

**PELESTARIAN *EX SITU* ANGGREK ALAM MELALUI
IDENTIFIKASI, REINTRODUKSI DAN KULTUR *IN VITRO*
SERTA STUDI HIBRIDISASI ANGGREK KOMERSIAL**

(DISERTASI)

Oleh

DESI MAULIDA



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

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.*

**PELESTARIAN *EX SITU* ANGGREK ALAM MELALUI
IDENTIFIKASI, REINTRODUKSI DAN KULTUR *IN VITRO*
SERTA STUDI HIBRIDISASI ANGGREK KOMERSIAL**

Oleh

Desi Maulida

DISERTASI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
DOKTOR**

pada

**Program Doktor Ilmu Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Disertasi : Pelestarian *Ex Situ* Anggrek Alam melalui Identifikasi, Reintroduksi dan Kultur *In Vitro* serta Studi Hibridisasi Anggrek Komersial

Nama Mahasiswa : Desi Maulida

No. Pokok Mahasiswa : 1734171005

Program Studi : Doktor Ilmu Pertanian

Fakultas : Pertanian



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

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

Dr. Agustiansyah, S.P., M.Si.
NIP 19720804 200501 1 002

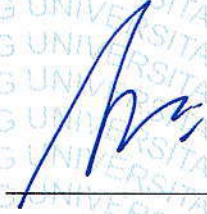
Ketua Program Studi Doktor Ilmu Pertanian

Dr. Ir. Slamet Budi Yuwono, M.S
NIP 19641223 199403 1 003

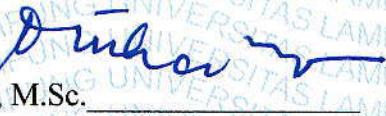
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



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



Dr. Agustiansyah, S.P., M.Sc.



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



2. Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si
NIP. 19611020 198603 1 002

**a.n. Dekan
Wakil Dekan Bidang Akademik
dan Kefasama,**



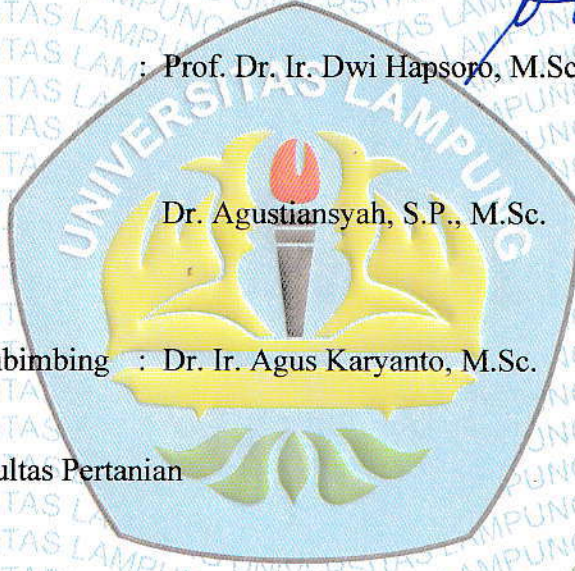
Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.
NIP. 196406131987031002

3. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung

Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP 196403261989021001



Tanggal Lulus Ujian : 23 Mei 2023



PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya di dalam disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis dan/atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Bandar Lampung, Mei 2023
Yang Menyatakan,



Desi Maulida
NPM 1734171005

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 18 Desember 1982. Penulis merupakan anak keenam dari enam bersaudara dari bapak Tetra Isnaini (Almarhum) dan ibu Masitoh.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Sukajawa pada tahun 1994, pada tahun 1997 Penulis menyelesaikan pendidikan di SLTPN 1 Bandar Lampung, dan menyelesaikan pendidikan di SMUN 12 Bandar Lampung pada tahun 2000, pada tahun 2003 Penulis menyelesaikan pendidikan di Politeknik Negeri Lampung, Jurusan Budidaya Tanaman Pangan, Program Studi Hortikultura. Selanjutnya pada tahun 2006 Penulis diterima di Universitas Lampung, Fakultas Pertanian, Jurusan Budidaya Pertanian, Program Studi Hortikultura melalui alih program dari Politeknik Negeri Lampung. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Pascasarjana Universitas Lampung pada Program Studi Magister Agronomi pada tahun 2014. Tahun 2017 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Doktor Ilmu Pertanian, Universitas Lampung.

Sejak tahun 2005 penulis bekerja pada Politeknik Negeri Lampung hingga sekarang. Penulis telah menikah pada tahun 2008 dengan seorang laki-laki yang bernama Dwi Puji Hartono dan telah dikaruniai tiga orang anak yang bernama M. Adyaraka Fardhan Hartono, Fathan M. Hafidz Hartono, dan Kayla Shidqia Azzahra Hartono.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan disertasi ini dapat lancar diselesaikan. Disertasi dengan judul " Pelestarian *Ex Situ* Anggrek Alam melalui Identifikasi, Reintroduksi dan Kultur *In Vitro* serta Studi Hibridisasi Anggrek Komersial" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor Ilmu Pertanian di Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung yang telah memfasilitasi tersedianya sarana dan prasarana yang diperlukan untuk perkuliahan di Program Doktor Ilmu Pertanian, Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan kesempatan, kemudahan, fasilitas kepada penulis untuk menyelesaikan program doktor di Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Murhadi, S.T., M.Si. selaku Direktur Program Pascasarjana yang telah memfasilitasi tersedianya sarana dan prasarana serta pembinaannya terhadap kelancaran studi di Program Doktor Ilmu Pertanian, Universitas Lampung.
4. Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. selaku Promotor yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi, dorongan semangat dalam penelitian dan perbaikan penulisan disertasi.

5. Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc. selaku ko-Promotor yang telah memberikan bimbingan, arahan, dorongan semangat dalam penelitian dan perbaikan penulisan disertasi.
6. Dr. Ir. Agustiansyah, M.Si. selaku ko-Promotor yang telah memberikan bimbingan, arahan, dorongan semangat dalam penelitian dan penulisan disertasi.
7. Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc. selaku Pembahas/Penguji yang sudah bersedia meluangkan waktunya memberikan koreksi sekaligus perbaikan dan dorongan semangat kepada penulis.
8. Prof. Dr. Ir. Dewi Sukma, M.Si. selaku penguji eksternal yang bersedia meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan saran perbaikan terhadap penulisan disertasi.
9. Dr. Ir. Slamet Budi Yuwono, M.Si. selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan arahan, dan kemudahan fasilitas selama penulis menyelesaikan Pendidikan program Doktor di Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
10. Dr. Samsul Rizal, S.P., M.Si, Sekretaris Program Studi Doktor Ilmu Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis.
11. Bapak dan Ibu Dosen Program Doktor Ilmu Pertanian yang telah memberikan ilmu dan wawasan pengetahuan selama penulis kuliah S3.
12. Rahmadyah Hamiranti, S.P., M.Si. Hayane Adeline Warganegara, S.P, M.Si., Rizki Bagus Nugroho, S.P., M.Si. Septiana, S.P., M.Si. Onny Chrisna Pandu Perdana, S.P., M.Si. yang bersedia untuk membantu pelaksanaan penelitian dan pengolahan data.
13. Prof. Dr. Ir. Hamim Sudarsono, M.Sc., Ketua Program Studi Doktor Ilmu Pertanian Universitas Lampung periode 2014-2019 yang telah memberikan motivasi dan dorongan semangat untuk menyelesaikan pendidikan ini.

14. Tim admin Pascasarjana Ilmu Pertanian FP UNILA: mbak Fitria Meysti, S.P., M.P, mbak Rayi, mas Syamsuddin, dan mas Eddy, atas bantuannya selama saya menjalani pendidikan.
15. Eni Puspasari, S.P., M.Si. Kepala UPTD KPHK Tahura Wan Abdurrahman, Khusnuzahroh dan Meylina Aditya Wijayanti, Anarda Orchid dan Bambang Febrianto, pecinta anggrek spesies Gunung Tanggamus yang telah banyak membantu selama penulis melakukan penelitian di lapangan.
16. Teman seperjuangan selama menjadi mahasiswa S3 Ilmu Pertanian: Analianasari, S.P., M.Si. atas semua bantuannya.
17. Para dosen, PLP, Admin, Alumni, dan Mahasiswa Politeknik Negeri Lampung khususnya Jurusan Budidaya Tanaman Pangan yang telah memberikan motivasi dan dorongan semangat untuk menyelesaikan pendidikan ini
18. Keluarga penulis, Ayahanda Tetra Isnaini (Alm), Ibunda Masitoh, kakak-kakak: Fajarieta Riesmawati, S.Pd., M.Pd., Diah Safitri, Ratih Maisaroh, S.H., M.H., Rachmat Ramadhan, S.E., M.E., Muhammad Ikhwan, S.Si., ananda Muhammad Adyaraka Fardhan Hartono, ananda Fathan Muhammad Hafidz Hartono, ananda Kayla Shidqia Azzahra Hartono dan suami tercinta Dwi Puji Hartono, S.P., M.Si., atas semua bantuan, doa, dorongan semangat dan pengorbanannya untuk saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Mudah-mudahan kebaikan Ibu dan Bapak semua dicatat oleh Allah SWT sebagai amal ibadah yang akan dibalas dengan pahala berlipat ganda.

Bandar Lampung, Mei 2023

Desi Maulida

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR	xxii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Permasalahan	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Nilai Kebaruan dan Kedalaman	5
1.6 Luaran Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Anggrek	6
2.2 Konservasi Anggrek	10
2.3 Persilangan Anggrek.....	12
2.4 Mikropropagasi <i>Dendrobium</i>	15
2.5 Reintroduksi Anggrek.....	19
III. KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	21
3.1 Kerangka Pemikiran	21
3.2 Hipotesis	28
IV. TAHAPAN DAN RUANG LINGKUP PENELITIAN	30
4.1 Tahapan Penelitian.....	30
4.2 Ruang Lingkup Penelitian	35
STUDI -1. Identifikasi, Inventarisasi, dan Karakterisasi Taksonomi Anggrek Spesies dari Gunung Tanggamus, Lampung	37
I. PENDAHULUAN	37
1.1 Latar Belakang.....	37
1.2 Tujuan Penelitian	38
1.3 Hipotesis	38
II. BAHAN DAN METODE	39
2.1 Tempat dan Waktu.....	39

2.2 Bahan dan Alat	39
2.3 Pelaksanaan Penelitian	39
2.4 Rancangan Penelitian, Variabel, dan Analisis Data	40
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
3.1 Hasil	41
3.2 Pembahasan	51
IV. KESIMPULAN	55
3.1 Kesimpulan	55
3.2 Saran	55

**STUDI - 2. Reintroduksi Bibit Anggrek Ke Kawasan Hutan Lindung Taman
Hutan Raya Wan Abdul Rahman56**

I. PENDAHULUAN	56
1.1 Latar Belakang	56
1.2 Tujuan Penelitian	59
1.3 Hipotesis	59
II. BAHAN DAN METODE	60
2.1 Tempat dan Waktu	60
2.2 Bahan dan Alat	61
2.3 Pelaksanaan Penelitian	61
2.4 Rancangan Penelitian, Variabel dan Analisis Data	63
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	64
3.1 Hasil	64
3.2 Pembahasan	76
IV. KESIMPULAN	80
3.1 Kesimpulan	80
3.2 Saran	80

**STUDI - 3. Pelestarian *Ex Situ* Beberapa Spesies Anggrek melalui Kultur
In Vitro Biji Hasil Selfing81**

I. PENDAHULUAN	81
1.1 Latar Belakang	81
1.2 Tujuan Penelitian	85
1.3 Hipotesis	85
II. BAHAN DAN METODE	86
2.1 Tempat dan Waktu	86

2.2 Bahan dan Alat	86
2.3 Pelaksanaan Penelitian.....	86
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	90
3.1 Hasil Penelitian	90
3.2 Pembahasan	99
IV. KESIMPULAN	105
3.1 Kesimpulan.....	105
3.2 Saran.....	105
STUDI- 4a. Hibridasi Interspesifik <i>Dendrobium mirbelianum</i> x <i>D. Nindii</i> atau <i>D. Discolor</i>, Perkecambahan Benih <i>In Vitro</i>, Pertumbuhan Bibit dan Aklimatisasi Plantlet.....	106
I. PENDAHULUAN.....	106
1.1 Latar Belakang.....	106
1.2 Tujuan Penelitian	109
1.3 Hipotesis	110
II. BAHAN DAN METODE	111
2.1 Tempat dan Waktu.....	111
2.2 Bahan dan Alat	111
2.3 Metode Penelitian	111
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	115
3.1 Hasil.....	115
3.2 Pembahasan	126
IV. KESIMPULAN	130
3.1 Kesimpulan.....	130
3.2 Saran.....	131
STUDI - 4b. Hibridasi Beberapa Anggrek Spesies dengan Anggrek Hibrida Sebagai Upaya Peningkatan Peforma Anggrek dan Perakitan Varietas Hibrida Anggrek Baru	132
I. PENDAHULUAN	132
1.1 Latar Belakang.....	132
1.2 Tujuan Penelitian	136
1.3 Hipotesis	136
II. BAHAN DAN METODE	137

2.1 Tempat dan Waktu.....	137
2.2 Bahan dan Alat	137
2.3 Pelaksanaan Penelitian.....	138
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	142
3.1 Hasil	142
3.2 Pembahasan	155
IV. KESIMPULAN	161
3.1 Kesimpulan.....	161
3.2 Saran.....	161
V. KESIMPULAN, IMPLIKASI, DAN SARAN	162
5.1 Kesimpulan	162
5.2 Implikasi	164
5.3 Saran	164
DAFTAR PUSTAKA	165
LAMPIRAN	185

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persilangan antar spesies (interspesifik) dan hibridasi kompleks beberapa spesies anggrek.....	31
2. Persilangan antar spesies (interspesifik) dan hibridasi kompleks beberapa spesies anggrek.....	36
3. Hasil identifikasi 100 spesies anggrek alam dari Gunung Tanggamus.....	41
4. Jenis tegakan yang digunakan dalam reintroduksi <i>Rhynchostylis retusa</i>	61
5. Pengaruh jenis dan ketinggian tegakan terhadap persentase hidup, persentase terbentuknya akar, persentase akar anggrek <i>R. retusa</i> yang menempel di tegakan pada umur 6 MST (minggu setelah tanam).....	66
6. Pengaruh hasil pengamatan <i>Rhynchostylis retusa</i> umur 24 MST	67
7. Pengaruh jenis dan tinggi tegakan terhadap pertumbuhan akar anggrek <i>Rhynchostylis retusa</i> pada 24 MST	68
8. Hasil rata-rata variabel pengamatan pada jenis dan ketinggian tegakan anggrek <i>Rhynchostylis retusa</i> pada umur 36 MST	71
9. Pengaruh jenis dan tinggi tegakan terhadap pertumbuhan akar anggrek <i>Rhynchostylis retusa</i> pada 36 MST	76
10. Sifat kuantitatif polong dihasilkan dari persilangan.....	90
11. Performa perkecambahan benih anggrek hibrida dari persilangan pada semua media perlakuan dua bulan setelah semai	91
12. Respon pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 6 BSS	96
13. Respon pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada delapan bulan setelah benih disemai.....	99
14. Sifat kuantitatif polong dihasilkan dari persilangan.....	116
15. Performa perkecambahan benih anggrek hibrida dari persilangan pada semua media perlakuan dua bulan setelah semai.....	117
16. Hibridisasi kompleks beberapa spesies anggrek	139

17. Sifat kuantitatif polong dihasilkan dari beberapa persilangan <i>Dendrobium</i>	143
18. Performa perkecambahan benih anggrek hibrida pada media uji pada 2 bulan setelah semai.....	145
19. Analisis sidik ragam pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 4 bulan setelah semai (BSS).....	146
20. Respon pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 4 bulan setelah semai.....	147
21. Analisis ragam pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 6 bulan setelah semai.....	149
22. Respon pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 6 bulan setelah semai.....	150
23. Analisis ragam pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 8 bulan setelah semai.....	152
24. Respon pertumbuhan seedling hibrida <i>Dendrobium</i> pada 8 bulan setelah semai.....	152

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur kerangka penelitian.....	27
2. Spesies Anggrek.....	31
3. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Bulbophyllum</i> , <i>Calanthe</i> , <i>Coelegyne</i>	43
4. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Dendrobium</i> dan <i>Cymbidium</i>	44
5. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Aerides</i> , <i>Agrostophyllum</i> , <i>Appendicula</i> , <i>Arachnis</i> , <i>Arundina</i> , <i>Acriopsis</i> , <i>Thrixspermum</i> , <i>Peristeria</i> , dan <i>Pteroceras</i>	45
6. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Gramatophyllum</i> , <i>liparis</i> , <i>oberonia</i> , dan <i>phaius</i>	46
7. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Phalaenopsis</i> , <i>Pholidota</i> , <i>Pomatocalpa</i> , <i>Porphyrodesme</i> , <i>Pamatocalpa</i> , dan <i>Pteroceras</i>	47
8. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus; <i>Renanthera</i> , <i>Rhycontilis</i> , <i>Sarcoglyphis</i> , <i>Schoenorchis</i> , <i>Spathoglottis</i> , <i>Thecostele</i> , dan <i>Vanda</i>	48
9. Anggrek spesies dari Gunung Tanggamus genus <i>Malaxis</i>	48
10. Pohon filogenetik kekerabatan anggrek <i>Dendrobium</i> hasil eksplorasi	49
11. Pohon filogenetik kekerabatan anggrek <i>Eria</i> hasil eksplorasi.....	5
12. Lokasi penelitian di Taman Hutan Raya.....	60
13. Proses Penanaman Anggrek <i>Rhynchostylis Retusa</i> pada 8 Tegakan di Ketinggian 2 dan 4 m.....	62
14. Kondisi Suhu, Kelembaban dan Intensitas Cahaya pada Tegakan. Grafik Besarnya Suhu (°C) pada 8 Tegakan di Ketinggian : (a) 2m 4m; Grafik Besarnya Kelembapan (%) pada 8 Tegakan di Ketinggian (c) 2m; (d) 4m ; Grafik Besarnya Intensitas Cahaya	

- (lux) pada 8 Tegakan di Ketinggian(e) 2m; (f) 4m 65
15. Penampilan anggrek *Rhynchostylis retusa* setelah 20 MST di 8 tegakan yang menunjukkan jumlah akar, jumlah akar yang menempel pada tegakan, dan panjang akar. Anggrek *Bulbophyllum biflorum* ditanam pada 8 jenis tegakan di 2 ketinggian (2 dan 4 m) : a. *Areca catechu* + 2 m; b. 4 m; c. *Parkia speciosa* + 2 m; d. 4 m; e. *Aleurites moluccanus* + 2 m; f. 4 m; g. *Dalbergia sissoo* + 2 m; h. 4 m; i. *Terminalia catappa* + 2 m; j. 4 m; k. *Cocos nucifera* + 2 m; l. 4 m; m. *Ceiba pentandra* + 2 m; n. 4 m; o. *Durio zibethinus* + 2 m; p. 4 m..... 69
16. Rata-rata jumlah kuntum bunga, panjang axis, panjang bunga, dan persentase anggrek *Rhynchostylis retusa* berbunga yang ditempel pada 2 ketinggian (2 dan 4 m) umur 36 MST (minggu setelah tanam).....72
17. Rata-rata jumlah kuntum bunga, panjang axis, panjang bunga, dan persentase anggrek *Rhynchostylis retusa* berbunga yang ditempel pada 8 jenis tegakan umur 30 MST (minggu setelah tanam) 73
18. Penampilan anggrek *Rhynchostylis retusa* setelah 36 MST di 8 tegakan yang menunjukkan jumlah akar, jumlah akar yang menempel pada tegakan, dan panjang akar. Anggrek *Rhynchostylis retusa* ditanam pada 8 jenis tegakan di 2 ketinggian (2 dan 4 m) : a. *Areca catechu* + 2 m; b. 4 m; c. *Parkia speciosa* + 2 m; d. 4 m; e. *Aleurites moluccanus* + 2 m; f. 4 m; g. *Dalbergia sissoo* + 2 m; h. 4 m; i. *Terminalia catappa* + 2 m; j. 4 m; k. *Cocos nucifera* + 2 m; l. 4 m; m. *Ceiba pentandra* + 2 m; n. 4 m; o. *Durio zibethinus* + 2 m; 4 m..... 74
19. Anggrek *Rhynchostylis retusa* umur 36 MST pada beberapa tegakan (a) *T. catappa* (b) *D. sissoo* (c) *T. catappa* (d) *C. pentandra*.....75
20. Rata-rata tinggi *seedling* pada masing-masing media perlakuan umur empat bulan setelah semai (A) *D. mirbelianum* (B) *D. nindii* (C) *D. discolor*. Merauke (D) *D. discolor* Tanimbar.....92
21. Rata-rata bobot *seedling* pada masing-masing media perlakuan umur empat bulan setelah semai (A) *D. Mirbelianum*, (B) *D. nindii* (C) *D. discolor* Merauke (D) *D. discolor* Tanimbar.....93
22. Rata-rata jumlah daun *seedling* pada masing-masing media perlakuan umur empat bulan setelah semai (A) *D. mirbelianum* (B) *D. nindii*, (C) *D. discolor* Merauke (D) *D. discolor* Tanimbar94
23. Penampilan tiga spesies bunga *Dendrobium* dari Bagian Spatulatha yang digunakan sebagai tetua untuk hibridisasi dalam percobaan ini sebagai tetua (A) *Dendrobium mirbelianum* sebagai P1; (B). *D. nindii* sebagai P2; dan (C) *D. discolor* var. Merauke sebagai P3.....108

24. Tampilan biji anggrek menggunakan SEM	117
25. Representatif performance dari protocorm <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1)	118
26. Rata-rata tinggi <i>clump seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji empat bulan setelah benih disemai....	119
27. Rata-rata bobot segar <i>clump seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji empat bulan setelah benih disemai....	120
28. Performa <i>clumpseedling</i> hibrida <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> hibrida pada berbagai media yang diuji: (a) MS, (b) MS + tripton, VW, (d) VW + tripton, (e) FF, (f) FF + tripton pada umur 4 bulan setelah benih muncul.....	120
29. Rata-rata tinggi <i>seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji selama delapan bulan setelah benih disemai	122
30. Rata-rata jumlah akar <i>seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji selama delapan bulan setelah benih disemai	123
31. Rata-rata panjang akar <i>seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji selama 8 BSS	124
32. Rata-rata bobot <i>seedling</i> <i>Dendrobium</i> hibrida hasil persilangan <i>D. mirbelianum</i> x <i>D. nindii</i> (P1xP2) dan <i>D. nindii</i> x <i>D. mirbelianum</i> (P2xP1) pada masing-masing media yang diuji selama 8 BSS	124
33. Performa <i>seedling dendrobium</i> hibrida (a) sebelum aklimatisasi (b) setelah aklimatisasi (c) individu pot.....	126
34. Perkembangan benih anggrek hibrida pada 2 BST; (a) benih tidak memberikan respon; (b) benih memberikan respon pembentukan <i>protocorm</i>	144
35. Tampilan representatif <i>protocorm</i> 2 BSS persilangan ♀ <i>D. nindii</i> × ♂ <i>D. Lee Thoy Lin</i> pada media uji; (a) MS;(b) VW; (c)Growmore; (d)MS+tripton; (e)VW+tripton (f);Growmore+tripton	145

36. Tampilan representatif *seedling* 6 bulan setelah semai persilangan ♀*D. nindii* × ♂*D. Lee Thoy Lin* pada media uji; (a) MS;(b) VW;(c) Growmore; (d)MS+tripton; (e)VW+tripton (f);Growmore+tripton 151
37. Tampilan representatif *seedling* 8 bulan setelah semai persilangan ♀*D. nindii* × ♂*D. Lee Thoy Lin* pada media uji; (a) MS;(b) VW; (c)Growmore; (d)MS+tripton; (e)VW+tripton (f);Growmore+tripton 154

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anggrek adalah semua tumbuhan anggota famili Orchidaceae, salah satu famili yang beranggotakan spesies terbanyak dalam divisi Spermatophyta. Spesies anggota family Orchidaceae mempunyai daya adaptasi yang luas, yaitu dapat hidup di hampir semua daerah bervegetasi (Dressler, 1981). Saat ini jumlah spesies anggrek dalam famili Orchidaceae berkisar antara 20.000 hingga 35.000 (Dressler, 1993; Mabberley, 1997; Willis, 2017). Persebaran plasma nutfah anggrek di dunia tidak seragam, yaitu lebih banyak di sekitar hutan tropis. Bahkan di daerah tropis pun, persebaran jenis-jenis anggrek beragam antarbenua atau daerah tertentu (Cribb, *et al.*, 2003).

Indonesia memiliki biodiversivitas yang sangat besar akan anggrek. Perkiraan ragam plasma nutfah anggrek di Indonesia berjumlah lebih dari 5.000 jenis yang termasuk ke dalam 40 genus. Beragam jenis anggrek Indonesia sebagian besar tersebar di hutan pulau Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Jawa dan Irian Jaya. Di Pulau Sumatera saja, diperkirakan terdapat lebih dari 1.200 spesies anggrek (Comber, 2001).

Perubahan ekosistem global, kebakaran hutan, bencana alam, alih fungsi lahan, penambangan, dan pengambilan biodiversitas hayati yang tidak bertanggungjawab, telah menyebabkan banyak jenis flora terancam punah atau mengalami pengurangan populasi yang signifikan termasuk anggrek (Fay, M. F., 2018). Kondisi ini menjadikan upaya konservasi anggrek-anggrek alam menjadi urgent untuk dilakukan (Cribb, *et al.*, 2003; Fay, 2018). Konservasi anggrek bertujuan untuk menjaga kelestariannya dari ancaman kepunahan. Konservasi

anggrek dapat dilakukan, baik secara *in situ* dengan cara melindungi habitatnya di alam dan secara *ex situ*, yaitu dengan cara membawa spesimen keluar dari habitatnya, lalu memelihara dan memperbanyaknya di tempat lain, misalnya di kebun raya, taman nasional, atau di kebun-kebun plasma nutfah.

Salah satu kawasan hutan lindung Lampung yang memiliki plasma nutfah anggrek yang melimpah adalah Gunung Tanggamus. Gunung Tanggamus merupakan salah satu gunung di Provinsi Lampung yang terletak di Kecamatan Kota Agung, Kabupaten Tanggamus. Gunung ini berjarak sekitar 10 km ke arah timur laut Kota Agung. Hutan lindung register 30 yang mempunyai luas 15.060 ha di Kawasan Gunung Tanggamus ini mempunyai ketinggian puncaknya mencapai 2.112 m di atas permukaan laut. Kaki gunung Tanggamus, tersebar di tiga kecamatan, yaitu Kota Agung, Gisting dan Ulu Belu. Sebagian dari kawasan hutan lindung ini telah beralih fungsi menjadi perkebunan kopi, coklat, karet, dan sayuran.

Kawasan Gunung Tanggamus termasuk daerah yang memiliki resiko bencana alam dengan kriteria yang sedang hingga rendah. Menurut Anwar, *et al.* (2008) dari segi wilayah, risiko bencana alam di wilayah Tanggamus (gempa bumi, tanah longsor, banjir, dan gunung meletus) secara umum tergolong sedang hingga rendah. Menurut Muhaimin, *et al.* (2018) spesies anggrek yang menarik seperti *Spathoglottis aurea*, yang ditemukan oleh (Jacobs, 1972) sekitar 1850 m di atas permukaan laut, tidak ditemukan selama eksplorasi dan berdasarkan kategori IUCN Red List anggrek *Paphiopedilum javanicum* berstatus terancam punah (genting/EN) di Gunung Tanggamus. Kondisi ini menyebabkan potensi berkurangnya sumberdaya hayati anggrek di wilayah gunung tanggamus sehingga upaya konservasi sangat diperlukan.

Di antara upaya untuk menopang konservasi anggrek alam adalah (1) studi botani, (2) studi perbanyakan tanaman, baik secara konvensional maupun secara *in vitro* (3) studi adaptasi, dan (4) studi pemanfaatan. Studi botani dibutuhkan untuk mengidentifikasi spesies dan mengetahui sifat-sifat utama sejumlah anggrek alam sebagai bahan untuk menyusun strategi konservasinya. Studi perbanyakan tanaman dibutuhkan untuk mendapatkan cara efektif untuk memperbanyak spesies

anggrek alam, baik perbanyak tanaman secara konvensional maupun perbanyak anggrek alam secara *in vitro* melalui biji hasil *selfing* atau penyerbukan alami. Bibit hasil perbanyak dapat digunakan untuk meningkatkan populasi di habitatnya (reintroduksi), diberikan ke beberapa jenis anggrek alam dapat dicegah. Studi adaptasi dibutuhkan untuk mendapatkan cara efektif mengembalikan (reintroduksi) anggrek alam ke habitat aslinya, dan studi pemanfaatan bertujuan untuk memanfaatkan anggrek alam sebagai sumber gen unggul untuk menghasilkan varietas anggrek unggul baru.

1.2 Rumusan Permasalahan

Dari uraian di atas, maka rumusan masalah yang dapat disampaikan adalah:

1. Apakah terdapat perbedaan karakter morfologi anggrek alam dari hutan lindung register 30 Gunung Tanggamus Provinsi Lampung?
2. Apakah upaya reintroduksi spesies anggrek alam ke kawasan hutan lindung dapat dilakukan?
3. Apakah persilangan *selfing* dapat menghasilkan *seedling* anggrek sebagai upaya pelestarian *ex situ*?
4. Apakah metode persilangan hibridisasi interspesifik dan hibridisasi kompleks dapat dihasilkan varietas anggrek baru?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian disertasi ini adalah

1. Mengidentifikasi dan menginventarisasi anggrek alam dari hutan lindung register 30 Gunung Tanggamus Provinsi Lampung.
2. Mendapatkan upaya reintroduksi spesies anggrek alam ke kawasan hutan lindung.
3. Pelestarian *ex situ* beberapa spesies anggrek melalui kultur *in vitro* biji hasil *selfing* dan silangan alami
4. Menghasilkan varietas anggrek baru melalui hibridisasi interspesifik dan hibridisasi kompleks.

Adapun tujuan khusus penelitian adalah

1. Mengidentifikasi, menginventarisasi dan studi botani anggrek alam dari hutan lindung register 30 Gunung Tanggamus yang sudah dikoleksi oleh masyarakat di Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus.
2. Mengupayakan reintroduksi spesies anggrek alam kembali ke habitatnya dengan sistem model percontohan penanaman sejenis anggrek alam di beberapa jenis tegakan yang terdapat di Taman Hutan Raya Wan Abdul Rachman.
3. Mengupayakan pelestarian *ex situ* beberapa spesies anggrek penting melalui kultur *in vitro* biji hasil *selfing* atau penyerbukan sendiri dan hasil silangan alami
4. Melakukan persilangan antarspesies (interspesifik), dan hibridisasi kompleks beberapa spesies anggrek dengan anggrek hibrida komersial bernilai ekonomi tinggi untuk meningkatkan performa bunga dan perakitan varietas hibrida anggrek baru bernilai ekonomi tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian yang akan dilakukan, diharapkan beberapa manfaat sebagai berikut:

1. Dapat mengidentifikasi, menginventarisasi dan studi botani sekitar 100 spesies anggrek alam dari hutan lindung register 30 Gunung Tanggamus yang sudah dikoleksi oleh masyarakat di Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus.
2. Mendapatkan metode reintroduksi spesies anggrek alam kembali ke habitatnya sebagai upaya pelestarian dan penyelamatan plasma nutfah.
3. Mendapatkan media yang tepat dalam perbanyakan anggrek hasil *selfing* maupun hasil persilangan.
4. Meningkatkan performa bunga dan perakitan varietas hibrida anggrek baru dengan persilangan antar spesies (interspesifik), dan hibridisasi kompleks beberapa spesies anggrek dengan anggrek hibrida komersial bernilai ekonomi tinggi.

1.5 Nilai Kebaruan dan Kedalaman

Hasil penelitian diarahkan untuk (1) mendukung konservasi anggrek-anggrek alam di kawasan hutan lindung yang kaya plasma nutfah, yaitu kawasan hutan lindung register 30 Gunung Tanggamus, Lampung dan di habitat lain secara umum di Indonesia, (2) konservasi *ex situ* beberapa spesies anggrek melalui pengulturan *in vitro* dan reintroduksi dan (3) meningkatkan nilai komersial beberapa spesies anggrek asli Indonesia dengan cara hibridisasi interspesifik, dan hibridisasi kompleks antara beberapa anggrek spesies dengan anggrek-anggrek komersial bernilai ekonomi tinggi. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh beberapa pengetahuan yang baru (*novelty*). Kebaruan tersebut menghasilkan dari setiap studi, yaitu (1) teridentifikasi secara morfologi anggrek spesies dari Gunung Tanggamus, (2) ditemukannya tegakan atau kulit pohon tertentu sebagai media tumbuh optimal, (3) dihasilkannya bibit anggrek dari beberapa spesies dalam jumlah banyak sebagai salah satu upaya konservasi *ex situ* untuk dikoleksi, dibagikan ke masyarakat pelestari (kolektor) anggrek dan (4) dihasilkannya varietas unggul baru anggrek yang bernilai komersial tinggi dari hibridisasi.

1.6 Luaran Penelitian

Artikel penelitian yang telah di review atau submit sebagai berikut:

- 1 Interspecific hybridization of *Dendrobium mirbelianum* x *D. nindii* or *D. discolor*, in vitro seed germination, seedling growth and plantlet acclimatization
Journal : Biodiversitas Journal of Biological Diversity
- 2 Reintroduction The Natural Orchid *Rhynchostylis retusa* in Wan Abdul Rachman Forest Park Bandar Lampung
Journal: *Jurnal Sylva Lestari*
- 3 Pelestarian *Ex Situ* Beberapa Spesies Anggrek Melalui Kultur *In Vitro* Biji Hasil Selfing
Journal : Jurnal Penelitian Pertanian Terapan

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anggrek

Anggrek merupakan famili tumbuhan berbunga terbesar kedua dan tersebar di seluruh dunia (Willis, 2017). Keluarga Orchidaceae dibagi menjadi lima subfamili (Apostasioideae, Cyripedioideae, Vanilloideae, Orchidoideae, Epidendroideae). Anggrek menyumbang 8% dari keanekaragaman hayati angiospermae (Chase, *et al.*, 2015). Sampai saat ini, 29.199 spesies telah diidentifikasi dan diterima, meskipun beberapa ratus spesies baru ditambahkan setiap tahun (Govaerts *et al.*, 2017). Pada akhir 2017, Daftar Merah Global IUCN memasukkan penilaian untuk 948 spesies anggrek, dimana 56,5% dilaporkan terancam punah (IUCN, 2016). Anggrek adalah tanaman monokotil, termasuk tanaman epifit, terestrial dan litofit. Sekitar 70% dari Anggrek dunia bersifat epifit dan/atau litofit, 25% adalah terestrial, dan 5% anggrek dunia tumbuh bercampur substrat (baik litofit, epifit dan terestrial) (Arditti, 1992).

Selain keragaman geografis dan taksonomi, anggrek juga banyak digunakan karena berbagai alasan, keduanya legal dan ilegal, berkelanjutan dan tidak berkelanjutan (Fay, M. F., P. T., & D. K. W., 2015). Satu dari kelompok tanaman paling terkenal di hortikultura dan perdagangan global adalah bunga potong (De, LC., 2015), anggrek juga dipanen, ditanam dan diperdagangkan untuk berbagai tujuan, termasuk sebagai tanaman hias, produk obat dan makanan. Anggrek spesies juga dikagumi karena kebiasaan pertumbuhannya yang tidak biasa (misalnya anggrek tak berdaun, seperti *Dendrophylax* Rchb.f. dan *Chiloschista* Lindl.), ukuran kecil (misalnya *Bulbophyllum moniliforme* F. Muell.), memiliki aroma (misalnya *Dendrochilum glumaceum* Lindl.), daun berpola (mis. anggrek permata dalam genus *Anoectochilus* Blume, *Goodyera*

R.Br., *Ludisia* A.Rich. dan *Macodes* Lindl.) dan sebagai potongan bunga (*Renanthera imschootiana*, *Vanda coerulea*). Beberapa spesies lokal *Ascocentrum*, *Calanthe*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Paphiopedilum* dan *Vanda*. sangat diminati di pasar internasional untuk pembibitan (Kumar, *et al.*, 2017).

Berdasarkan kebiasaan tumbuh anggrek dapat diklasifikasikan menjadi anggrek monopodial dan simpodial. Anggrek monopodial menumbuhkan akar, daun dan tangkai bunga dari satu batang. Anggrek monopodial tidak menciptakan pertumbuhan baru sebagai bagian dari pola pertumbuhan normalnya. Sebaliknya, anggrek monopodial akan mengganti daun dan akar tua dengan yang baru. Oleh karena itu, pola pertumbuhannya vertikal. Contoh anggrek monopodial adalah *Phalaenopsis* dan *Vanda*. Anggrek simpodial adalah salah satu yang pertumbuhannya dihubungkan oleh rimpang. Rimpang tumbuh dari umbi semu yang ada di bawah permukaan media, menghasilkan tunas baru yang berkembang menjadi pertumbuhan baru. Contoh anggrek simpodial termasuk *Oncidium*s, *Dendrobium*s dan *Cattleya*.

Berdasarkan habitat aslinya, anggrek diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu epifit, terestrial dan saprofit. Epifit tumbuh di pohon, batu atau serasah daun. Nutrisi terutama berasal dari kotoran hewan dan sampah organik pada permukaan pendukungnya. Anggrek epifit dicirikan oleh daun yang tebal dan berdaging dengan dinding sel yang tebal, kutikula, dan ruang substomata yang kecil sedangkan spesies terestrial tipis. Misalnya, *Vanda*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis*. Anggrek terestrial membentuk umbi atau umbi yang berisi cadangan karbohidrat. Di iklim hangat dan lembab, banyak anggrek terestrial tidak membutuhkan pseudobulb. Misalnya *Calanthe*, *Eulophia*, *Phaius*, *Paphiopedilum*, *Spathoglottis*. Anggrek saprofit mendapatkan makanan dari bahan organik mati bukan dari fotosintesis. Mayoritas anggrek saprofit melewati tahapan pembibitan yang dapat berlangsung selama berbulan-bulan, misalnya *Neotia spp.* (Sailo, *et al.*, 2014).

Anggrek epifit dan sebagian besar litofit memiliki akar melekat untuk jangkar, akar yang menembus humus pada kulit kayu dan akar udara menggantung bebas

di udara dan membantu penyerapan kelembaban. Banyak akar epifit mengandung klorofil, mampu melakukan fotosintesis. Akar anggrek berwarna putih dan tebal. Anggrek epifit memiliki akar yang ditutupi dengan jaringan spon yang membantu anggrek menempel pada pohon atau batu dan menyerap air serta nitrogen dari udara. Anggrek epifit telah memodifikasi akar udara, kadang-kadang panjangnya beberapa meter. Di bagian akar yang lebih tua, epidermis spon yang dimodifikasi yang disebut velamen harus melakukan tugas menyerap kelembapan. Itu terbuat dari sel-sel mati dan bisa berwarna abu-abu perak, putih atau coklat. Sel-sel epidermis akar tumbuh tegak lurus terhadap sumbu akar, tetapi sangat sedikit anggrek terestrial yang memiliki velamen (Arditti, 1992).

Kebanyakan anggrek memiliki organ penyimpanan. Rimpang umumnya ditemukan anggrek terestrial sedangkan organ penyimpanan pada anggrek epifit adalah batang yang membesar yang disebut *pseudobulb*. *Pseudobulb* juga ditemukan di beberapa anggrek terestrial seperti *Cymbidium*, *Eulophia* dan *Spathoglottis*. *Pseudobulb* anggrek terdiri dari dua jenis: heteroblastik atau homoblastik. *Pseudobulb* heteroblastik hanya terdiri dari satu ruas, mis. *Oncidium*, *Cattleya* dan *Miltonia*. *Pseudobulb* homoblastik terdiri dari dua atau lebih ruas, misalnya. *Eria* dan *Dendrobium* (Arditti, 1992). *Pseudobulb* anggrek berfungsi sebagai organ penyimpanan air yang penting. Biotope epifit ditandai dengan periode yang kekurangan air dan unsur hara. Kehadiran organ tebal di akar, batang atau daun pada anggrek epifit adalah untuk kemampuan bertahan hidup dan tumbuh di iklim yang tidak menguntungkan. *Pseudobulb* dari *Oncidium* mempertahankan kadar air yang relatif tinggi 90–95% selama pengembangan (Arditti, 1992). Sebagian besar pseudobulb anggrek memiliki kutikula tebal yang benar-benar tahan terhadap air dan gas. *Pseudobulb Cymbidium sinense* mampu mempertahankan sekitar 64% kadar airnya setelah 42 hari kondisi stres air (Zheng *et al.*, 1992). Alokasi mineral untuk pseudobulbs dalam pucuk *Oncidium* yang terhubung 'Goldiana' paling aktif selama pembentukan dan pengembangan dari pseudobulb baru (Hew, 1996).

Seperti kebanyakan monokotil, anggrek umumnya memiliki bentuk daun yang sederhana dengan vena paralel (disusun sejajar satu sama lain di seluruh daun atau lamina), meskipun beberapa *Vanilloideae* memilikinya venasi retikulat. Bentuk daun ada yang oval memanjang, lanset, atau bulat dan ukurannya sangat bervariasi. Daun anggrek biasanya tersusun berselang-seling pada batang, sejajar, dan tidak memiliki ketentuan. Daun anggrek memiliki silika yang disebut stegmata dalam selubung bundel vaskular (tidak ada dalam *Orchidoideae*) dan berserat

Jumlah stomata per satuan luas permukaan selalu lebih tinggi daun bagian atas pada batang yang sama karena intensitas cahaya yang lebih kuat pada daun bagian atas. Daun untuk pengurangan transpirasi, organ penyimpanan air, retensi hujan atau air yang terkondensasi dan penyerapan air sebagai cairan atau uap air. Anggrek yang memiliki daun yang kasar dan keras toleran terhadap kekeringan dengan kutikula yang sangat tebal dan epidermis berdinding tebal dengan lignifikasi yang luas sangat baik perlindungan terhadap kekeringan. Anggrek memiliki daun yang tebal, metabolisme asam crassulacean (CAM), yang sangat penting adaptasi terhadap tekanan air. Semua anggrek yang memiliki daun tipis menunjukkan fotosintesis C3. Anggrek simpodial menghindari stres air selama musim kemarau dengan merontokkan daunnya dan memasuki masa dormansi. Pada anggrek monopodial, jumlah daun pada batang tergantung pada umur tanaman sedangkan anggrek seperti *Cattleya* memiliki satu daun per *pseudobulb* dan *Dendrobium* memiliki 5-20 daun per *pseudobulb*.

Anggrek termasuk tanaman bunga monokotil dengan tujuh bagian bunga terdiri dari tiga sepal, tiga kelopak dan coloum atau gynostemium. Bunga anggrek menunjukkan keragaman besar dalam ukuran, warna dan bentuk. Kisaran ukuran bervariasi dari beberapa spesies. Nuansa dominan adalah putih, kuning, hijau dan ungu atau dalam setiap kemungkinan kombinasi. Bunga anggrek menunjukkan mimikri seperti laba-laba, anak perempuan menari, lebah, sandal wanita, atau serangga. Dalam beberapa kasus seperti *Oberonia* dan *Malaxis* posisi bunganya terbalik. Perbungaan *Geoderum densiflorum* membungkuk ke dalam 180° dan

sajikan bunga dalam posisi terbalik. Salah satu ciri terpenting dari semua bunga anggrek adalah bahwa anggrek zygomorphic dan biseksual atau sangat jarang uniseksual. Bunga Anggrek mungkin memiliki taji atau tidak yang merupakan embel bibir untuk menyimpan nektar. Taji anggrek mungkin pendek atau panjang dalam ukuran dan bervariasi dalam bentuk.

Kepala sari memiliki massa serbuk sari disebut pollinium yang bervariasi dari 2, 4 dan 6 sampai 8. Polinia terkandung dalam rongga yang disebut klinandrium. Tepat di bawah anthera, di permukaan kolom ventral adalah rongga berongga dari massa yang lengket dan kental dikenal sebagai permukaan stigmatik. Terbentuk dari perpaduan dua stigma subur. Permukaan kepala sari dan kepala putik adalah dipisahkan oleh struktur yang disebut rostelum, yang sebenarnya stigma ketiga. Rostellum berfungsi untuk mencegah penyerbukan sendiri.

2.2 Konservasi Anggrek

Orchidaceae merupakan salah satu famili tanaman berbunga yang paling banyak dari semua family angiosperma, dengan lebih dari 26.000 spesies. Anggrek mempunyai keragaman yang tinggi pada komunitas epifit di daerah tropis, terutama di dataran tinggi, dan anggrek membentuk komponen besar kekayaan spesies tanaman (Gentry dan Dodson 1987); Ibisch, *et al.*, 1996). Meskipun 70% spesies anggrek bersifat epifit, ada juga komunitas terestrial yang beragam di beberapa daerah tropis dan beriklim sedang (Dressler, 1981).

Di beberapa negara, seperti Ekuador, Cina, dan Australia, anggrek merupakan salah satu spesies tanaman yang terancam punah (Leon-Yanez, *et al.*, 2011); (Qin, *et al.*, 2017). Namun, mengingat bahwa di negara-negara tropis dengan keanekaragaman hayati banyak spesies anggrek yang kurang dikenal, jumlah spesies anggrek yang terancam punah kemungkinan akan terus bertambah baik dalam daftar nasional maupun internasional (Joppa, *et al.*, 2011). Seperti jenis tanaman lainnya, anggrek menghadapi tingkat ancaman yang belum pernah terjadi sebelumnya dari perusakan dan fragmentasi habitat, pengumpulan berlebihan,

perubahan iklim dan berbagai masalah yang disebabkan manusia lainnya (Diamond, 1989; Dixon, *et al.*, 2003; Thomas, *et al.*, 2004; Swarts dan Dixon, 2009; Reiter, *et al.*, 2016; Hinsley, *et al.*, 2018). Selanjutnya, banyak spesies terestrial dan epifit anggrek secara alami terjadi pada populasi kecil yang terisolasi, sebagian sebagai akibat dari preferensi habitat khusus (Dressler, 1981; Tremblay, *et al.*, 2005). Meskipun banyak kemajuan dalam pengetahuan biologi tentang anggrek (Swarts dan Dixon, 2009a); Mc Cormick dan Jacquemyn, 2014; Fay, 2018) dan beberapa kisah sukses konservasi yang penting (Schrautzer, *et al.*, 2011; Reiter, *et al.*, 2018), ada tanda-tanda yang jelas dalam literatur bahwa konservasi anggrek tidak seefektif yang diperlukan untuk mencegah kepunahan sejumlah besar spesies. Banyak spesies anggrek yang terancam telah mengalami penurunan populasi yang besar (Cribb, *et al.*, 2003) dan, berdasarkan sumber daya seperti IUCN daftar merah (IUCN, 2020) sebagian besar spesies yang terdaftar terancam punah dan mengalami ancaman di luar perusakan habitat (Wraith dan Pickering, 2019).

Anggrek adalah spesies kunci untuk konservasi biologi. Biji anggrek bergantung pada jamur mikoriza untuk perkecambahan dan beberapa spesies anggrek bergantung pada jamur mikoriza untuk hidup (Liu, *et al.*, 2010; Xie, *et al.*, 2020; Zhang, *et al.*, 2020). Sebagian besar spesies anggrek membutuhkan penyerbuk untuk pembentukan buah dan beberapa membutuhkan penyerbuk khusus (Reiter *et al.*, 2019; Jiang, *et al.*, 2020; Liu, *et al.*, 2020). Spesies anggrek epifit membutuhkan pohon atau batu untuk tumbuh. Sejarah kehidupan yang rumit ini menimbulkan tantangan bagi konservasi anggrek. Koleksi anggrek yang berlebihan, terutama spesies dengan bunga yang indah dan mempunyai khasiat obat, menghadirkan ancaman tambahan bagi anggrek liar (Gale, *et al.*, 2019; Liu, *et al.*, 2020).

Diantara upaya untuk menopang konservasi anggrek alam dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut (Dixon, 2003): Studi botani: Studi botani dilakukan untuk mengidentifikasi dan mempelajari karakteristik morfologi, anatomi, dan taksonomi dari berbagai jenis anggrek. Hal ini penting untuk memahami

karakteristik dan keunikan setiap jenis anggrek, serta memperkaya informasi mengenai keanekaragaman hayati dan distribusi anggrek di berbagai wilayah. Studi perbanyakan tanaman: Studi perbanyakan tanaman dilakukan untuk mengembangkan teknik perbanyakan tanaman anggrek, baik secara konvensional maupun *in vitro*. Hal ini penting untuk memperbanyak populasi tanaman anggrek secara efektif dan efisien, serta memperkuat ketahanan genetik populasi tanaman anggrek. Studi adaptasi: Studi adaptasi dilakukan untuk memahami adaptasi dan interaksi anggrek dengan lingkungan hidupnya, termasuk lingkungan alam dan manusia. Hal ini penting untuk mengembangkan strategi konservasi yang tepat dan efektif, serta memperkuat daya adaptasi dan ketahanan populasi anggrek dalam menghadapi perubahan lingkungan. Studi pemanfaatan: Studi pemanfaatan dilakukan untuk mempelajari potensi pemanfaatan anggrek secara ekonomi, misalnya sebagai bahan kosmetik, obat-obatan, atau tanaman hias. Hal ini dapat menjadi salah satu cara untuk meningkatkan nilai ekonomi anggrek dan meningkatkan kesadaran masyarakat mengenai pentingnya konservasi anggrek.

2.2 Persilangan Anggrek

Persilangan anggrek adalah suatu teknik budidaya anggrek dengan mengawinkan dua atau lebih jenis anggrek yang berbeda untuk menghasilkan keturunan baru yang memiliki kombinasi karakteristik unik dari kedua induknya. Tujuan dari persilangan anggrek adalah untuk menghasilkan varietas anggrek baru yang lebih baik dalam hal keindahan, kekokohan, dan ketahanan terhadap penyakit (Arditti, 1992).

Famili Orchidaceae yang paling beragam di antara tanaman berbunga, terdiri lebih dari 28.000 spesies dengan berbagai strategi dan karakteristik pemuliaan.

Acianthera apthosa, spesies representatif dengan bunga penyerbukan sendiri, memiliki lebih sedikit biji tanpa embrio daripada bunga penyerbukan silang (Pansarin, *et al.*, 2016). Namun, *Dendrobium* dengan *self-compatibility* dan *self-incompatibility*, menyumbang hampir setengah dari semua anggrek *self-compatibility* (Niu, *et al.*, 2018). Hibridisasi, baik alami maupun buatan, memiliki

efek mengintegrasikan karakteristik yang sangat baik dari kedua induknya ke dalam keturunan hibrida.

Phalaenopsis intermedia, persilangan antara *P. aphrodite* dan *P. rosea*, pertama kali dijelaskan pada tahun 1853, adalah salah satu hibrida alami tertua, sedangkan *Calanthe*, hibrida anggrek buatan pertama, dicatat oleh Dominy pada tahun 1856, dibudidayakan dari persilangan antara *Calanthe masuca* dan *Calanthe* (de Chandra, *et al.*, 2019). Namun demikian, meskipun persilangan merupakan teknik yang sederhana dan efektif untuk menghasilkan anggrek hibrida, namun ada beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam melakukan persilangan antara lain kombinasi fertilitas hibrida, analisis kualitatif sifat target, dan pemilihan keturunan hibrida unggul (Su, *et al.*, 2019).

Pada tanaman hias, hibridisasi intra dan interspesifik umumnya dilakukan untuk mendapatkan bunga baru ciri-ciri seperti warna dan ukuran serta karakteristik produksi komersial penting lainnya seperti perubahan periode pembungaan, toleransi stres lingkungan, dan ketahanan penyakit (Nimura, *et al.*, 2006; Vendrame, *et al.*, 2007; Nimura, *et al.*, 2008; Laskowska, *et al.*, 2015; Zhang, *et al.*, 2017). Terutama pada anggrek, termasuk *Dendrobium*, hibridisasi interspesifik relatif mudah dan telah banyak digunakan untuk pemuliaan kultivar baru. Namun, interspesifik hibrida biasanya sebagian atau seluruhnya steril, sehingga program pemuliaan lebih lanjut sulit.

Progeni F1 yang berasal dari dua tetua dengan sifat target yang kontras (seperti tetua dengan waktu berbunga panjang tetapi ukuran bunga kecil dengan ukuran bunga besar tetapi waktu berbunga pendek) biasanya menunjukkan perbedaan fenotipik yang besar. Misalnya, *Ionmesa* 'Haruri' menghasilkan bunga yang sangat berbeda dari induknya. Namun, dalam kasus *Cymbidium*, telah dilaporkan bahwa benih hibrida, terutama hibrida jarak jauh, sulit dikultur karena hubungan genetik yang jauh, dengan tingkat kesulitan meningkat dalam urutan intraspesifik < intragenerik < intergenerik (Zhang, *et al.*, 2001). Hibrida interspesifik dan intergenerik layak dilakukan dalam famili Orchidaceae (Grantham, 2019). Luo, *et*

al. (2014) juga melaporkan bahwa terdapat berbagai kendala yang menghambat proses hibridisasi, antara lain inkompatibilitas induk dan aborsi embrio pasca fertilisasi, yang mengakibatkan kegagalan hibridisasi jarak jauh. Namun, apakah situasi ini berlaku untuk semua spesies anggrek masih harus dipelajari. Sebagai bagian penting dari pemuliaan tradisional, perkecambahan biji berhubungan langsung dengan efisiensi dan keberhasilan persilangan.

Ketika benih hibrida diperoleh, diperlukan pendekatan budidaya yang sesuai untuk menjaga agar populasi tetap stabil atau terus berkembang. Dalam hal ini, perbanyakan *in vitro* adalah salah satu metode pemuliaan anggrek yang paling penting, karena benih anggrek sulit direproduksi di lingkungan alami.

Kematangan benih, kondisi kultur, dan media kultur merupakan faktor kunci yang mempengaruhi efisiensi perbanyakan *in vitro*. Studi perbanyakan *in vitro* telah dilakukan pada banyak spesies anggrek, termasuk yang ada di genera *Cymbidium*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Oncidium*, *Dactylorhiza*, dan *Calanthe alliance* (Kanchanapoom, *et al.*, 2014; Bae, *et al.*, 2015; Ram, *et al.*, 2016; Teixeira, *et al.*, 2016; Bezerra, *et al.*, 2019; Gao, *et al.*, 2020).

Ratusan hibrida *Dendrobium* mengalami persilangan *antargenerik*, *antarspesifik*, atau *intraspesifik* ditemukan di alam. Sebagian besar spesies *Cymbidium*, *Dendrobium* dan *Vanda* yang diteliti telah diakui dalam program pemuliaan khusus untuk menghasilkan hibrida primer. Pada *Dendrobium*, keturunan dari persilangan timbal balik menunjukkan variasi karakter seperti tangkai bunga panjang dan warna bunga, ukuran bunga, musim berbunga dan hasil bunga (Connel dan Kamemoto, 1983). Anggrek *Cymbidium* memiliki karakter penting yaitu menghasilkan aroma wewangian (Singh, 1984). Herman (1997) melaporkan bahwa hibrida *Cattleya* berbunga besar adalah hasil pemuliaan yang melibatkan lima belas spesies *Cattleya*, dua *Laelia* dan *Brassavola digbyana*. Thomas (2001) menyatakan persyaratan untuk bentuk bunga komersial pada *Phalaenopsis* yaitu durasi mekar yang lama, ukuran tanaman kompak, toleransi suhu yang luas, tahan penyakit, dan konsistensi warna.

2.3 Mikropropagasi *Dendrobium*

Perbanyakan mikro atau perbanyakan klon skala besar adalah aplikasi bioteknologi tanaman yang paling penting, meskipun studi perbanyakan klon harus berhati-hati untuk menghindari variasi somaklonal (Bairu, *et al.*, 2011). Perbanyakan *in vitro* menawarkan kemampuan untuk memastikan stabilitas klon (Li *et al.*, 2013). Induksi kalus, embriogenesis langsung dan tak langsung (syn. protocorm-like body, PLB), organogenesis langsung dan tak langsung (Pyati, *et al.*, 2002), serta regenerasi langsung melalui pembentukan tunas aksilar dimungkinkan pada *Dendrobium* dari eksplan yang berbeda yaitu batang, nodal, tangkai bunga, rimpang, pseudobulb, daun, protocorm dan akar. PLB secara luas menggambarkan organ yang berkembang dalam kultur *in vitro* anggrek yang memiliki morfologi, struktur dan fungsi yang mirip, sebagai embrio zigotik turunan biji yang diperbesar, yaitu protocorm (Arditti, 1979; Teixeira da Silva, 2014). Bahkan pembentukan mata tunas atau PLB dari kultur suspensi sel serta peningkatan produksi melalui bioreaktor dari beberapa anggrek komersial utama telah menguntungkan mikropropagasi *Dendrobium* dan penelitian transgenik (Teixeira da Silva, *et al.*, 2011).

Mikropropagasi *Dendrobium* dapat dilakukan dari eksplan tunas aksilar yang dipotong dan diinokulasi secara *in vitro*. Tunas aksilar juga penting untuk perbanyakan mikro *Dendrobium* karena jumlahnya banyak dan mudah beregenerasi (JC Cardoso, data tidak dipublikasikan). Meskipun media padat berupa agar adalah basa yang lebih disukai, untuk menghindari masalah seperti poliploidi dan hiperhidrisitas, tidak jarang juga menggunakan media setengah dari kultur cair pada satu atau lebih tahap protokol *in vitro*, atau sebagai keseluruhan protokol. Sebagai contoh, Nugroho (2006) melakukan mikropropagasi *D. 'Emma Pink'* menggunakan media Vacin dan Went cair (VW; Vacin dan Went, 1949). Kultur cair sangat penting untuk keberhasilan kultur bioreaktor pada *D. 'Zahra FR 62'* (Winarto, *et al.*, 2013). Jaringan axenic, yang berasal dari bibit pra-kecambah, digunakan untuk menginduksi PLB, yang digunakan untuk meregenerasi planlet, misalnya induksi PLB tertinggi (7,5/eksplan) dalam

pseudobulb yang dipotong dari bibit *D. transparens* yang berkecambah secara *in vitro* diperoleh pada media MS (setengah mikro dan makronutrien dari (Murashige dan Skoog asli (1962) dengan penambahan 2,0 mg.l⁻¹ 6-benzyladenine (BA) (Sunitibala dan Kishor 2009). Ferreira, *et al.* (2006) menggunakan medium VW cair yang dimodifikasi dengan Fe dan mikronutrien dari media kultur MS yang disuplementasi dengan 2 % sukrosa, 0,4 mg.l⁻¹ tiamin dan 0,1 g.l⁻¹ myoinositol, diikuti dengan media kultur yang sama yang ditambahkan dengan 0,45 mol thidiazuron (TDZ) dan 0,2 % Gelrite, untuk perbanyak mikro *D. 'Second Love'* (Nobile group). Kabir, *et al.* (2013) menemukan bahwa media PhytamaxTM (Sigma Chemical Co., USA) paling baik untuk perkecambahan benih *D. fimbriatum*, dengan daya kecambah 100 % dan masa kecambah terpendek (45,5 hari) dibandingkan dengan media MS (93 %; 49 hari) atau VW (86 %; 49 hari).

Media untuk kultur *in vitro Dendrobium* mencakup berbagai media : MS (67 %), ½ MS, 2 x MS, KC (Knudson 1946), ½ KC, VW, B5 (Gamborg, *et al.* 1968), N₆ (Chu, *et al.*, 1975), media fitoteknologi, Mitra, media RM termodifikasi (Kukulczanka dan Wojciechowska 1983). Di antaranya, MS, ½ MS, KC, VW digunakan meskipun pilihan sangat bergantung pada jenis eksplan yang digunakan. Sitokinin (BA, kinetin, TDZ) dan auksin (asam indole-3-asetat (IAA), asam indole-3-butirat (IBA) dan asam naftalenaasetat (NAA) biasanya digunakan secara bersamaan dalam media sitokinin lainnya [N-isopentenyladenine (2-iP), zeatin (Zea)] dan auksin, asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), juga digunakan untuk mikropropagasi *Dendrobium* (Das, *et al.*, 2008; Luo, *et al.*, 2009). Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang paling umum digunakan dalam mikropropagasi *Dendrobium* adalah BA (69,0 %) dan NAA (65,5 %), digunakan baik sebagai gabungan (56,9 %), atau tunggal sebagai BA (29,3 %) atau NAA (13,8 %) dalam media kultur.

Jenis ZPT memiliki efek yang berbeda pada spesies *Dendrobium*. Media yang optimal, seperti yang diamati pada banyak spesies tumbuhan lain, termasuk anggrek (Hossain, *et al.*, 2013), bergantung pada genotipe. Li, *et al.* (2013)

melaporkan media yang cocok untuk induksi pucuk adalah $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 mg.l⁻¹ BA + 0,1 mg.l⁻¹ NAA + 100 ml.l⁻¹ air kelapa (CW) untuk *D. pendulum* dan *D. primulinum*, dan $\frac{1}{2}$ MS + 0,25 mg.l⁻¹ BA + 0,1 mg.l⁻¹ NAA + 100 ml.l⁻¹ CW untuk *D. heterocarpum*. Media yang cocok untuk induksi akar adalah $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 mg.l⁻¹ NAA + 100 g.l⁻¹ bubur pisang (BP) untuk *D. pendulum* dan *D. heterocarpum*, dan $\frac{1}{2}$ MS + 0,75 mg.l⁻¹ NAA 100 g.l⁻¹ bubur kentang untuk *D. primulinum*. Tanpa ZPT, semi padat yang berisi media $\frac{1}{2}$ MS dengan 1 atau 2 % sukrosa merupakan media kultur terbaik untuk meningkatkan pertumbuhan PLB *D. 'Sonia-28'* (peningkatan 14,45 %) dibandingkan dengan media cair yang mengandung *full-strength* atau *double-strength* MS, atau dengan BA dan NAA dalam kombinasi dan konsentrasi yang berbeda.

Adenda utama yang termasuk dalam media kultur antara lain CW, AC, ekstrak pisang, dan pepton. Sebagian besar peneliti menggunakan media kultur tanpa adenda, dan adenda utama yang digunakan dalam mikropropagasi *Dendrobium* adalah CW, tetapi studi-studi yang menggunakan CW, biasanya pada konsentrasi 10–25% (v/v), tidak menggunakan ZPT (BA dan/atau NAA atau kombinasi ZPT). Dampak CW pada mikropropagasi *Dendrobium* dapat disebabkan oleh berbagai biokimia yang terdapat dalam CW, termasuk asam amino, vitamin, gula, mineral, dan fitohormon (Yong, *et al.*, 2009). Pepton dapat menginduksi perubahan dalam kultur *in vitro* *Dendrobium* karena umumnya terdiri dari protein dengan berat molekul rendah, asam amino, vitamin dan ZPT (George, *et al.*, 2008). Efek positif dari arang aktif (AC) pada mikropropagasi *Dendrobium* adalah bahwa AC meningkatkan aerasi dan mempengaruhi suhu substrat, atau menyerap zat beracun diantaranya termasuk fenolik (Zeng, *et al.*, 2015). Agen pembentuk gel utama yang digunakan adalah agar, gelrit dan fitagel, sedangkan pH media yang paling umum adalah 5,8.

Thin Cells Layer (TCL), merupakan teknik yang menjanjikan karena efisien dalam output total planlet dibandingkan dengan metode *in vitro* konvensional dan eksplan untuk regenerasi *in vitro* angrek (Teixeira da Silva, 2013a; Teixeira da Silva, dan Dobranszki 2013b), juga telah dilaporkan dalam studi terpilih untuk

perbanyak *Dendrobium* secara *in vitro* (Nayak, *et al.*, 2002; Malabadi, *et al.*, 2005). Khosravi, *et al.* (2008) menyatakan bahwa pencoklatan pada kalus *Dendrobium* cv. 'Serdang Beauty' menjadi penyebab produksi etilen karena suplai ZPT tidak memadai di dalam medium. Keuntungan dari sistem TCL untuk *Dendrobium* adalah bahwa frekuensi regenerasi pucuk atau pembentukan PLB tinggi. Faktor koreksi dapat digunakan untuk menilai hubungan pertumbuhan tanaman antara unsur jenis protocol dan ukuran eksplan termasuk pada TCL (Teixeira da Silva dan Dobranszki, 2011; 2014).

Embriogenesis somatik (melibatkan embrio somatik yang berasal dari satu sel) adalah metode potensial lain untuk mikropropagasi anggrek. PLB sebenarnya setara dengan embrio somatik (Teixeira da Silva dan Tanaka, 2006). Pada pembentukan organ secara spontan yang menyerupai protocorm, PLB digunakan secara khusus pada anggrek dicapai dengan dua cara, pada melalui embriogenesis langsung PLB berkembang tanpa melalui fase kalus, sedangkan pada embriogenesis tidak langsung PLB berkembang dengan perantara fase kalus (Hossain, *et al.*, 2013; Teixeira da Silva, 2013). Embriogenesis somatik dan pembentukan PLB merujuk pada peristiwa perkembangan yang sama. Kombinasi, konsentrasi, dan rasio zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat penting, seperti pemilihan media dasar, cahaya dan kondisi abiotik lainnya serta pada penambahan addenda dalam media. Sistem ini akan memfasilitasi komersial mikropropagasi anggrek, karena hal ini memiliki potensi regenerasi yang sangat tinggi dibandingkan dengan metode lainnya, karena kalus embriogenik merupakan bahan target yang tepat untuk transformasi genetik (Teixeira da Silva, *et al.*, 2011). TDZ saat ini mungkin merupakan ZPT yang paling ampuh dan berguna untuk regenerasi PLB dari berbagai jaringan spesies dan hibrida *Dendrobium*, seperti yang diamati oleh peneliti yang berbeda (Chung, *et al.*, 2005; Kanciranapoom, 2001).

Protoplas digunakan untuk regenerasi tanaman, introduksi gen, dan percobaan fusi, telah diisolasi dari bibit *Dendrobium* (Teo dan Neumann 1978) sementara pembentukan yang sukses di *Dendrobium* terbatas (Kuehnle dan Nan 1990;

(Kunasakdakul dan Smitamana 2003; Khentry, *et al.*, 2006; Tee, *et al.*, 2011). Isolasi dan kondisi kultur untuk protoplas *Dendrobium* Sonia 'Bom 17' dioptimalkan oleh Khentry, *et al.* (2006). Dalam kultur berumur dua hari, pembelahan sel pertama terjadi, dan setelah 2 minggu, koloni multiseluler dengan 15-20 sel terbentuk. Namun, tidak ada proliferasi lebih lanjut setelah 3 minggu sehingga tidak ada proliferasi kalus yang diamati. Protoplas dari sel mesofil *D.* 'Pompadour' dapat diisolasi dengan cara mencernanya dengan larutan enzim yang terdiri dari 1 % selulase Onozuka R-10, 1 % macerozyme R-10, 0,5 % driselase, dan 0,4 M manitol selama 3 jam pada shaker (80 rpm). Setelah pemurnian protoplas pada gradien sukrosa, protoplas dilebur menggunakan 40% polietilen glikol. Sebagai gradien osmotik diturunkan, fusi terjadi (Kanciranapoom, *et al.*, 2001). Kombinasi 2% selulosa, 2% pektinase dan 0,5 M sorbitol diterapkan selama 4 jam ideal untuk isolasi protoplas dari daun *D. crumenatum* menghasilkan kepadatan 28,66 9 10⁴ protoplas/g berat segar (Tee, *et al.*, 2010).

2.4 Reintroduksi Anggrek

Reintroduksi anggrek adalah upaya untuk mengembalikan populasi anggrek yang telah terancam atau punah ke habitat aslinya. Hal ini dilakukan dengan cara memperkenalkan atau mengembalikan anggrek yang telah dibudidayakan ke lingkungan alaminya. Reintroduksi anggrek bisa menjadi cara yang efektif untuk memulihkan keanekaragaman hayati dan melindungi spesies anggrek yang terancam punah. Namun, upaya ini harus dilakukan dengan hati-hati dan mempertimbangkan beberapa faktor seperti kondisi lingkungan, kecocokan habitat, dan ketersediaan sumber daya alam yang dibutuhkan oleh anggrek (Dixon, *et al.*, 2003).

Beberapa langkah yang dapat dilakukan dalam reintroduksi anggrek adalah pemilihan spesies yang tepat, persiapan anggrek sebelum ditanam di habitat baru, pemilihan lokasi yang sesuai dengan kondisi habitat asli anggrek, dan pemantauan secara terus-menerus terhadap perkembangan anggrek yang telah ditanam kembali di habitat aslinya (Newell, 2004). Penting untuk diingat bahwa reintroduksi anggrek bukanlah satu-satunya cara untuk melindungi keanekaragaman hayati.

Melindungi habitat asli anggrek dan mempromosikan kesadaran masyarakat tentang pentingnya konservasi anggrek juga sangat penting untuk menjaga keberlangsungan hidup spesies ini.

Reintroduksi merupakan salah satu strategi konservasi yang relatif baru di Indonesia dan dianggap sebagai program pelopor inovatif yang menjembatani keterkaitan antara kebutuhan konservasi *in situ* dan *ex situ*. Program reintroduksi bertujuan untuk mengembalikan populasi spesies yang terancam atau punah ke habitat aslinya. Dalam beberapa tahun terakhir, reintroduksi telah dilakukan untuk beberapa spesies tumbuhan dan hewan, termasuk anggrek. Program reintroduksi biasanya dilakukan melalui kerja sama antara lembaga pemerintah, lembaga konservasi, lembaga pendidikan, dan masyarakat setempat. Reintroduksi menjadi strategi konservasi yang penting karena dapat membantu mempertahankan keanekaragaman hayati dan menjaga keberlangsungan hidup spesies yang terancam punah. Selain itu, program reintroduksi juga dapat meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya konservasi alam dan perlindungan terhadap spesies-spesies yang terancam punah (IUCN, 2013).

III. KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Pemikiran

Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus dikenal sebagai kawasan hutan lindung yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk kekayaan plasma nutfah anggrek. Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus terletak di Provinsi Lampung, Indonesia, dan merupakan salah satu dari tiga kawasan hutan lindung di daerah tersebut. Kawasan ini meliputi Gunung Tanggamus dan sekitarnya, dengan luas sekitar 23.600 hektar. Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus merupakan salah satu habitat alami bagi berbagai jenis anggrek, termasuk spesies langka dan endemik. Keanekaragaman anggrek di sini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk iklim, topografi, dan jenis tanah. Beberapa spesies anggrek yang dapat ditemukan di Gunung Tanggamus antara lain *Paphiopedilum barbigerum*, *Phalaenopsis amboinensis*, *Dendrobium aphyllum*, dan *Bulbophyllum purpureiflorum*. Namun demikian, Hutan Lindung Register 30 hutan Gunung Tanggamus juga menghadapi berbagai ancaman, seperti deforestasi, perambahan hutan, dan perburuan liar dan termasuk wilayah dengan resiko bencana sedang hingga rendah. Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus merupakan wilayah dengan resiko bencana sedang hingga rendah, karena sebagaimana kebanyakan wilayah di Indonesia, Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus dapat mengalami bencana alam seperti tanah longsor, banjir, dan gempa bumi.

Perubahan ekosistem global, kebakaran hutan, bencana alam, alih fungsi lahan, penambangan, dan pengambilan biodiversitas hayati yang tidak berkelanjutan atau bertanggung jawab adalah beberapa tantangan lingkungan besar yang dihadapi.

Perubahan ekosistem global terjadi sebagai akibat dari berbagai faktor, termasuk perubahan iklim, kehilangan habitat, dan spesies invasif. Perubahan ini dapat menyebabkan hilangnya keanekaragaman hayati dan mengancam keseimbangan ekosistem, yang pada akhirnya dapat mempengaruhi keberlangsungan hidup manusia.

Beberapa spesies anggrek terancam punah karena kehilangan habitat, pengambilan liar, dan perburuan. Kondisi lingkungan yang buruk seperti perubahan iklim, kebakaran hutan, dan alih fungsi lahan juga dapat mengancam keberlangsungan hidup spesies anggrek. Upaya konservasi dan pengelolaan yang tepat sangat penting untuk mempertahankan keanekaragaman hayati anggrek dan spesies lain di seluruh dunia. Dukungan dan kerja sama antara pemerintah, masyarakat, dan organisasi non-pemerintah juga sangat penting untuk mengatasi tantangan ini dan memastikan masa depan yang lebih baik untuk spesies anggrek dan seluruh keanekaragaman hayati (Sari, *et al.*, 2017; Darnaedi, *et al.*, 2019; Arditti, 2012; Lestari, 2020; Cribb, 2017).

Upaya yang dapat dilakukan untuk menjaga kelestarian anggrek (Galdiano dan Angeles 2020), Mardiasuti, *et al.*, 2020) antara lain adalah: (1) Konservasi habitat alam: Konservasi habitat alam tempat anggrek tumbuh sangat penting untuk menjaga keberlangsungan hidup anggrek. Perlindungan terhadap hutan dan lahan basah yang merupakan habitat alami anggrek harus dilakukan agar tidak mengalami alih fungsi lahan; (2) Mengurangi perburuan liar: Upaya untuk mengurangi perburuan liar dan pengambilan anggrek dari habitat alaminya perlu dilakukan. Langkah-langkah seperti penegakan hukum yang lebih tegas terhadap pelaku perburuan liar, serta pengawasan yang ketat terhadap perdagangan anggrek dapat membantu mengurangi perburuan liar; (3) Replantasi: Upaya replantasi atau penanaman kembali anggrek ke habitatnya dapat membantu memperkuat populasi anggrek di alam; (4) Konservasi *in situ* dan *ex situ*: Konservasi *in situ* dan *ex situ* juga dapat dilakukan untuk menjaga kelestarian anggrek. Konservasi *in situ* adalah upaya melestarikan keanekaragaman hayati di habitat alaminya, sementara

konservasi *ex situ* dilakukan di luar habitat alami seperti di kebun raya atau taman botani.

Diantara upaya untuk menopang konservasi anggrek alam adalah (1) studi botani, (2) studi perbanyakan tanaman, baik secara konvensional maupun secara *in vitro*, (3) studi adaptasi, dan (4) studi pemanfaatan. Implementasi upaya menopang konservasi anggrek alam juga dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu identifikasi, inventarisasi, dan karakterisasi anggrek alam adalah salah satu langkah penting dalam konservasi anggrek alam. Inventarisasi bertujuan untuk mengidentifikasi jenis-jenis anggrek yang ada di suatu daerah, sedangkan karakterisasi bertujuan untuk mempelajari karakteristik fisik dan biologi anggrek, seperti morfologi, anatomi, dan fisiologi. Inventarisasi anggrek dapat dilakukan dengan cara melakukan survei lapangan dan pengamatan langsung terhadap anggrek yang ditemukan di suatu daerah. Selain itu, juga dapat dilakukan melalui analisis data herbarium atau koleksi anggrek yang ada di museum atau lembaga lainnya.

Sementara itu, karakterisasi anggrek melibatkan pengamatan lebih terperinci terhadap karakteristik fisik dan biologi anggrek. Hal ini meliputi pengamatan terhadap bagian-bagian anggrek, seperti akar, daun, bunga, dan buah. Pengamatan ini dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan teknik-teknik analisis lainnya. Melalui inventarisasi dan karakterisasi anggrek alam, diharapkan dapat dikumpulkan informasi yang berguna untuk merancang strategi konservasi yang tepat dan efektif. Selain itu, informasi tersebut juga dapat digunakan untuk pengembangan teknologi reproduksi tanaman dan pemuliaan anggrek yang lebih baik serta pengembangan industri obat-obatan dan kosmetik dari bahan alami anggrek.

Dalam bidang botani, penemuan spesies baru dapat membantu memperkaya keanekaragaman tumbuhan yang diketahui, serta memberikan informasi penting mengenai distribusi geografis, habitat, dan ekologi spesies tersebut. Selain itu, penemuan spesies baru juga dapat membantu dalam upaya konservasi tumbuhan

yang terancam punah atau langka. Dalam proses penemuan spesies baru, penting untuk melakukan identifikasi yang teliti dan valid untuk memastikan bahwa spesies tersebut benar-benar baru dan tidak hanya merupakan variasi dari spesies yang sudah diketahui sebelumnya. Penemuan spesies baru juga perlu didukung dengan pengumpulan data yang komprehensif dan dukungan dari masyarakat ilmiah. Dalam penelitian ini peneliti melaksanakan inventarisasi dan karakteristik anggrek alam yang berasal dari gunung Tanggamus sebanyak 95 spesies anggrek yang akan diidentifikasi berdasarkan pendoman karakterisasi anggrek Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian Tahun 2014.

Upaya reintroduksi dengan sistem model salah satu spesies anggrek ke ekologi dan tegakan di hutan lindung di sekitar Lampung merupakan langkah penting dalam konservasi anggrek alam. Reintroduksi ini dilakukan dengan cara menanam kembali anggrek yang telah dibudidayakan diperbanyak ke habitat aslinya di hutan lindung dalam penelitian ini reintroduksi dilakukan di taman hutan raya Wan Abdul Rahman. Anggrek *Rhynchostillis retusa* ditempel pada 8 tegakan dengan 2 ketinggian tempat (2 dan 4 m).

Langkah-langkah yang dilakukan dalam upaya reintroduksi antara lain adalah; (1) Studi terhadap ekologi dan habitat alami spesies anggrek yang akan direintroduksi. Hal ini penting dilakukan untuk memastikan kondisi habitat dan faktor lingkungan lainnya yang dibutuhkan oleh spesies anggrek tersebut; (2) Pemilihan individu yang akan direintroduksi. Individu yang akan direintroduksi harus dipilih dengan hati-hati untuk memastikan keberhasilan reintroduksi. Individu yang dipilih harus sehat dan kuat serta memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap lingkungan aslinya; (3) Penanaman kembali individu yang telah dibudidayakan ke habitat aslinya di hutan lindung. Proses ini harus dilakukan dengan hati-hati dan memperhatikan kondisi lingkungan agar individu yang ditanam dapat tumbuh dan berkembang dengan baik; (4) Monitoring dan evaluasi keberhasilan reintroduksi. Setelah individu anggrek direintroduksi ke habitat aslinya, perlu dilakukan monitoring dan evaluasi untuk memastikan

keberhasilan reintroduksi dan memantau pertumbuhan dan perkembangan individu tersebut.

Upaya reintroduksi ini diharapkan populasi anggrek alam yang terancam punah atau mengalami penurunan populasi dapat dipulihkan dan kelestariannya dapat terjaga di masa yang akan datang. Jenis kayu atau kulit pohon tertentu dapat menjadi media tumbuh optimal bagi beberapa spesies anggrek alam. Penelitian yang mempelajari jenis-jenis kayu atau kulit pohon mana yang dapat digunakan sebagai media tumbuh yang baik dapat membantu dalam upaya konservasi anggrek alam.

Pelestarian *ex situ* beberapa spesies anggrek penting melalui kultur *in vitro* biji hasil selfing atau penyerbukan sendiri dan hasil silangan alami merupakan salah satu upaya penting dalam konservasi anggrek alam. Metode ini dilakukan dengan menanam biji anggrek yang dihasilkan dari penyerbukan sendiri atau silangan alami di media kultur *in vitro* yang dikembangkan di laboratorium.

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pelestarian *ex situ* melalui kultur *in vitro* antara lain adalah: (1) Persiapan media kultur *in vitro*. Media kultur *in vitro* harus disiapkan secara hati-hati dengan memperhatikan komposisi dan konsentrasi bahan-bahan yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi biji anggrek; (2) Sterilisasi biji anggrek. Biji anggrek yang akan ditanam di media kultur *in vitro* harus disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari infeksi dari bakteri atau jamur yang dapat merusak pertumbuhan biji anggrek; (3) Penanaman biji anggrek di media kultur *in vitro*. Setelah biji anggrek disterilisasi, biji tersebut ditanam di media kultur *in vitro* dan ditempatkan di ruang steril yang terkontrol suhu, cahaya, dan kelembapan; (4) Perawatan biji anggrek. Bijinya harus dirawat secara cermat dan terus-menerus memantau kondisi biji tersebut, termasuk kelembapan media kultur *in vitro* dan pertumbuhan biji anggrek itu sendiri; (5) Pembibitan dan pemeliharaan anggrek yang dihasilkan. Setelah biji anggrek tumbuh dan berkembang menjadi bibit anggrek, bibit tersebut harus dipindahkan ke media tanam yang lebih besar dan ditanam dengan hati-hati. Selanjutnya, anggrek harus

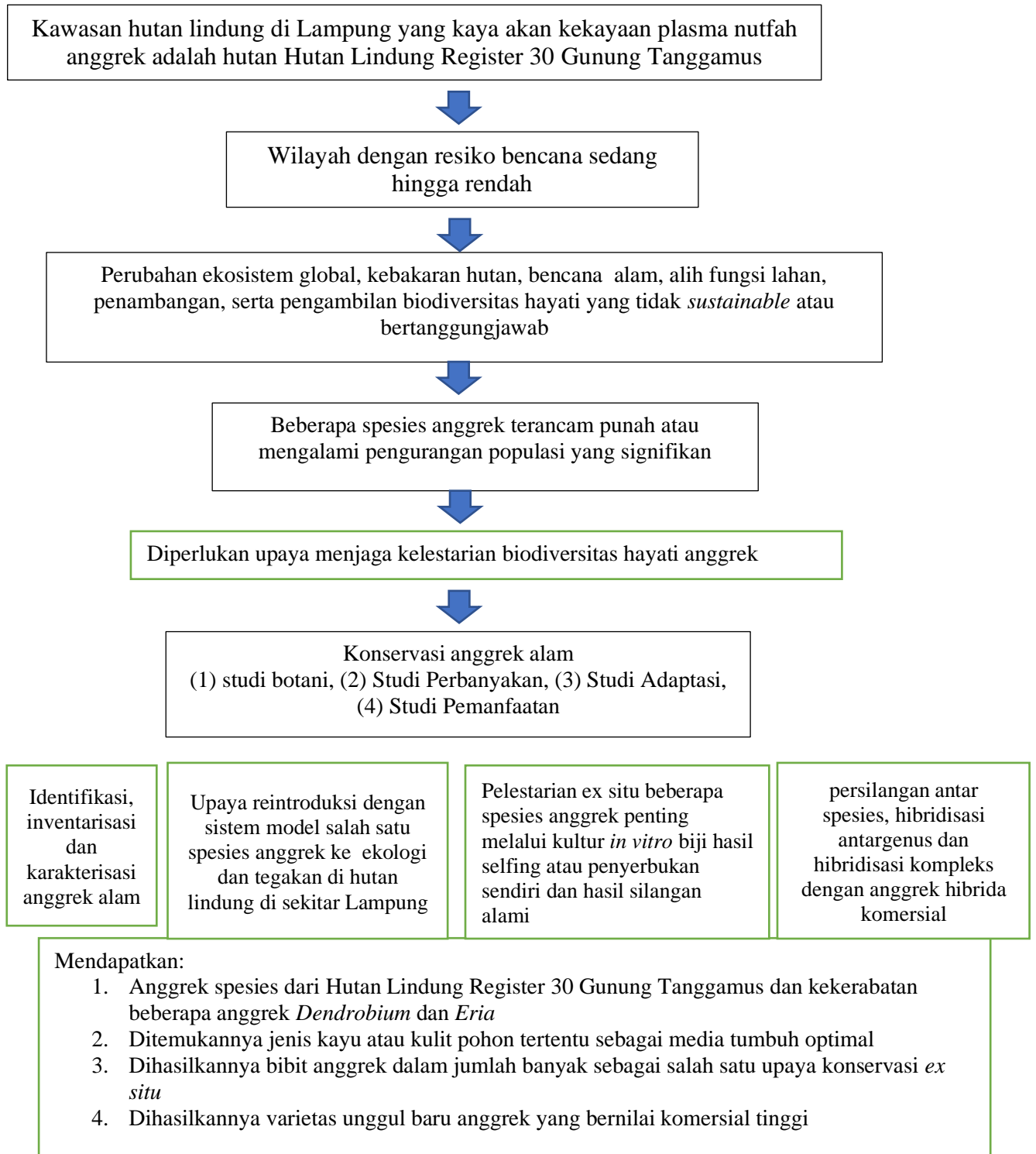
dipelihara secara teratur dan disesuaikan dengan kebutuhan spesies anggrek yang dipelihara.

Pelestarian *ex situ* melalui kultur *in vitro* biji hasil selfing atau penyerbukan sendiri dan hasil silangan alami, spesies anggrek yang penting dan terancam punah dapat dilestarikan dan dijadikan sebagai koleksi di berbagai taman botani atau pusat konservasi anggrek. Hal ini juga dapat membantu dalam upaya melestarikan keanekaragaman hayati dan mencegah kepunahan spesies anggrek alam yang semakin terancam akibat berbagai faktor lingkungan dan manusia.

Persilangan antar spesies, hibridisasi antargenus, dan hibridisasi kompleks dengan anggrek hibrida komersial adalah teknik kultur jaringan untuk menghasilkan varietas anggrek baru. Teknik ini dilakukan dengan cara memadukan genetik dari dua atau lebih spesies anggrek yang berbeda untuk menghasilkan keturunan yang memiliki karakteristik yang berbeda dari kedua orang tua mereka. Hibridisasi antar spesies dan hibridisasi antargenus dilakukan dengan memadukan genetik dari dua spesies anggrek yang berbeda atau dua genus yang berbeda, sedangkan hibridisasi kompleks dilakukan dengan memadukan genetik dari tiga atau lebih spesies anggrek yang berbeda.

Teknik hibridisasi ini sangat berguna dalam pengembangan varietas anggrek baru yang memiliki karakteristik unggul, seperti warna bunga yang berbeda, ukuran bunga yang lebih besar, bentuk bunga yang unik, dan lain sebagainya. Hibridisasi juga dapat dilakukan dengan anggrek hibrida komersial, yaitu anggrek-anggrek yang telah mengalami hibridisasi sebelumnya dan dihasilkan secara massal untuk tujuan komersial. Hibridisasi dengan anggrek hibrida komersial dapat menghasilkan varietas anggrek baru yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Diharapkan pada penelitian ini para kolektor, masyarakat, dan penjual anggrek lebih tertarik dengan hibrida komersial sehingga tidak melakukan pengambilan anggrek alam di habitatnya.

Ringkasan alur pikir penelitian ini disusun dalam diagram alur sebagaimana tertuang pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur kerangka penelitian

3.2 Hipotesis

Dari uraian kerangka pemikiran di atas, dapat dirumuskan suatu hipotesis sebagai berikut:

Studi 1 : Identifikasi, Inventarisasi, dan Karakterisasi Taksonomi Berbagai Anggrek Spesies Dari Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus, Lampung

1. Teridentifikasinya anggrek alam di Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus berdasarkan karakter morfologinya
2. Terdapat keragaman dan kedekatan kekerabatan anggrek alam di Hutan Lindung Register 30 Gunung Tanggamus (*Dendrobium* dan *Eria*)

Studi 2 : Reintroduksi Bibit Anggrek Ke Kawasan Pelestarian Alam (KPA)

Taman Hutan Raya Wan Abdul Rahman

1. Terdapat jenis tegakan yang paling baik untuk pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Rhynchostylis retusa* sebagai upaya reintroduksi anggrek alam ke Taman Hutan Raya
2. Terdapat ketinggian yang tepat untuk pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Rhynchostylis retusa* sebagai upaya reintroduksi anggrek alam ke Kawasan Pelestarian Alam Taman Hutan Raya
3. Terdapat kombinasi jenis tegakan dan ketinggian yang paling baik untuk pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Rhynchostylis retusa* sebagai upaya reintroduksi anggrek alam ke Kawasan Pelestarian Alam Taman Hutan Raya

Studi 3 : Pelestarian *Ex Situ* Beberapa Spesies Anggrek Melalui Kultur *In Vitro*

Biji Hasil *Selfing*

1. Terdapat bibit anggrek dari beberapa spesies dalam jumlah banyak sebagai salah satu upaya konservasi *ex situ* untuk dikoleksi, dibagikan ke masyarakat pelestari (kolektor) anggrek
2. Terdapat Formulasi media dasar (MS, VW dan Pupuk Daun (NPK 32:10:10) dengan atau tanpa tripton yang terbaik memberikan pengaruh

terhadap respons perkecambahan dan pertumbuhan *seedling* anggrek hasil persilangan

Studi 4a : Hibridisasi Interspesifik *Dendrobium mirbelianum* X *D. nindii* Atau *D. discolor*, Perkecambahan Benih *In Vitro*, Pertumbuhan Bibit dan Aklimatisasi Plantlet

1. Terjadi kompatibilitas persilangan berbagai jenis anggrek spesies dan mendapatkan jenis-jenis hasil persilangan anggrek spesies yang telah berhasil diperbanyak melalui biji
2. Terdapat pengaruh jenis induk yang disilangkan dengan media dasar yaitu (1) MS, (2) MS + tripton, (3) VW, (4) VW + tripton, (5) pupuk daun, dan (6) pupuk daun + tripton terhadap pengecambahan biji *in vitro* bibit anggrek *Dendrobium* hibrida
3. Terdapat pengaruh jenis induk yang disilangkan dengan media dasar terhadap pertumbuhan *in vitro* bibit anggrek *Dendrobium* hibrida
4. Diperolehnya varietas unggul baru yang memiliki karakter yang bernilai ekonomi tinggi

Studi 4b : Hibridisasi Beberapa Anggrek Spesies dengan Anggrek Hibrida Sebagai Upaya Peningkatan Performa Anggrek dan Perakitan Varietas Hibrida Anggrek Baru

1. Terjadi kompatibilitas berbagai jenis anggrek hasil persilangan hibrida kompleks dan mendapatkan jenis-jenis anggrek hibrida yang telah berhasil diperbanyak melalui biji
2. Terdapat Formulasi media dasar (MS, VW dan Pupuk Daun (NPK 32:10:10) dengan atau tanpa tripton yang memberikan pengaruh terbaik pada perkecambahan dan pertumbuhan *seedling* anggrek *Dendrobium*.
3. Diperolehnya varietas unggul baru yang memiliki karakter yang bernilai ekonomi tinggi

V. KESIMPULAN, IMPLIKASI, DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

STUDI -1. Identifikasi, Inventarisasi, dan Karakterisasi Taksonomi Berbagai Anggrek Spesies dari Gunung Tanggamus, Lampung

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

- 1 Anggrek yang telah berhasil diidentifikasi berjumlah 100 spesies yang terdiri dari 33 genera yaitu *Aerides*, *Agrostophyllum*, *Appendicula*, *Arachnis*, *Arundina*, *Acriopsis*, *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Coelogyne*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Eria*, *Epidendrum*, *Flickingeria*, *Gramatophyllum*, *Liparis*, *Malaxis*, *Oberonia*, *Peristeria*, *Phaius*, *Phalaenopsis*, *Pholidota*, *Pomatocalpa*, *Porphyrodesme*, *Pteroceras*, *Renathera*, *Rhycontilis*, *Sarcoglyphis*, *Schoenorchis*, *Spathoglottis*, *Thecostele*, *Thrixspermum*, dan *Vanda*
- 2 Terdapat tiga spesies sangat mirip pada genera *Dendrobium* berdasarkan karakter pengamatan, yakni spesies sangat mirip 1 yaitu *D. annae* dan *D. Mutabile*, spesies sangat mirip 2 : *D. anosnum* dan *D. Aphyllum*, spesies sangat mirip 3: *D. leonis* dan *D. subulatum*

STUDI - 2. Reintroduksi Bibit Anggrek Ke Kawasan Hutan Lindung Taman Hutan Raya Wan Abdul Rahman

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jenis tegakan yang paling baik untuk pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Rhynchostylis retusa* sebagai upaya reintroduksi anggrek alam Taman Hutan Raya Wan Abdul Rahman adalah jenis tegakan *Dalbergia sissoo*. *Dalbergia sissoo* menghasilkan jumlah akar dan jumlah akar yang menempel pada anggrek paling banyak dibandingkan dengan tegakan lain

pada kedua ketinggian dan *D. sissoo* juga memiliki persentase bunga dan jumlah daun anggrek yang paling tinggi dibandingkan tegakan lainnya

2. *Rhynchostylis retusa* yang ditanam pada tegakan *Dalbergia sissoo* pada ketinggian 2 dan 4 meter memberikan pertumbuhan dan perkembangan sama baiknya

STUDI- 3. Pelestarian *Ex Situ* Beberapa Spesies Anggrek Melalui Kultur *In Vitro* Biji Hasil Selfing

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak ada hambatan inkompatibilitas pada seluruh persilangan anggrek *Dendrobium*. Prosedur persilangan efektif dan dapat diterapkan pada persilangan anggrek lainnya.
2. Biji anggrek hasil persilangan *selfing* dapat tumbuh (berkecambah) pada seluruh media. Penggunaan media MS atau pupuk daun dengan tripton dapat digunakan untuk perkecambahan benih anggrek.
3. Pupuk daun+tripton dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan yang baik pada *seedling Dendrobium mirbelianum*, *Dendrobium nindii*, *Dendrobium discolor* Merauke, *Dendrobium discolor*.
4. Penambahan tripton pada masing-masing media signifikan menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan tanpa tripton.

STUDI- 4. Upaya peningkatan nilai komersial beberapa spesies anggrek asli Indonesia dengan cara hibridisasi interspesifik, dan hibridisasi kompleks antara beberapa spesies anggrek dengan anggrek-anggrek komersial bernilai ekonomi tinggi

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak ada hambatan inkompatibilitas pada seluruh persilangan anggrek *Dendrobium*. Prosedur persilangan efektif dan dapat diterapkan pada persilangan anggrek lainnya.
2. Seluruh media dapat menstimulus perkecambahan benih hibrida *Dendrobium*. Hasil penelitian ini merekomendasikan penggunaan media pupuk daun untuk perkecambahan benih anggrek karena paling efisien dibanding media lain.

3. Pupuk daun+tripton dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan yang baik pada *seedling* hibrida *Dendrobium*, tidak hanya pada karakter pertumbuhan melainkan juga pada karakter perakaran. Rekomendasi juga didasari dari tingkat efisiensi penggunaan pupuk daun+tripton dibanding media lainnya.

5.2 Implikasi

- 1 Penelitian ini memberikan informasi anggrek spesies yang ada di Gunung Tanggamus Hutan Lindung Register 30 dan tetua-tetua Genus *Dendrobium* dan *Eria* yang mempunyai kedekatan untuk disilangkan dan menambah keragaman genetik
- 2 Memberikan informasi tahapan reintroduksi dan tegakan (jenis pohon) yang tepat untuk penyelamatan anggrek spesies secara *ex situ*
- 3 Penelitian ini memberikan informasi teknik persilangan anggrek secara secara crossing, reciprocal dan selfing yang menunjukkan kompatibel penuh dan dapat mencegah kepunahan genetic
- 4 Untuk merakit varian baru anggrek yang diinginkan konsumen
- 5 Memberikan informasi media perbanyakan anggrek secara kultur *in vitro* yang ekonomis

5.3 Saran

Berdasarkan kesimpulan diperoleh saran untuk penelitian selanjutnya yaitu :

1. Perlu perlunya dilakukan penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan ekologi dan penyebaran serta tentang keragaman genetik *Dendrobium* dan *Eria* yang terdapat di Gunung Tanggamus.
2. Untuk penelitian berikutnya diharapkan dapat menambahkan informasi terkait jenis tegakan yang termasuk tanaman *Multy Purpose Tree Spe* (MPTS) yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan anggrek
3. Perlu kajian lebih lanjut terhadap anggrek F1 hasil persilangan yang meliputi karakterisasi fenotip sampai tanaman berbunga.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, N., El-Ramady, H., Seliem, M., K., El-Mahrouk, M.,E., Taha, N., Bayoumi, Y., Shalaby, T.,A., Dobranszki, J. 2022. An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. *Horticulturae*, 8(677), 1–28.
- Acquaah, G. 2012. *Principles of Plant Genetics and Breeding*. Australia: Blackwell Publishing.
- Adhikari, Y. P., Fischer, A. 2011. Distribution pattern of the epiphytic orchid *Rhynchosstylis retusa* under strong human influence in Kathmandu valley, Nepal. *Bot. Orientalis – J. of Plant Sci*, 8, 90–99.
- Akhter, M., Hoque, M.M., Rahman, M., Huda, M., K. 2017. Ethnobotanical investigation of some orchids used by five communities of Cox’s Bazar and Chittagong hill tracts districts of Bangladesh. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5, 265–268.
- Aktar, S., K. M., Nasiruddin, & Hossain, K. 2008. Effects of different media and organic additives interaction on in vitro regeneration of *Dendrobium* orchid. *J Agric Rural Dev* , 6, 69–74.
- Anwar, H. Z., Ruslan, M., Comaluddin, Kumoro, Y., Fuadi, M.B. 2008. Kajian Resiko Bencana Alam di Kabupten Tanggamus Provinsi Lampung (hlm. 1-14.). Bandung: Teknik Planologi ITB.
- Arditti, J. 1979. Origin of protocorm. *Am Orchid Soc Bull* , 48, 228.
- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. Available at *Mcquerry Orchid* . (W. Salerno Road, Ed.) (Books, 5700, Vol. 3). Jackson Ville, USA.
- Arditti, J. 2012. *Fundamentals of orchid biology*. (John Wiley & Sons, Ed.).
- Arditti, J., E. R. 1993. *Micropropagation of orchids*. New York : Wiley Inter Science.
- Australian Natural Resources Atlas (ANRA). 2007. *Biodiversity Assessment - Wet Tropics: Species at risk and the Threatening Process*. Department of the Environment, Water, Heritage and the Arts.

- Bae, K., Oh, K.H., Kim, S.Y. 2015. In vitro seed germination and seedling growth of *Calanthe discolor* Lindl. *Plant Breed Seed Sci*, 71, 109–119.
- Bairu, M.W., and Kane, M.E. 2011. Physiological and Developmental Problems Encountered by In Vitro Cultured Plants. *Plant Growth Regulation*, 63, 101–103.
- Barthlott, W., Grobe-Veldmann, B., Korotkova, N. 2014. *Orchid Seed Diversity: A scanning electron microscopy survey*. Berlin: Englera 32.
- Benzing, D. 2018. *Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota*. Cambridge: Cambridge University Press.
- B., Bezerra, G., Gabriel, A., Mariano, E., Cardoso, J. 2019. In vitro culture and greenhouse acclimatization of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) with microorganisms isolated from its roots. *Ornam. Hortic*, 25, 407–416.
- Bhattacharjee, S.K., Das, S.P. 2008. *Orchids-Botany, Breeding, Cultivation, Uses and Post-harvest Management*. Rajasthan (Ind): Aavishkar Publishers.
- Biggs, A. L. 1987. Orchids: The Queen of Flowers for Your Lab. *The American Biology Teacher* , 1, 402–407.
- BPS. 2022. Angka Deforestasi Netto Indonesia di Dalam dan di Luar Kawasan Hutan Tahun 2013-2020 (Ha/Th). <https://www.bps.go.id/statictable/2019/11/25/2081/angka-deforestasi-netto-indonesia-di-dalam-dan-di-luar-kawasan-hutan-tahun-2013-2020-ha-th.html> .
- Callaway, J. M., Ringius, L. 2002. Optimal Adaptation: A Framework. Completion Report Submitted to the Danish Energy Ministry. *UNEP Collaborating Centre on Energy and Environment, Risø National Laboratory, Roskilde*.
- Cardoso, J. C. 2017. Ionocidium ‘Cerrado 101’: intergeneric orchid hybrid with high quality of blooming. *Onnam. Hortic*, 23(3), 351–356.
- Chang, C. M., Lin, K. H., Huang, M. Y., Chen, C. I., Hsueh, M. L., Wang, C. W., & Yeh, K. W. 2021. Growth and Flowering Characteristics of *Oncidium* Gower Ramsey Varieties under Various Fertilizer Management Treatments in Response to Light Intensities. *Agronomy*, 11(12), 2549.
- Chase, M. W. 2005. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. *Curtis’s Bot. Mag*, 22, 2–7.
- Chase, M.W., Cameron, K. M., Freudenstein, J. V., Pridgeon, A. M., Salazar, G., Berg, C. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177, 151–174.

- Chen, J. T., Chang, W. C. 2000. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Sci*, 160, 87–93.
- Chen, J. T., Chang, W. C. 2002. Effects of tissue culture conditions and explant characteristic on direct somatic embryogenesis in *Oncidium* ‘Grower Ramsey’. *Plant Cell, Tissue Organ Cult*, 69, 41–44.
- Cho, A. R., Choi, S. H., Kim, Y. J. 2020. Flowering and photosynthetic responses of *Phalaenopsis* under elevated CO₂ and nutrient supply. *Hor Sci and Tech* , 5(38).
- Chu, C.C., Wang, C. C., Sun, C.S., Hsu, C., Yin, K. C., Chu, C. Y. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Sci Sin*, 18(659).
- Chu, Y., Wu, C.L., Holbrook, Akins, P.O. 2016. Conditions that impact artificial hybridization of *Arachis hypogaea* L. *Peanut Sci*, 43(2), 106–115.
- Chung, H. H., Chen, J.T., Chang, W. C. 2005. Cytokinins induce direct somatic embryogenesis of *Dendrobium* ‘Chiengmai Pink’ and subsequent plant regeneration. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 41, 765–769.
- Comber, J. B. 2001. *Orchids of Sumatra*. Kew: The Royal Botanic Garden.
- Connel, J., Mc, Kamemoto, H. 1983. Characteristics of four sets of reciprocal crosses in *Dendrobium* (Orchidaceae). *J Amer Soc Hort Sci* , 108, 1003–1006.
- Cortés-Anzúres, B. O., Corona-López, A. M., Damon, A., Mata-Rosas, M., Flores-Palacios, A. 2020. Phorophyte type determines epiphyte-phorophyte network structure in a Mexican oak forest. *Flora*, 272.
- Cribb, J., Kell, S.P., Dixon, K.W., & Barrett, R.L. 2003. *Orchid conservation: A global perspective*. Kinabalu Sabah: Natural History Publications (Borneo).
- Cribb, P. 2017. The black orchids of Sulawesi. *Orchid Review*, 125(1349), 142–149.
- da Silva, J. A. T., Tsavkelova, E. A., Ng, T. B., Parthibhan, S., Dobranszki, J., Cardoso, J. C., Rao, M. V., Zeng, S. 2015. Asymbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*. *Plant Cell Reports* , 34, 1685–1706.
- Damayanti, F. 2006. *Pembentukan Beberapa Hibrida Anggrek serta Pengaruh Beberapa Media Perkecambahan dan Media Perbanyak Cepat secara In Vitro pada Beberapa Anggrek Hibrida*. (Laporan Akhir Program Hibah Kompetisi). Universitas Padjajaran, Bandung.

- Darmawati, I. A., Astarini, I. A., Yuswanti, H., Fitriani, Y. 2021. Pollination compatibility of *Dendrobium* spp. orchids from Bali, Indonesia, and the effects of adding organic matters on seed germination under in vitro culture. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5), 2554–2559.
- Darnaedi, D., Setiawan, A., & Wiriadinata, H. 2019. The Current Status of *Paphiopedilum rothschildianum* (Orchidaceae) and Its Conservation in Indonesia. Dalam *IOP Conference es: Earth and Environmental Science*.
- Das MC, K. S. T. P. 2008. In vitro propagation and conservation of *Dendrobium lituiflorum* Lindl. through protocorm-like bodies. *J Plant Biochem Biotechnol*, 17, 177–180.
- de Chandra, L., Pathak, P., Rao, A. N., Rajeevan, P. K. 2019. *Breeding approaches for improved genotypes* (in: De, G. (Ed.)). Polland: 300: Commercial Or- chids. Warsaw.
- De, L. C. 2015. *Commercial orchids* (De Gruyter Open). Berlin.
- De, L. C., Bhutia, T. C., Bhusal, A., Chettri, M. 2020. Package of practices of important orchid species of North East India. *Agriculture Observer*, 1(6), 1–13.
- De LC, Rao AN, Rajeevan PK, Pathak P. (2014). Orchid improvement-an overview. *J. Orchid Soc. India*, 28, 35–45.
- Diamond JM. (1989). *The present, past and future of human-caused extinctions*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* (discussion 476, Vol. 325).
- Dixon, K. W., Kell, S. P., Barrett, R. L., & Cribb, P. J (eds). 2003. *Orchid Conservation*. Kota Kinabalu: Sabah Natura History Publications.
- dos Santos, S. A., E. D. C. Smidt, A. A., Padiãl, and L. L. F., Ribas. 2016. Asymbiotic seed germination and in vitro propagation of *Brasiliorchis picta*. *African Journal of Biotechnology*, 15(6), 134–144.
- Dressler, R. L. 1981. *The Orchids Natural History and Classification* (Vol. 352). Cambridge. Harvard University Press.
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeni and classification of orchid family*. USA: Dioscorides Press.
- Duncan, M., Moloney, P. D. 2018. Comparing wild and reintroduced populations of the threatened orchid *Diuris fragrantissima* (Orchidaceae) in south-eastern Australia. *Australian Journal of Botany* , 66(7), 459–467.

- Dutra, D., Johnson, T., Kauth, P., Stewart, S., Kane, M., Richardson, L. 2008. Asymbiotic seed germination, in vitro seedling development, and greenhouse acclimatization of the threatened terrestrial orchid *Bletia purpurea*. *Plant Cell Tissue Organ Cult* , 94, 11–21.
- Dwiati, M., Susanto, A. H., Prayoga, L. 2020. Intergeneric hybrids of *Phalaenopsis* 2166 x *Vanda* ‘Saint Valentine’ showing maternal inheritance: Genetic analysis based on ndhE partial gene. *BIODIVERSITAS*, 21(11), 5138–5148.
- Fay, M. F. 2018. Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century. *Botanical Studies*, 59 (16).
- Fay, M. F., Pailler, T., & Dixon, K.W. 2015. Orchid conservation: making the links. *Ann Bot.*, 116, 377–379.
- Ferreira, W. M., Kerbauy, G. B, Kraus, J. E., Pescador, R., Suzuki, R. M. 2006. Thidiazuron influences the endogenous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoots of *Dendrobium*. *J Plant Physiol*, 163, 1126–1134.
- Ferziana, Erfa, L. 2013. Pengaruh tripton dan arang aktif pada pembesaran bibit angrek *Phalaenopsis* in vitro. *Jurnal Penelitian Terapan*, 13(1), 45–51.
- Fisher, A. R. 1935. *The Design Of Experiment*. Edinburgh: Oliver And Boyd.
- Frei, J. K., Dodson, C. H. 1972. The chemical effect of certain bark substrates on the germination of early growth epiphytic orchid. *Bull Torrey Bot Club* , 99, 301–307.
- Galdiano, R. F., & Angeles, R. P. 2020. Orchid conservation in the Philippines: an overview. *Philippine Journal of Systematic Biology*, 14(1), 1–16.
- Gale, S. W, Fischer, G. A, Cribb, & P. J., Fay, M. F. 2018. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. *Bot J Linn Soc*, 186, 425–434.
- Gale, S. W., Kumar, P., Hinsley, A., Cheuk, M. L., Gao, J., Liu, H., Liu, Z. L., Williams, S. J. 2019. Quantifying the trade in wild-collected ornamental orchids in South China: Diversity, volume and value gradients underscore the primacy of supply. *Bio Conserv*, 238, 108204.
- Gamborg, O. L., Miller, R. A., Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cells. *Exp Cell Res*, 50(1), 151–158.
- Gandawidjaya, D., Sastrapradja, S. 1980. Plasma nutfah *Dendrobium* asal Indonesia. *Buletin Kebun Raya* , 4(4), 113–125.

- Gao, Y., Zhao, Z. Y., Li, J. Y., Liu, N., Jacquemyn, H., Guo, S.X., Xing, X.K (2020). Do fungal associates of co-occurring orchids promote seed germination of the widespread orchid species *Gymnadenia conopsea*. *Mycorrhiza*, 30, 221–228.
- Gentry, A. H., & Dodson, C. H. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphyte. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74(2), 233.
- George, E. F. 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture Part 1 In Practice*. Exegitics Limited (2nd ed.). England.
- George, E. F., Hall, M. A., and de Klerk, G-J. 2008. *Plant Propagation Tissue Culture* (3rd ed.). The Netherlands: Springer.
- Govaerts, R., Bernet, P., Kratochvil, K., Gerlach, G., Carr, G., Alrich, P. 2017. World checklist of Orchidaceae. Kew: Facilitated by the Royal Botanic Gardens.
- Grantham, M. A., Ford, B. A, Worley, A. C. 2019. Pollination and fruit set in two rewardless slipper orchids and their hybrids (*Cypripedium*, Orchidaceae): Large yellow flowers outperform small white flowers in the northern tall grass prairie. *Plant Biology* , 21, 997–1007.
- Gusta, A. R., Hapsoro, D., Sa'diyah, N., & Yusnita. 2011. Pengaruh media dasar dan benziladenin (BA) terhadap pembesaran seedling anggrek *Dendrobium* in vitro. *Jurnal Agrotropika*, 16(2), 76–79.
- Hapsoro, D., Septiana, V.A., Ramadiana, S., Yusnita. 2018. A medium containing commercial foliar fertilizer and some organic additives could substitute MS medium for in vitro growth of *Dendrobium* hybrid seedlings. *J.Floratek* , 13(1), 11–22.
- Hartati, S. 2017. Study of Genetic Diversity on Six Species of Indonesian *Coelogyne* spp. Based on ISSR Markers. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20, 577–583.
- Hartati, S., Samanhudi, Cahyoho, O. 2022. Short Communication: Morphological characterization of five species of *Dendrobium* native to Indonesia for parent selection. *Biodiversitas*, 23(5), 2648–2654.
- Hartati, S., Samanhudi, Manurung, I. R, C. O. 2021. Morphological characteristics of *Phaius* spp. orchids from Indonesia. *Biodiversitas*, 2, 1991–1995.
- Hazlina, MSN, Wahba, L. E., Fadelah, A., Wickneswari, R. 2013. Genetic relationships among 81 *Dendrobium* accessions from Malaysia. *Malay Appl. Biol*, 42(1), 35–40.

- Herman, D. E. 1997. The species behind standard *Cattleya*. *Orchids*, 66(3), 234–243.
- Hazlina, M. S. N., Wahba, L. E, Fadelah, A., Wickneswari, R. 2019. Mammoth found alive and thriving in Madagascar. *Orchid Review*, 127(1327), 163–165.
- Hew, C. S., Ng, C. K. Y. 1996. Changes in mineral and carbohydrate content in pseudobulbs of the C3 epiphytic orchid hybrid *Oncidium* ‘Goldiana’ at different growth stages. *Lindleyana*, 11, 125–134.
- Hidayati, N. Z., Saptadi, D., Soetopo, L. 2016. Analisis hubungan kekerabatan 20 spesies anggrek *Dendrobium* berdasarkan karakter morfologi.
- Hinsley, A., de Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S.W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., Kumar, P., Masters, S., Metusala, D., Robert, D. L., Veldman, S., Wong, S., & Phelps, J. 2018. A review of the trade in orchids, and its implication for conservation. *Bot J Linn Soc*, 186, 435–455.
- Hossain, M. M. 2013. In vitro embryo morphogenesis and micropropagation of *Dendrobium aggregatum* Roxb. *Plant Tissue Cult Biotechnol*, 23(2), 241–249.
- Huang, L. C., Lin, C. J., Kuo, C. I., Huang, B. L., Murashige, T. 2001. *Paphiopedilum* cloning in vitro. *Scientia Horticulturae*, 91, 111–121.
- Ibisch, P. I. 1996. *Biological diversity. The coexistence of species on changing landscape*. Cambridge.
- Indani. 2007. *Pengaruh Pepton dan Media Dasar Terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek Dendrobium Hibrida In Vitro* (Skripsi). Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Indrawati, W. 2008. *Hibridisasi berbagai tetua anggrek Dendrobium, optimasi media pengecambahan biji in vitro serta aklimatisasi planlet untuk menghasilkan hibrida baru* (Tesis). Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- IUCN. 1996. *Status Survei and Conservation Action Plan Orchids*. IUCN/SSC Orchid Specialist Group.
- IUCN. 2016. Red List of Threatened Species: *Chiloscyllium punctatum*—published in .
- IUCN. 2020. The IUCN red list of threatened species. Version 2020–1.
- IUCN/SSC (International Union for Conservation of Nature/Species Survival Commission). 2013. Guidelines for reintroductions and other conservation translocations. Version 1.0. Gland. *IUCN*.

- Jacobs, M. 1972. Botanical exploration in the Lampung Province, Sumatra. .
Reinwardtia, 8(2), 345–349.
- Jangyukala, M., Hemanta, L. 2021. Review on advances in production of hybrids in orchids. *STM J*, 10(2), 15–20.
- Jiang, H., Kong, J. J., Chen, H. C. 2020. *Cypripedium subtropicum* (Orchidaceae) employs aphid colony mimicry to attract hoverfly (Syrphidae) pollinators. *New Phytol*, 227, 1213–1221.
- Jiemjuejun, J. Damrianant, S., Thanananta, T. 2017. Genetic relationship assessment and identification of orchids in the Genus 42 using HAT-RAPD. *Science & Tech. Asia*, 22(4), 19–26.
- Johnson, T. R., Stewart, S. L., Dutra, D., Kane, M. E., Richardson, L. 2007. Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Eulophia alta* (Orchidaceae)—preliminary evidence for the symbiotic culture advantage. . *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 90, 313–323.
- Jones, D. L. 1992. Some rare and threatened Australian orchids', in Butler, G, Meredith, L & Richardson, M (eds). Dalam *Conservation of Rare or Threatened Plants in Australasia*, (hlm. 203–206). Canberra: Australian National Botanic Gardens.
- Joppa, L. N., Roberts, D. L., Pimm S. L. 2011. How many species of flowering plants are there? Dalam 278 (Ed.), *Proceedings of the Royal Society B* (hlm. 554–559).
- Jualang, A.G., Devina, D., Hartinie, M., Sharon, J.S., & Roslina, J. 2014. Asymbiotic seeds germination and seedlings development of *Vanda dearei*. *Malaysian Applied Biology*, 43(2), 25–33.
- Juh, Shiau., Y. S. M., Nalawade, C., Hsia, V., Mulabagal, and H., Tsay. 2005. In Vitro Propagation of The Chinese Medicinal Plant, *Dendrobium Candidum* Wall. Ex Lindl from Axenic Nodal Segment. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 41(5), 666–670.
- Julisaniah, N. I., Sulistyowati, L., & Sugiharto, A. N. 2008. Analisis Kekerabatan Mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan Metode RAPD - PCR dan Isozim. *Jurnal Biodiversitas*, 9(2), 99–102.
- Kabir, M. F., Rahman, M. S., Jamal, A., Rahman, M., Khalekuzzaman, M. 2013. Multiple shoot regeneration in *Dendrobium fimbriatum* Hook an ornamental orchid. *J Anim Plant Sci*, 23(4), 1140–1145.
- Kanchanapoom, K., Anuphan, T., Pansiri, S. 2014. Effects of total nitrogen and BA on in vitro culture of *Phalaenopsis*. *Acta Horticul*, 243–245.

- Kanchanapoom, K., Jantaro, S., and Rakchtrd, D. 2001. Isolation and fusion of protoplast from mesophyll cells of *Dendrobium* Pompadour. *Sci. Asia* , 40(2), 29–34.
- Kartikaningrum, S., Hermiati, N., Baihaki, A., Haeruman, M. K., Mathius, N.T. 2002. Keekerabatan Antar Genus Anggrek SubTribe Sarcanthinae Berdasarkan Data Fenotip dan Pola Pita DNA. *Zuriat*, XIII, 01–10.
- Kartikaningrum, S., Soehendi, R., Widiastoety, D., Budiarto, K., Meilasari, R., Kurniasih, D., Dewanti, M., Fibrianty, E. 2014. *Panduan Karakterisasi Tanaman Hias*. Jakarta: IAARD PRESS.
- Kasutjianingati, K., Firgiyanto, R. 2018. Characterization of morphology from orchid *Vanda* sp. as a genetic information source for preservation and agribusiness of orchids in Indonesia. *IOP Conf* (hlm. 207). Ser Earth Environ Sci .
- Khentry, Y., Paradornuvat, A., Tantiwiwat, S., Phansiri, S., and Thaveechai, N. 2006. Protoplast isolation and culture of *Dendrobium* Sonia “Bom 17”. *Kasetsart J. . Nat. Sci*, 40, 361–369.
- Khosravi, A. R., M. A., Kadir, S. B., Kazemin, F. Q., Zaman, and De Silva, A. E. 2008. Establishment of a plant regeneration system from callus of *Dendrobium* cv. Serdang Beauty. *Afr. J. Biotechnol*, 7, 4093–4099.
- Kim, D. H., Kang, K. W., Enkhtaivan, G., Jan, U., Sivanesan, I. 2019. Impact of activated charcoal, culture medium strength and thidiazuron on non-symbiotic in vitro seed germination of *Pecteilis radiata* (Thunb.) Raf. *South African Journal of Botany*, 124, 144–150.
- Kitsaki, C.K., Zygouraki, S., Ziobora, M., Kintzios, S. 2004. In vitro germination, protocorm formation and plantlet development of mature versus immature seeds from several *Ophrys* species (Orchidaceae). *Plant Cell Rep* , 23, 284–290.
- Knudson, K. 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seeds. *Am Orchid Soc Bull.*, 214–217.
- Kuehnle, A. R. 2007. Orchids, *Dendrobium*. In: Anderson NO (Ed.) Flower breeding and genetics. San Luis Obispo. *Springer*, 539–560.
- Kuehnle, A. R., Nan, G. L. 1990. Factors influencing the isolation and culture of protoplasts from Hawaiian *Dendrobium* cultivars. Dalam B. N. B. D. C. L. Kernoban J (Ed.), *Proceedings of the 13th World Orchid Conference* (hlm. 259–262). New Zealand: Auckland.
- Kukulczanka, K., Wojciechowska, U. 1983. Propagation of two *Dendrobium* species by in vitro culture. *Acta Hortic (ISHS)*, 131, 105–110.

- Kumar, K., Madhu, Sheela, V. L. 2017. Status of breeding in orchids-A review. *Journal of Ornamental Horticulture*, 10, 199–208.
- Kunasakdakul, K., and P, Smitamana. 2003. *Dendrobium Pratum* Red Protoplast. Thai J". *Agric. Sci*, 36(1), 1–8.
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada.
- Laskowska, D., Berbeć, A., Van Laere, K., Kirov, I., Czubacka, A., and Trojak-Goluch, A. 2015. Cytology and fertility of amphidiploid hybrids between *Nicotiana wuttkei* Clarkson et Symon and *N. tabacum* L. *Euphytica* , 206, 597–608.
- Lavarack, B., Harris, W., & Stocker, G. 2000. *Dendrobium and its relatives*. Oregon, USA: Timber Press.
- Leon-Yanez, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa, C., Navarette, H. 2011. *Red Book of the Endemic Plants of Ecuador*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador: Quito.
- Lestari, E. W., Damayanti, F., & Setyawan, A. D. 2020. The conservation status of *Coelogyne pandurata* (Lindl.) J.J.Sm. (Orchidaceae), an endemic orchid of Java Island, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(6), 2823–2829.
- Li, C., Dong, N., Zhao, Y., Wu, S., Liu, Z., and Zhai J. 2021. A review for breeding of orchids: Current achievements and prospects. *Horticultural Plant Journal*, 7(5), 380–392.
- Li, X., He, T., Chun, Z. 2013. Detecting genetic diversity of *Dendrobium* tissue culture seedlings with ISSR method. *Chin J Appl Environ Biol (in Chinese with English abstract)*, 19, 249–254.
- Liu, H., Luo, Y-B. 2010. Protecting orchids in nature reserves: research and restoration needs. *Bot Rev* , 76, 137–139.
- Liu, H., Liu, Z. J., Jin, X. H. 2020. Assessing conservation efforts against threats to wild orchids in China. *Conserv. Biol*, 243, 108484.
- Luo, J., Hou, B.W., Niu, Z.T., Liu, W., Xue, Q.Y., Ding, X.Y. 2014. Comparative chloroplast genomes of photosynthetic orchids: Insights into evolution of the Orchidaceae and development of molecular markers for phylogenetic applications. *PLoS ONE*.
- Luo, J., Hou, B.W., Niu, Z.T., Liu, W., Xue, Q.Y., Ding, X.Y. 2009. Enhanced micropropagation of *Dendrobium huoshanense* C.Z. Tang et S.J. Cheng through protocorm-like bodies: the effects of cytokinins, carbohydrate sources and cold pretreatment. *Sci Hortic.*, 123, 258–262.

- Mabberley, D. J. 1997. *The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants*. (Ed. 2). Cambridge: Cambridge University Press.
- Mabberley, D. J., Mabberley, O. O. 2008. *Plant Book* (3rd ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Mahendran, G., Muniappan, V., Ashwini, M., Muthukumar, T., and Narmatha Bai, V. 2012. Asymbiotic seed germination of *Cymbidium bicolor* Lindl. (Orchidaceae) and the influence of mycorrhizal fungus on seedling development. *Acta Physiologiae Plantarum*, 15(3), 829–840.
- Malabadi, R., Mulgund, B., Kallappa, G.S.N. 2005. Micropropagation of *Dendrobium nobile* shoot tip sections. *J. Plant Physiol*, 162, 473–478.
- Mardiastuti, A., Mulyani, N. A., & Wardiyati, T. 2020. Keanekaragaman anggrek Indonesia dan upaya konservasinya. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 7(1), 23–34.
- Marlina, N., Aminah, R. I. S., & Setel, L. R. 2015. Aplikasi pupuk kandang kotoran ayam pada tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaeae* L.). *Jurnal Biosaintifika*, 7(2), 136–141.
- McCormick, M. K., Jacquemyn, H. 2014. What constrains the distribution of orchid populations? . *New Phytologist*, 202, 392–400.
- McKendrick, S. 2000. *In vitro* germination of orchids: A manual. US, Ukuador, Ceiba Foundation for Tropical Conservation.
- Molvray, M., & Chase, M. 1999. *Seed Morphology. Im. Pridgeon A.M. (. C. P. J. , C. M. W. & R. F. N., Ed.)* (Genera Orchidacearum, Vol. 1). Oxford University Press.
- Monda, T., Dash, P. K., Ahmed, M., Islam, M. M., Ali, M. H. 2014. Growth performance of orchid (*Dendrobium* Sp.) as influenced by different npk spray concentration. *Int. J. of Biosci*, 4(7), 15–27.
- Morris, M. W., Steen, W. L., & Judd, W.S. 1996. Vegetative anatomy and systematics of subtribe *Dendrobiinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, 120(2), 89–144.
- Muhaimin, M., Lailaty, I.Q., Hidayat, I.W. 2018. Keragaman tumbuhan di kawasan Hutan Lindung Gunung Tanggamus, Lampung dan upaya konservasinya. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 4(2), 144–150.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473–497.

- Nahar, S. J., Kazuhiko, S. H., Chieh, Li, H., Kaewjampa, N. 2012. Effect of plant growth regulators on organogenesis in protocorm-like body (PLBs) of *Cymbidium dayanum* in vitro. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(6), 28–33.
- Nanekar, V., Shriram, V., Kumar, V., Kishor, P. B. K. 2014. Asymbiotic in vitro seed germination and seedling development of *Eulophia nuda* Lindl., an endangered medicinal orchid. *Proc Nat Acad Sci* , 84(3), 837–846.
- Nayak, N., Sahoo, S., Patnaik, S., Rath, S. 2002. Establishment of thin crosssection (TCS) culture method for rapid micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Sci. Hortic*, 94, 107–116.
- Newell, M. 2004. *Introduction to plant biotechnology*. CRC Press.
- Nimura, M., Kato, J., Horaguchi, H., Mii, M., Sakai, K., and Katoh, T. 2006. Induction of fertile amphidiploids by artificial chromosome doubling in interspecific hybrid between *Dianthus caryophyllus* L. and *D. japonicus* Thunb. . *Breed. Sci.* , 56, 303-310.
- Nimura, M., Kato, J., Mii, M., and Ohishi, K. 2008. Cross-compatibility and the polyploidy of progenies in reciprocal back-crosses between diploid carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) and its amphidiploid with *Dianthus japonicus* Thunb. *Sci. Hortic.*, 115, 183–189.
- Niu, S. C., Huang, J., Xu, Q., Li, P. X., Yang, H. J., Zhang, Y. Q., Zhang, G. Q., Chen, L. J., Niu, Y. X., Luo, Y. B., & Liu, Z. J. 2018. Morphological type identification of self-incompatibility in *Dendrobium* and its phylogenetic evolution pattern. *Int J. Mol. Sci*, 19, 2595.
- Nontachaiyapoom, S., Sasirat, L., Monoch. 2011. Symbiotic seed germination of *Grammatophyllum speciosum* Blume and *Dendrobium draconis* Rchb. f. *Native orchids of Thailand Scientia Horticulturae*, 130, 303–330.
- Nugroho, H., Purnomo, dan Sumardi, I. 2006. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Jakarta: Swadaya.
- Nugroho, J. D., Arobaya, A.Y. S., Tanur, E. A. 2019. Propagation of *Dendrobium antennatum* Lindl via seed culture in vitro using simple medium: fertilizer and complex organic based medium. *HAYATI*, 26(3), 133–138.
- Pakum, W., Watthana, S., Srimuang, K. O., Kongbangkerd, A. 2016. Influence of medium component on in vitro propagation of Thai's endangered orchid: *Bulbophyllum nipondhii* Seidenf. *Plant Tissue Cult Biotechnol* , 25(1), 37–46.

- Pangestu, F., Aziz, S.A., Sukma, D. 2014. Karakterisasi Morfologi Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 5, 29–35.
- Pansarin, E., Pansarin, L., Poleti, M. M., Gobbo-Neto, L. 2016. Self-compatibility and specialisation in a fly-pollinated *Acianthera* (Orchidaceae: Pleurothallidiinae). *Aust. J. Bot*, 64, 359–367.
- Paul, S., Kumaria, S., Tandon, P. 2012. An effective nutrient medium for asymbiotic seed germination and largescale in vitro regeneration of *Dendrobium hookerianum*, a threatened orchid of northeast India. *Plant Growth Regul.*
- Pecoraro, L., Rasmussen, H. N., Gomes, S. I., Wang, X., Merckx, V. S., Cai, L., Rasmussen, F. N. 2021. Fungal diversity driven by bark features affects phorophyte preference in epiphytic orchids from southern China. *Scientific reports*, 11(1), 1–14.
- Pershina, L. A., Trubacheeva, N. V. 2017. Interspecific incompatibility in wide hybridization of plants and ways to overcome. *Russian J. Genet Appl Res*, 7(4), 416–425.
- Pierik, R. L. M., Sprenkels, P. A., Van Der Harst, B., & Van Der Meys, Q. G. 1988. Seed germination and further development of plantlets of *Paphiopedilum ciliolare* Pfitz. in vitro. *Scientia Horticulturae*, 34, 139–153.
- Poobathy, R., Izwa, N., Julkifle, A. L., Subramaniam, S. 2013. Cryopreservation of *Dendrobium sonia*-28 using an alternative method of PVS2 droplet freezing. *Emir. J. Food Agric*, 25(7), 531–538.
- Portal Informasi Indonesia. 2019. Portal Informasi Indonesia.
- Pradhan, S., Regmi, T., Parmar, G., Pant, B. 2013. Effect of different media on in vitro seed germination and seedling development of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. Nepal. *Journal of Sci. Technol*, 14(1), 51–56.
- Prayoga, G. I., Henri, Mustikarini, E. D., Anggyansyah. 2022. Diversity and morphological relationship of orchid species (Orchidaceae) in Bangka island, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(10), 5323–5332.
- Proctor, J. T. A., Slimmon, T., Saxena, P. K. 1996. Modulation of root growth and organogenesis in thidiazuron-treated ginseng (*Panax quinquefolium* L.). *Plant Growth Regul*, 20(3), 201–208.
- Proietti, S., Scariot, V., De Pascale, S., Paradiso, R. 2022. Flowering Mechanisms and Environmental Stimuli for Flower Transition: Bases for Production Scheduling in Greenhouse Floriculture. *Plants*, 11, 432.

- Puchooa, D. 2004. Comparison of different culture media for the in vitro culture of *Dendrobium* (Orchideaceae). *Int J Agric Biol* , 6, 884–888.
- Purwantoro, A., Erlina, S., Fitria. 2005. Kekerabatan antar anggrek spesies berdasarkan sifat morfologi tanaman dan bunga. *Ilmu Pertanian*, 12, 1–11.
- Puspitaningtyas, D. M. 2007. Inventarisasi anggrek epifit dan inangnya di Taman Nasional Meru Betiri [Orchid Inventory and the host in Meru Betiri National Park, East Java]. *Biodiversitas*, 8(3), 210–214.
- Pyati, A.N., Murthy, H. N., Hahn, E. J., Paek, K. Y. 2002. In vitro propagation of *Dendrobium macrostachym* Lindl.—a threatened orchid. *Indian J Exp Biol*, 40, 620–623.
- Qin, H., Yang, Y., Dong, S. 2017. Threatened species list of China's higher plants. *Biodiversity Science* , 25, 696–744.
- Rahayu, S.E., Handayani, S. (2008). Keanekaragaman Morfologi dan Anatomi Pandanus (Pandanaceae) di Jawa Barat. *Vis Vitalis*, 01(2), 29–44.
- Ram, P., Ram, R., Dayamma, M., Barman, D., Singh, D. R., Pushker. 2016. Response of culture media on multiplication of *Cymbidium* hybrids cultured in vitro. *J Ornament Horticulture*, 11, 119–124.
- Ramadiana, S., Sari, A. P., Yusnita, dan Hapsoro, D. 2008. Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media dasar dan Pepton terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium* Hibrida Secara In Vitro. Dalam *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung*. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Ramsay, M. M., Dixon, K. W. 2003. *Propagation science, recovery and translocation of terrestrial orchids*. In 'Orchid conservation.' (S. K. R. B. P. C. Eds KW Dixon, Ed.). Sabah: Natural History Publications.
- Reiter, N., Bohman, B., Batley, M., Phillips, R. D. 2019. Pollination of an endangered *Caladenia* species (Orchidaceae) by nectar-foraging behaviour of a widespread species of colletid bee. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 189, 83–98.
- Reiter, N., Bohman, B., Flemmati, G. R., Phillips, R. D. 2018. Pollination by nectar foraging thynnine wasps: evidence of a new specialized pollination strategy for Australian orchids. *Botanical Journal of the Linnean Society* , 188, 327-337.
- Reiter, N., Whitfield, J., Pollard, G., Bedggood, W. 2016. Orchid re-introduction: an evaluation of success and ecological considerations using key comparative studies from Australia. *Plant Ecol* , 217(1), 1–13.

- Roberts, D. L., Dixon, K. W. 2008. Orchids. *Current Biology*, 18, 325–329.
- Saad, A. I. M., Elshahed, A. M. 2012. Plant tissue culture media. *INTECH*, 29–40.
- Sailo, N., Rai, D., De, L. C. 2014. Physiology of temperate and tropical orchids. *Interntional Journal of Scientific Research*, 3, 3–7.
- Sari, R. A., Damayanti, F., & Susilowati, A. 2017. Conservation status of *Bulbophyllum virescens* (Orchidaceae): an endemic black orchid from Bali, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity.*, 18(1), 57–63.
- Saxena, S. 2020. The current research status of endangered *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume: A Review. *Asian Journal of Research in Botany* , 4(2), 16–25.
- Schrautzer, J., Fichtner, A., Huckauf, A., Rasran, L., Jensen, K. 2011. Long-term population dynamics of *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó after abandonment and reintroduction of mowing. *Sci*, 43(2), 106–115.
- Seaton, P., Kendon, J. P., Pritchard, H. W., Puspitaningtyas, D. M., Marks, T. R. 2013. Orchid conservation: the next ten years. *Lankesteriana* , 13(1–2), 93–101.
- Seeni, S., Latha, P. G. 2000. In vitro multiplication and ecorehabilitation of the endangered Blue *Vanda*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, 61(1), 1-8.
- Segovia-Rivas, A., Meave, J. A., González, E. J., Pérez-García, E. A. 2018. Experimental reintroduction and host preference of the microendemic and endangered orchid *Barkeria whartoniana* in a Mexican Tropical Dry Forest. *Journal for Nature Conservation*, 43, 156–164.
- Sheelavanthmath, S. S., Murthy, H. N., Hema, B. P., Hahn, E. J., Paek, K. Y. 2005. High frequency of protocorm like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. *Sci Hortic* , 106, 395–401.
- Shibu, S.B., Devi, C.B., Wesley, S.P., & Moin, S. 2012. Ex situ conservation of endemic of western ghats, Tamilnadu, India a asymbiotic seed germination. *Advances in Applied Science Research*, 3(5), 3339–3343.
- Shina, P., Roy, S. K. 2004. Regeneration of an Indigenous orchid, *Vanda teres* (Roxb.) through in vitro culture. *Plant Tissue Cult*, 14(1), 55–61.
- Sidek, N., Anuar, N. S. M., Naher, L., Rahman, K. A. M. A. 2018. The effect of different nutrient media on in vitro shoot and root proliferation of *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. *Afr. J. Biotechnol*, 17(39), 1241–1246.

- Singh, F. 1984. *Cymbidium munronianum*. The Fragrant *Cymbidium*. *Orchid Reviews.*, 92, 231.
- Sinha, P., and Jahan, M.A.A. 2012. Clonal propagation of *Rhynchostylis retusa* (Lin.) Blume through in vitro culture and their establishment in the nursery. *Plant Tissue Cult. & Biotech*, 22(1), 1–11.
- Sivanaswari, Chalaparmal, Thohirah, L. A., Fadelah, A. A., & Abdullah, N. A. P. 2011. Hybridization of several *Aerides* species and in vitro germination of its hybrid. *African Journal of Biotechnology*, 10(53), 10864–10870.
- Sleper, D. A., Poehlman, J. M. 2006. *Breeding Field Crops*. State Avenue: Blackwell Publishing.
- Stewart, S. L., Zettler, L.W., Minso, J., Brown, P. M. 2003. Symbiotic germination and reintroduction of *Spiranthes brevilabris* Lindley, an endangered orchid native to Florida. *Selbyana*, 24, 64–70.
- Su, J.S., Jiang, J.F., Zhang, F., Liu, Y., Ding, L., Chen, S.M., Chen, F.D. 2019. Current achievements and future prospects in the genetic breeding of *Chrysanthemum*: a review. *Hortic. Res*, 6, 109.
- Sudjana. 2002. *Metode Statistika* (Edisi VI). Bandung: Penerbit Tarsito.
- Sunitibala, H., Kishor, R. 2009. Micropropagation of *Dendrobium transparens* L. from axenic pseudobulb segments. *Indian J Biotechnol*, 8, 448–452.
- Suzuki, R. M., Moreira, V. C., Pescador, R., Ferreira, W. M. 2012. Asymbiotic seed germination and in vitro seedlings development of the threatened orchid *Hoffmannseggella cinnabarina*. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 48, 500–511.
- Swarts, N. D., Dixon, K. W. 2009a. Perspectives on orchid conservation in botanic gardens. *Trends Plant Sci*, 14, 590–598.
- Swarts, N. D., Dixon, K. W. 2009b. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Ann Bot*, 104, 543–556.
- Syaputri, G. 2009. *Pengaruh Arang Aktif dan Bubur Pisang Ambon pada Pembesaran Seedling Dendrobium Hibrida In Vitro* (Skripsi). Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Syukur, M., Sriani, S., Rahmi, Y. 2012. *Teknik Pemuliaan Tanaman*. Jakarta Indonesia: Penebar Swadaya.
- Tee, C. S., Maziah, M., Tan, C.S., & Abdullah, M. P. 2011. Selection of cotransformed *Dendrobium Sonia 17* using hygromycin and green fluorescent protein. *Biol Plan*, 55, 572–576.

- Tee, C.S., Wong, C.Q., Lam, X. L., & Maziah, M. 2010. A preliminary study of protocorm-like bodies (PLBs) induction using leaf explants of *Vanda* and *Dendrobium* orchids. *Asia Pac J Mol Biol Biotechnol*, 18, 189–191.
- Teixeira da Silva, J. A. 2013a. Orchids: advances in tissue culture, genetics, phytochemistry and transgenic biotechnology. *Floriculture Ornam Biotechnol* , 7, 51–52.
- Teixeira da Silva, J. A. 2013b. The role of thin cell layers in regeneration and transformation in orchids. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 113, 149–161.
- Teixeira da Silva, J. A. 2014. Should the term protocorm-like body be used exclusively for orchids? *J Plant Dev*, 22, 161-166.
- Teixeira da Silva, J. A., & Dobránszki, J. 2011. The plant growth correction factor. I. The hypothetical and philosophical basis. *Int J Plant Dev Biol*, 5, 73–74.
- Teixeira da Silva, J. A., & Tanaka, M. 2006. Multiple regeneration pathways via thin cell layers in hybrid *Cymbidium* (Orchidaceae). *J Plant Growth Regul*, 25, 203–210.
- Teixeira da Silva, J. A., Winarto, B., Dobránszki, J., Cardoso, J.C., Zeng, S. 2016. Tissue disinfection for preparation of *Dendrobium* in vitro culture. *Folia Hortic*, 28, 57–75.
- Teixeira da Silva, J. A. 2013. Orchids: Advances in tissue culture, genetics, phytochemistry and transgenic biotechnology. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, 7(1), 1–52.
- Teo, C. K. H., and Neumann, K. H. 1978. The culture of protoplasts isolated from *Renantanda Rosalind Cheek* (J). *Orchid Rev*, 86, 156–158.
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*, 145–148.
- Thomas, F. O. H. 2001. Modern white *Phalaenopsis*: origin and current status. *Orchid Digest*, 65(4), 148–154.
- Thomas, S., & Schuiteman, A. 2002. Orchids of Sulawesi and Maluku: A preliminary catalogue. *Lindleyana*, 17, 1–72.
- Tiwari, A. P., Joshi, B., Ansari, A. A. 2012. Less known ethnomedicinal uses of some orchids by the Tribal inhabitants of Amarkantak Plateau, Madhya Pradesh, India. *Nature & Science* , 10, 33–37.
- van Tongerlo, E., van Ieperen, W., Dieleman, J. A., & Marcelis, L. F. 2021. Vegetative traits can predict flowering quality in *Phalaenopsis* orchids

- despite large genotypic variation in response to light and temperature. *PloS one* , 165.
- Trapnell, D., Hamrick, J. L. 2006. Variety of phorophyte species colonized by the Neotropical epiphyte, *Laelia rubescens* (Orchidaceae). *Selbyana*, 27, 60–64.
- Tremblay, R. L., Ackerman, J. D., Zimmerman, J. K., Calvo, R. N. 2005. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society*, 84, 1–54.
- Trimanto, D. S. 2020. Diversity of epiphytic orchids, hoyas, dischidia and phorophytes (host tree) in Bawean Island nature reserve and wildlife reserve, East Java, Indonesia. *J. of Trop. Biodiversity and Biotech*, 5(2), 78-88.
- Udomdee, W., Kongsawad, P., Darak R., Somrit P. 2014. Collection and evaluation on ex situ conservation of *Phaius* orchid. *Khon Kaen Agr. J.* , 3, 529-534.
- Utami, E. S. W., Hariyanto, S. 2020. Organic compounds: contents and thier role in improving seed germination and protocorm development in orchids. *Hindawi Int. J. of Agronomy*, 1–12.
- Vacin, E. F., Went, F. W. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Bot Gaz*, 605-613.
- Van Waes, J. M. D. P. 1986. In vitro germination of some Western European orchids. *Physiol Plant* , 67, 253–261.
- Vendrame, W. A., Carvalho, V. S., and Dias, J. M. M. 2007. In vitro germination and seedling development of cryopreserved *Dendrobium* hybrid mature seeds. *Sci. Hortic.*, 114, 188–193.
- Wagner. 2015. Host specificity in vascular epiphytes: a review of methodology, empirical evidence and potential mechanisms. *AoB Plants* 7.
- Wang, H. Z., Feng, S., Lu, J., Shi, N., Liu, J. 2009. Phylogenetic study and molecular identification of 31 *Dendrobium* species using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Scientia Horticulture*, 122, 440–447.
- Wang, M., Li, S., Chen, L., Li, J., Li, L., Rao, W., Liu, H., Chen, J., Ren, H. 2021. Conservation and reintroduction of the rare and endangered orchid *Paphiopedilum armeniacum*, *Ecosystem Health and Sustainability*, 7, 1.
- Wang, Q. X., Shao, S. C., Su, Y., Hu, X., Shen, Y., Zhao, D. K. 2019. A novel case of autogamy and cleistogamy in *Dendrobium wangliangii*: a rare orchid distributed in the dry-hot valley. *Ecology and Evolution.* , 9, 12906–12914.

- Willis, K. J. 2017. *State of the world's plants 2017*. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Winarto, B., Rachmawati, F., Santi, A., Teixeira da Silva, J. A. 2013. Mass propagation of *Dendrobium* 'Zahra FR 62', a new hybrid used for cut flowers, using bioreactor culture. *Sci Hortic*. 161:, 161, 170–180.
- Wraith, J., Pickering, C. 2019. A continental scale analysis of threats to orchids. *Biological Conservation*, 234, 7–17.
- Wu, K., Zeng, S., Lin, D., da Silva, J. A.T., Bu, Z., Zhang, J., Duan, J. 2014. In vitro propagation and reintroduction of the endangered *Renanthera imschootiana* Rolfe. *PLOS ONE*, 9(10), 1–12.
- Xie, H., Peng, D., Chen, Y. 2020. Genetic structure and differentiation of wild populations of *Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f. in the main mountain range of Jiangxi Province, China. *Plant Sci. J*, 38, 123–133.
- Yamazaki, J., Miyoshi, K. 2006. In vitro asymbiotic germination on immature seed and formation of protocorm by *Cephalanthera falcata* (Orchidaceae). *Ann Bot* , 98, 1197–1206.
- Yokowa, K., Fasano, R., Kagenishi, T., Baluska, F. 2014. Light as stress factor to plant roots – case of root halotropism. *Frontier in Plant Science* , 5(718), 1–9.
- Yong, J. W. H., Ge, L., Ng, Y. F., Tan, S. N. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules.*, 14, 5144–5164.
- Yunianti, R., Sujiprihati, S., Syukur, M. 2010. *Teknik Persilangan Buatan dalam Bunga Rampai Pemikiran*. Bogor (ID): ICMI.
- Yusnita. 2010. *Perbanyak In Vitro Tanaman Anggrek*. Universitas Lampung.
- Zeng, S., Wu, K., Silva, J. A.T., Zhang, J., Chen, Z., Xia, N., Duan, J. 2012. Asymbiotic seed germination, seedling development and reintroduction of *Paphiopedilum wardii* Sumerh., an endangered terrestrial orchid. *Sci Hortic* , 138, 198–209.
- Zeng, S. J., Huang, W. C., Wu, K. L., Zhang, J. X., Teixeira da Silva, J. A., Duan, J. 2015. Seed biology and in vitro seed germination of *Cypripedium*. *Crit Rev Biotechnol*, 35(3), 279–292.
- Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., Hu, H. 2018. Physiological diversity of orchids. *Plant Divers* , 40(4), 196–208.
- Zhang, X., Cao, Q., and Jia, G. 2017. A protocol for fertility restoration of F1 hybrid derived from *Lilium* × *formolongi* 'Raizan 3' × Oriental hybrid 'Sorbonne. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 129, 375–386.

- Zhang, Y., Li, Y., Guo, S. 2020. Effects of the mycorrhizal fungus *Ceratobasidium sp.* AR2 on growth and flavonoid accumulation in *Anoectochilus roxburghii*. *PeerJ*, 8, 8346.
- Zhang, Z. S., He, Q.Y., Fu, X. L., Ou, X. J., Lin, W. Q., Jiang, J. Y 2001. Studies on the wide cross of Chinese orchids and the germination of their hybrid seeds *J. South China Agric*, 2, 62–65.
- Zheng, XN., Wen, Z. Q., Hew, C.S. 1992. Responses of *Cymbidium sinense* to drought stress. *J Horticultural Sci*, 67, 295–299.