subjected to ANOVA, followed by the mean separation analysis using DMRT (Duncan multiple range test).

The fourth study: Attempts to improve orchid performance and to develop high economic value of new hybrid orchid progenies through hibridization. This study consisted of three consecutive experiments, i.e., (1) interspecific and complex hybridization of several parents; (2) *in vitro* seed germination on six media formulation as mention above (VW, MS, foliar fertilizer of NPK 32:10:10 at 2 g/l with or without 2 g/l tryptone), and (3) *in vitro* growth of the hybrid seedlings on the six media tested. Observations in the first experiments include the percentage of successful pollinations to form fruits, mature fruit harvesting age, diameters, weights, and length of the fruits. Data were analyzed using ANOVA, followed by DMRT. Data on seed germination and *in vitro* growth of hybrid seedlings were also subjected to ANOVA, and if there was any significant different among treatments, the mean separation procedures were done using Tukey's HSD test.

Results of the first study showed that (1) The dissimilarity level between orchid clusters was low, i.e., 8.5% in the genus of *Dendrobium* and 10% in the *Eria*. Therefore crossing among these species within similar genera could possibly to occur. (2) In general, in the genus of *Dendrobium*, phylogeny analysis showed that there was an average of 19% dissimilarity level among species and up to 17% of dissimilarity among species in the genus of *Eria*. (3). There were three very similar pairs of species in the genus *Dendrobium* based on the observational

characters, namely *D. annae* and *D. mutabile*, *D. anosnum* and *D. aphyllum*, and *D. leonis* and *D. subulatum*.

Results of the second study showed that (1) the daily pattern of temperature and humidity in the two different heights (2 m and 4 m) of *D. sissoo* stands were more stable than those on *C. nucifera* stands. (2) At the 36 weeks after planting, *Rhynchostylis retusa* plants mounted at a height of 4 m had a higher percentage of flowering, flower length, and axis length than those grown at a height of 2 m. (3) *Rhynchostylis retusa* grown at different heights on *D. sissoo* produced the highest number of attached roots and number of total roots than those planted on other stands. (4) The orchid *R. retusa* mounted on *D. sissoo* produced the highest percentage of flowering and number of leaves compared to those mounted on other stands.

Results of the third study showed that (1) there was no incompatibility barriers to all *Dendrobium* orchids, both in selfing and in the crossing of several parent plants tested, (2) Orchid seeds produced from self pollinations could germinate and grow well in all media tested, especially on MS or foliar fertilizer with addition of tryptone; (3) Foliar fertilizer of NPK 32:10:10 at 2 g/l with addition of 2 g/l tryptone appeared to be the best media to support *in vitro* growth and development of *Dendrobium mirbelianum*, *Dendrobium nindii*, *Dendrobium discolor* Merauke, and *Dendrobium discolor* Tanimbar seedlings.

Results of the fourth study showed that : (1) *D. mirbelianum* (P1) could be reciprocally crossed to *D. nindii* (P2) and *D. discolor* var. Merauke (P3), and all crosses produced fruit pods. However, (2) Crossing of *D. nindii* x *D. mirbelianum* resulted in relatively larger fruits compared to the other crosses, and (3) crosses of *D. nindii* as a female parent resulted in better seedling growth than that as a male parent. Moreover, the addition of tryptone to all basal media tested significantly increased seedling growth. In general, 2 g/l of foliar fertilizer NPK 32:10:10 with addition of 2 g/l tryptone was the best medium for the growth of orchid seedlings, as shown by both clump heights and fresh weights. The results of the second experiment (4b) showed that (1) there was no incompatibility barriers in all of the complex hybrid crosses among *Dendrobium* parent plants (2) The results of this study recommend the use of foliar fertilizer NPK 32:10:10 at 2 g/l as media for orchid seed germination, since it was the simplest and most efficient medium compared to the other formula, and (3) The foliar fertilizer medium with addition of 2 g/l tryptone resulted in the best *in vitro* growth of *Dendrobium* hybrid seedlings.

Key Words: *characterization, ex situ, hybridization, in vitro, orchid, reintroduction.*