

## PERTUMBUHAN PROTOKORM ANGGREK *Papilionanthe hookeriana* LOKAL BANGKA PADA BERBAGAI KOMPOSISI MEDIA *IN VITRO*

## GROWTH OF ORCHIDS PROTOCORMS *Papilionanthe hookeriana* LOCAL BANGKA ON VARIOUS *IN VITRO* MEDIA COMPOSITIONS

Maera Zasari\*, Kartika Kartika

Fakultas Pertanian Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung, Pangkal Pinang; Indonesia

\*Corresponding Author. E-mail address: maerazasari72.ubb@gmail.com

### PERKEMBANGAN ARTIKEL:

Diterima: 8 Desember 2023

Direvisi: 5 Agustus 2024

Disetujui: 3 Desember 2024

### KEYWORDS:

Bangka, germination-growth, medium, *Papilionanthe*.

### ABSTRACT

The pencil orchid (*Papilionanthe hookeriana*) from Bangka is starting to become endangered. The preservation of the pencil orchid from Bangka will be made easier if orchid seeds are available in large quantities. *In vitro* germination is an effective method for producing *Papilionanthe hookeriana* orchid seeds from Bangka. The research was carried out at the Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Fisheries and Biology, Bangka Belitung University, from May to October 2023. There were two experimental phases in the study: (1) seed germination and (2) PLBs enlargement. The seed germination experiment used a completely randomized design with media type treatments ( $\frac{1}{2}$  MS and Growmore) and a variety of organic materials (pineapple extract 200 g/l, carrot extract 200 g/l, tomato extract g/l, coconut water 150 ml/l). PLBs enlargement also used a completely randomized design with media type treatments ( $\frac{1}{2}$  MS and Growmore) in combination with different organic materials (pineapple extract 200 g/l, carrot extract 200 g/l, tomato extract g/l, coconut water 150 ml/l) and NAA or BA ZPT each 2 mg/L. Each treatment consisted of 3 (three) bottles and was repeated 3 (three) times. According to the research,  $\frac{1}{2}$  MS medium was the best for seed germination;  $\frac{1}{2}$  MS media plus the best tomato or carrot extract produces the best number of germinated seeds; the best growth of PLBs was obtained on Growmore media; The best growth of PLBs was obtained on Growmore media plus tomato extract and NAA.

### ABSTRAK

Anggrek pensil (*Papilionanthe hookeriana*) asal Bangka mulai terancam punah. Kelestarian anggrek pensil asal Bangka akan dipermudah jika bibit anggrek tersedia dalam jumlah banyak. Pengecambahan secara *in vitro* menjadi metode efektif dalam memproduksi bibit anggrek *Papilionanthe hookeriana* asal Bangka. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung, mulai bulan Mei sampai Oktober 2023. Penelitian terdiri atas 2 (dua) tahap percobaan, yaitu (1) pengecambahan biji dan pembesaran PLBs. Percobaan pengecambahan biji menggunakan rancangan teracak lengkap dengan perlakuan jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS dan Growmore) dikombinasikan dengan berbagai bahan organik (ekstrak nenas 200 g/l, ekstrak wortel 200 g/l, ekstrak tomat g/l, air kelapa 150 ml/l). Pembesaran PLBs menggunakan rancangan teracak lengkap dengan perlakuan jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS dan Growmore) dikombinasikan dengan berbagai bahan organik (ekstrak nenas 200 g/l, ekstrak wortel 200 g/l, ekstrak tomat g/l, air kelapa 150 ml/l) serta ZPT NAA atau BA masing-masing 2 mg/L. Setiap perlakuan terdiri 3 (tiga) botol dan diulang 3 (tiga) kali. Penelitian mendapatkan bahwa media  $\frac{1}{2}$  MS terbaik untuk pengecambahan biji; media  $\frac{1}{2}$  MS ditambah ekstrak tomat atau wortel terbaik menghasilkan jumlah biji berkecambah; pertumbuhan PLBs terbaik diperoleh pada media Growmore; Pertumbuhan PLBs terbaik diperoleh pada media Growmore ditambah ekstrak tomat dan NAA.

### KATA KUNCI:

Bangka, media, pengecambahan-pertumbuhan, *Papilionanthe*.

## 1. PENDAHULUAN

Kepulauan Bangka Belitung merupakan daerah yang kaya akan plasma nuftah anggrek. Kelimpahan plasma nuftah anggrek, antara lain *Cymbidium finlasonianum* Lindl., *Grammatophyllum speciosum* Blume, *Dendrobium aloifolium* (Blume) Rchb.f., *Phalaenopsis sumatrana*, dan *Papilionanthe hookeriana* merupakan sumber daya alam yang prospektif bagi pembudidayaan anggrek di Kepulauan Bangka Belitung (Anggraini, 2008; DESTRI 2015).

*Papilionanthe hookeriana* (Rchb.f.) Schltr) sering disebut sebagai anggrek pensil atau anggrek rawa. Anggrek pensil pertama kali dilaporkan dan dinobatkan sebagai 'Ratu Anggrek' oleh kerajaan Inggris pada tahun 1882. Pemerintah Provinsi Bengkulu memberi anugrah "The First Class Certificate" terhadap anggrek pensil pada tahun 2015 (Febriani *et al.* 2019; Handini 2019)

Anggrek *Papilionanthe hookeriana* banyak ditemukan tumbuh liar di rawa-rawa atau danau pada kawasan hutan di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. Anggrek pensil Bangka memiliki batang yang tingginya dapat mencapai  $\pm 2.5$  m, berbentuk bulat dan beruas-ruas serta berseludang. Bunga berukuran besar dengan diameter  $\pm 5$  cm yang tersusun dalam tandan berukuran panjang 15-25 cm muncul dari ketiak daun yang berbentuk terete. Warna bunga sangat menawan, yaitu ungu muda dengan kelopak samping sedikit keputihan serta labelum yang lebar dan besar. Bunga muncul sepanjang tahun dengan waktu mekar yang lama (Anggraini, 2008).

Keberadaan anggrek pensil Bangka terancam punah. Penambangan timah secara masif menjadi penyebab utama pembongkaran hutan yang berdampak pada kerusakan habitat dan menurunnya kelimpahan populasi anggrek pensil Bangka. Konservasi melalui perbanyakan secara *in vitro* menjadi alternatif strategis dalam upaya pelestarian populasi spesies anggrek.

Perbanyakan anggrek secara *in vitro* dapat dilakukan melalui pengecambahan biji atau menumbuhkembangkan berbagai tipe eksplan dari tanaman anggrek. Teknik *in vitro* memungkinkan pengecambahan biji anggrek yang secara alami sangat sulit akibat cadangan makanan pada biji yang sangat terbatas. Untuk meningkatkan keberhasilan pertumbuhan bibit, protocorm ditumbuhkan dalam kondisi aseptik di media kultur *in vitro* sehingga suplai energi hara mineral, senyawa organik, dan zat pengatur tumbuh selalu tersedia (Hapsoro dan Yusnita 2018); (Kang *et al.* 2002)

Formulasi media yang dapat digunakan untuk pengecambahan biji anggrek antara lain Murashige dan Skoog (1962) (MS) yang mengandung garam-garam mineral esensial untuk pertumbuhan kecambah biji anggrek. Media padat berformulasi MS baik *full strength* maupun *half strength* (1/2 MS) dapat digunakan untuk pengecambahan dan regenerasi *Protocorm Like-Bodies* (PLBs) menjadi planlet anggrek (George *et al.*, 2008); (Mukminin *et al.*, 2016); (Restanto *et al.*, 2018).

Media kultur mengandung kandungan nutrisi pupuk lengkap memungkinkan digunakan untuk mengecambahkan biji anggrek dengan efektifitas yang tidak kalah baik dibandingkan dengan formulasi MS. Salah satu pupuk lengkap yang dapat dicoba efektifitasnya sebagai bahan media dasar untuk anggrek adalah pupuk lengkap *Growmore* yang kaya unsur hara makro dan mikro yang lengkap. Media dasar *Growmore* cocok digunakan untuk pengecambahan dan pertumbuhan biji anggrek (Erfa *et al.*, 2019).

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berperan dalam menginisiasi atau memicu pertumbuhan dan diferensiasi sel, jaringan, serta organ tanaman *in vitro*. ZPT jenis auksin dan atau sitokinin sering digunakan untuk menginisiasi pertumbuhan akar dan tunas asal biji anggrek *in vitro* (Hira dan Bijaya 2019). *Naphthaleneacetic acid* (NAA) dan atau *Benzyladenine* (BA) masing-masing adalah ZPT jenis auksin dan sitokinin yang sering ditambahkan dalam media kultur untuk merangsang inisiasi dan proliferasi PLBs anggrek (Jualang *et al.*, 2014; Mukminin *et al.*, 2016; Restanto *et al.*, 2018). Konsentrasi NAA dan atau BA yang rendah dalam media kultur cukup efektif untuk menstimulasi perkecambahan dan pertumbuhan anggrek *in vitro* (George *et al.*, 2008); Anwar *et al.*, 2021); Restanto *et al.*, 2021)

Evaluasi pengecambahan biji dan perbesaran *PLBs* anggrek pensil Bangka pada media dasar  $\frac{1}{2}$  MS atau pupuk lengkap Growmore yang dikombinasikan dengan bahan organik serta ZPT NAA atau BA belum pernah dilakukan, sehingga penelitian ini diperlukan untuk mendapatkan formula media kultur yang optimal untuk pengecambahan dan perbesaran *PLBs* anggrek pensil Bangka.

## 2. BAHAN DAN METODE

Pengecambahan biji dan perbesaran *PLBs* anggrek pensil Bangka dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung, mulai bulan Mei sampai dengan Oktober 2023. Materi utama dalam penelitian berupa buah/polong matang anggrek pensil Bangka dengan ciri berwarna kekuningan dan tekstur agak lunak.

### 2.1 Pengecambahan Biji

Pengecambahan biji menggunakan rancangan teracak lengkap faktorial dengan perlakuan jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS dan Growmore) dan bahan organik (ekstrak nenas 200 g/l, ekstrak wortel 200 g/l, ekstrak tomat g/l, air kelapa 150 ml/l), terdapat 6 perlakuan yang masing-masing terdiri 3 (tiga) botol dan diulang 3 kali.

Media dasar  $\frac{1}{2}$  MS dan Growmore ditambahkan berbagai bahan organik, 20 g/l sukrosa dan diatur pH-nya menjadi 5,8 sebelum ditambah dengan 7 g/l bubuk agar-agar sebagai pematid media. Sterilisasi media dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup> selama 15 menit.

Sterilisasi polong dilakukan di dalam laminar air-flow cabinet dengan cara merendam kocok dalam larutan 30% pemutih pakaian ( $\pm$  1,5% NaOCl) selama 15 menit lalu membilasnya dengan air steril tiga kali. Selanjutnya, polong dicelup ke dalam spritus dan dibakar samapi nyala api di permukaan polong hilang (dilakukan sebanyak 2x). Polong steril diletakkan di atas cawan petri steril, dipotong di kedua ujungnya dan dibelah di kedua sisinya sehingga biji-bijinya tampak. Penanaman bijidilakukan dengan menaburkan sejumlah biji yang volumenya diusahakan sama menggunakan ujung spatula. Setelah biji disemaikan, botol ditutup kembali dan diletakkan di rak kultur.

Pengamatan pada pengecambahan biji dilakukan setelah biji berkecambah yang ditandai perubahan biji menjadi *Protocorm Like-Bodies* (*PLBs*). Peubah yang diamati adalah jumlah *PLBs* yang mencerminkan jumlah biji yang berkecambah per botol. Botol yang menghasilkan jumlah *PLBs* terbanyak diasumsikan memiliki persentase perkecambahan sebesar 100 %. Persentase perkecambahan pada botol lainnya ditentukan dengan cara membandingkan jumlah *PLBs* tiap-tiap botol dengan jumlah *PLBs* pada botol yang memiliki persentase perkecambahan 100%.

### 2.2 Pembesaran *PLBs*

Uji Pertumbuhan *PLBs* menggunakan rancangan teracak lengkap faktorial dengan perlakuan jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS dan Growmore) dikombinasikan dengan bahan organik (ekstrak nenas 200 g/l, ekstrak wortel 200 g/l, ekstrak tomat 200 g/l, air kelapa 150 ml/l) dan ZPT (NAA atau BA masing-masing sebanyak 2 mg/l). Terdapat 12 perlakuan yang masing-masing terdiri 3 (tiga) botol dan diulang 3 kali.

*PLBs* hasil perkecambahan biji yang berukuran seragam dipilih untuk selanjutnya ditransfer secara aseptik ke media perlakuan masing-masing sebanyak 50 *PLBs* per botol. Media yang digunakan adalah media dasar  $\frac{1}{2}$  MS dan growmore yang ditambah adenda bahan organik serta NAA atau BA sesuai perlakuan, 20 g/l sukrosa dan diatur pH-nya menjadi 5,8 sebelum ditambah dengan 7 g/l bubuk agar-agar sebagai pematid media. Sterilisasi media dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup> selama 15 menit.

Setelah berumur 3 bulan sejak pemindahan PLBs dilakukan pengamatan terhadap beberapa variabel yang mencerminkan pertumbuhan PLBs, yaitu pertambahan tinggi PLBs (mm), persentase PLBs bertunas (%), dan jumlah daun (helai). Data hasil pengamatan uji perkecambahan dan pertumbuhan PLBs dianalisis dengan sidik ragam uji F menggunakan *soft-ware* R. Perbedaan nilai variabel yang diukur diuji lebih lanjut dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 0,05.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Pengecambahan Biji

Biji anggrek pensil Bangka yang dikecambahkan pada semua perlakuan media kultur mulai berkecambah sejak umur 4 minggu dan maksimum pada umur 12 minggu setelah semai. Perkecambahan biji ditandai dengan terbentuknya PLBs, yaitu massa sel hijau berbentuk bulat yang disebut sebagai tahap awal perkembangan bibit. Keberhasilan pengecambahan biji anggrek pensil Bangka membuktikan bahwa teknik *in vitro* merupakan metode yang cocok untuk pengecambahan biji pada hampir semua spesies anggrek yang sulit berkecambah pada habitat aslinya (Nand & Madhulika 2020; Mercado & Delgado 2020). Pengecambahan *in vitro* dianggap cukup efektif karena jumlah benih anggrek yang berhasil dikecambahkan per polong/buah sangat banyak (Mala *et al.*, 2017).

Rekapitulasi sidik ragam persen biji berkecambah pada perlakuan media dasar dan adenda organik tercantum pada Tabel 1. Kombinasi antara jenis media dan bahan organik berpengaruh nyata terhadap persentase biji berkecambah. Hasil menunjukkan bahwa pertumbuhan biji anggrek *in vitro* tergantung pada komposisi media pengulturan, tercantum pada Gambar 1. Secara umum, persen perkecambahan biji anggrek pensil *in vitro* pada kombinasi media ½ MS dan bahan organik yang dicobakan tampak lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi media Growmore dan bahan organik.

Komposisi media ½ MS+ekstrak wortel dan ½ MS+ekstrak tomat menjadi kombinasi media terbaik untuk mendapatkan persen perkecambahan biji anggrek pensil *in vitro*, yaitu masing-masing 61,67 % dan 56,67 %. Persen perkecambahan biji anggrek pensil *in vitro* pada media berformulasi Growmore pada seluruh adenda tergolong rendah, yaitu berkisar antara 8,33 % - 30,00 %. Persen perkecambahan tertinggi pada perlakuan media Growmore+ekstrak wortel, yaitu 30,00 %, sedangkan paling rendah diperoleh pada perlakuan media Growmore+ekstrak nanas, yaitu 8,33 %.

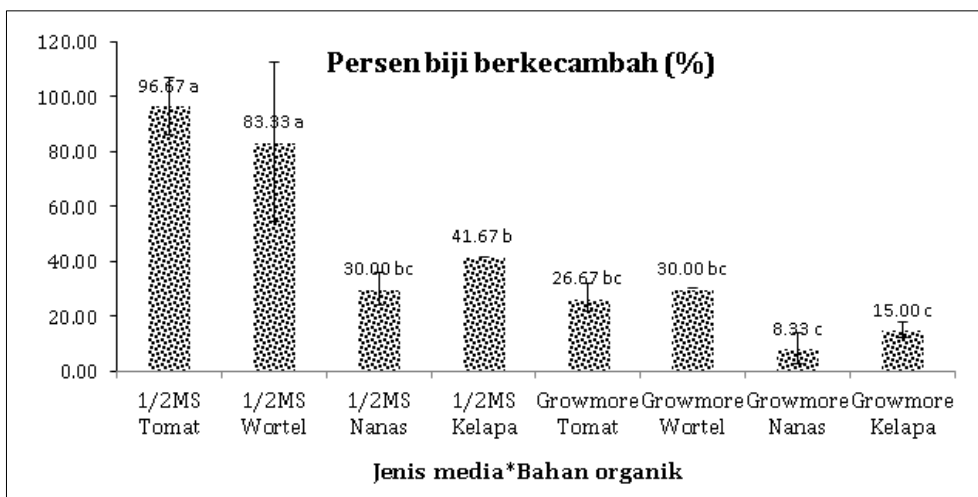
Penampilan PLBs yang diperoleh pada media ½ MS+ekstrak ekstrak tomat; ½ MS+ekstrak wortel; ½ MS+air kelapa berwarna hijau terang, sedangkan pada media ½ MS + ekstrak nanas berwarna hijau pucat, tersaji pada Gambar 2.

Perkecambahan biji terbaik umumnya diperoleh pada media yang mengandung bahan organik tinggi. khususnya nitrogen organik (Quiroz *et al.*, 2017; Mercado & Delgado, 2020). Media MS mengandung senyawa organik, antara lain asam-asam amino sebagai sumber nitrogen organik untuk pertumbuhan atau morfogenesis anggrek *in vitro* (Kumar Bhowmik *et al.*, 2017); (Hsieh *et al.*, 2022). Media MS umumnya lebih cocok dan optimal untuk pengecambahan biji berbagai spesies anggrek secara *in vitro* (Pakum *et al.*, 2016; An *et al.*, 2021).

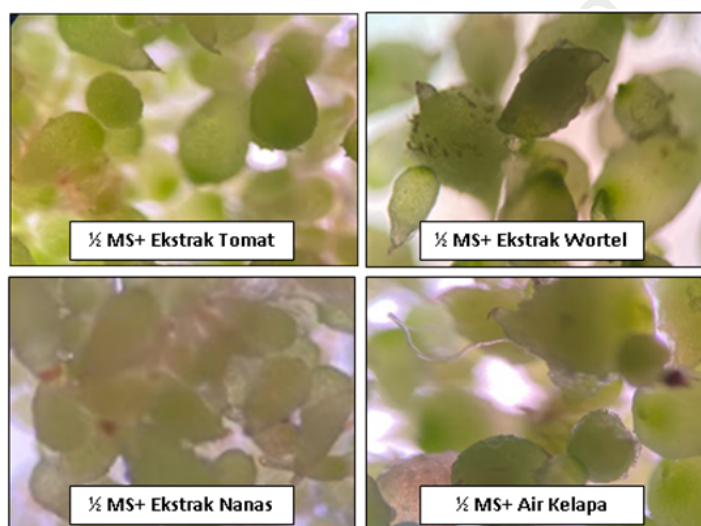
Tabel 1. Rekapitulasi Sidik Ragam Persentase Berkecambah Biji Anggrek Pensil Bangka *In Vitro* pada Umur 3 Bulan Setelah Semai.

Peubah	Jenis media	Bahan organik	Interaksi	KK (%)
	F-hitung			
Persentase Berkecambah (%)	4,41**	10,52**	22,43**	38,05

Keterangan: \*\* berpengaruh nyata pada  $\alpha = 1\%$ , KTM= kuadrat tengah media, KTA= kuadrat tengah adenda, KTI= kuadrat tengah interaksi, db = derajat bebas, KK= koefisien keragaman.



Gambar 1. Pengaruh kombinasi jenis media dan bahan organik terhadap persen biji berkecambah. Angka yang diikuti huruf sama pada label yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT taraf kepercayaan 5 %.



Gambar 2. Penampilan PLBs anggrek pensil pada media 1/2 MS dengan penambahan berbagai bahan organik.

Penambahan bahan organik merupakan teknik yang sangat baik untuk memicu perkecambahan biji anggrek (Mehrnaz Abbaszadeh *et al.*, 2018), antara lain air kelapa, ekstrak tomat, ekstrak wortel, dan ekstrak nanas (Sarmah *et al.*, 2017; Zahara *et al.*, 2017; Mayo-Mosqueda *et al.*, 2020; Mercado & Delgado, 2020).

Adenda ekstrak wortel dan ekstrak tomat tampak menjadi aditif organik yang memicu perkecambahan biji anggrek optimal. Ekstrak buah wortel dan tomat merupakan sumber alami asam amino, vitamin, mineral, asam organik, gula, protein, dan zat pengatur tumbuh alami yang berperan dalam perkembangan dan morfogenesis pada kultur biji asimbiotik (Dwiyani *et al.*, 2015); (Sarmah *et al.*, 2017; Zahara *et al.*, 2017; Nugroho *et al.*, 2019).

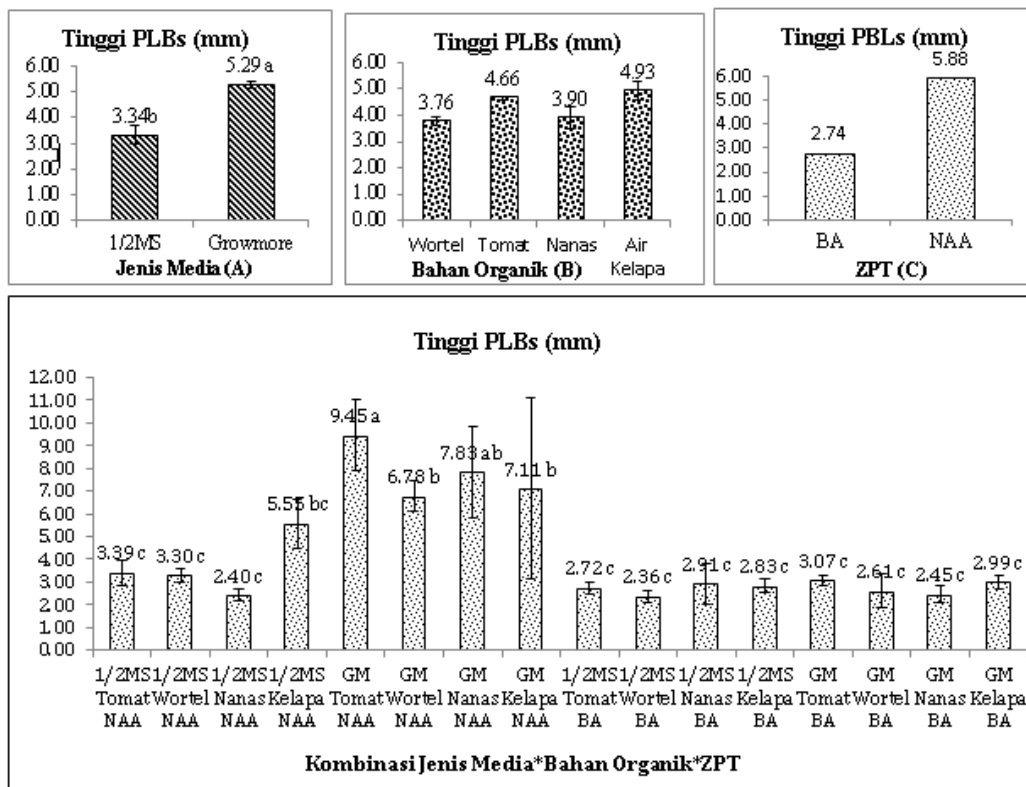
### 3.2 Pembesaran PLBs

Pertumbuhan PLBs anggrek pensil Bangka anggrek pensil Bangka dapat diamati dari respon PLBs terhadap perlakuan jenis media dasar (1/2 MS atau Growmore) yang dikombinasikan dengan bahan organik (ekstrak buah wortel, ekstrak buah tomat, ekstrak buah nanas, air kelapa) dan ZPT (NAA atau BA).

Tabel 2. Rekapitulasi Sidik Ragam Pertumbuhan *PLBs* Anggrek Pensil Bangka *In Vitro* Pada Umur 3 Bulan Setelah Semai.

<i>PLBs</i>	Jenis media	Bahan organik	ZPT	Interaksi	KK (%)
	F-hitung				
Tinggi (mm)	13,96**	1.19 <sup>tn</sup>	36.03**	9,54**	30.86
<i>PLBs</i> bertunas (%)	76,23**	4,10**	4,69*	16,31**	32.17
Jumlah daun (helai)	1.53 <sup>tn</sup>	3,88*	30,32**	6,46**	63.41

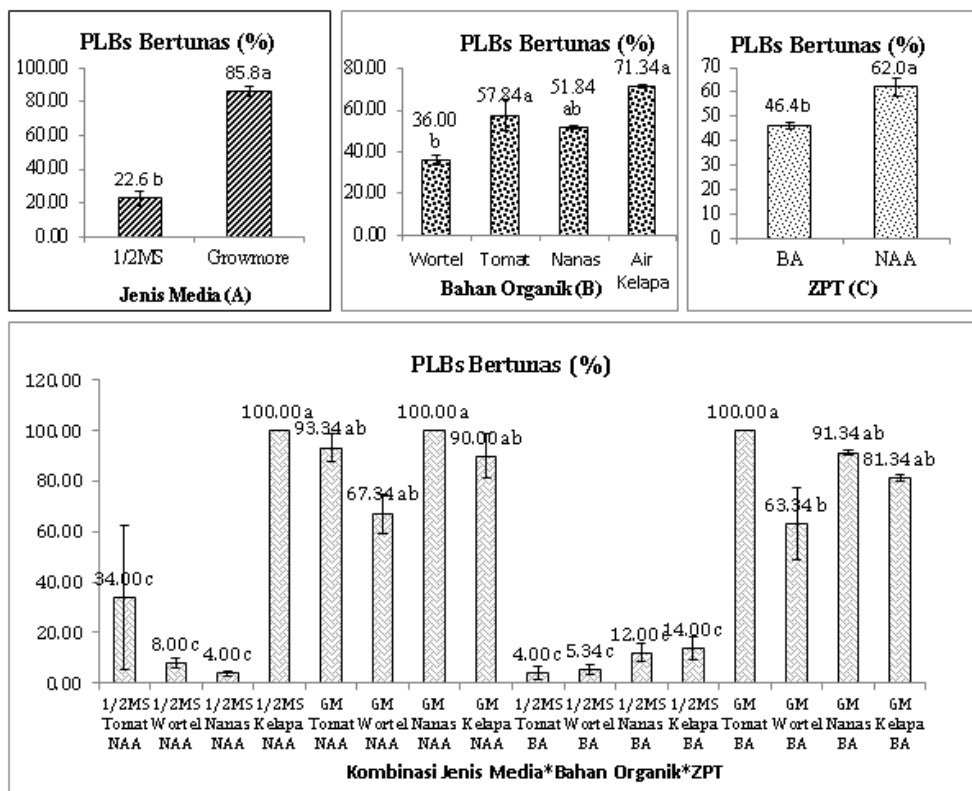
Keterangan: \*\* berpengaruh nyata pada  $\alpha = 1\%$ , \* berpengaruh nyata pada  $\alpha = 5\%$ , KK= koefisien keragaman.



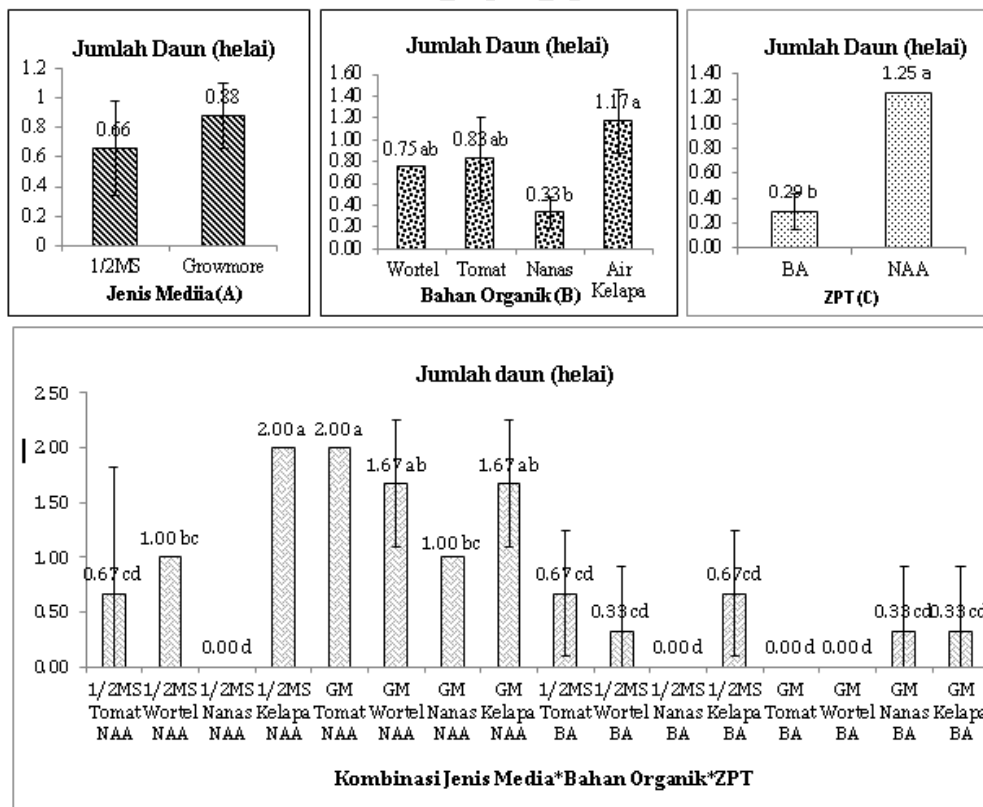
Gambar 3. Pengaruh kombinasi jenis media+bahan organik+ZPT terhadap tinggi *PLBs*. Angka yang diikuti huruf sama pada label yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT taraf kepercayaan 5 %.

Rekapitulasi sidik ragam pertumbuhan *PLBs* anggrek pensil pada berbagai komposisi media *in vitro* tercantum pada Tabel 2. Perlakuan jenis media dasar dikombinasikan dengan bahan organik dan penambahan ZPT menunjukkan pengaruh signifikan terhadap tinggi, persentase *PLBs* bertunas, dan jumlah daun. Pertumbuhan *PLBs* yang beragam percobaan diduga akibat perbedaan kandungan bahan anorganik dan organik serta ZPT dalam media pengulturan. Media Growmore dikombinasikan dengan semua jenis bahan organik dan NAA menghasilkan *PLBs* yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kombinasi media lainnya (Gambar 3). *PLBs* tertinggi diperoleh pada perlakuan media Growmore + ekstrak tomat + NAA, yaitu 9,45 mm. Perlakuan media Growmore +ekstrak nanas + NAA; Growmore + air kelapa + NAA; Growmore + ekstrak wortel + NAA berturut-turut menghasilkan tinggi *PLBs* sebesar 7,83 mm, 7,11 mm, dan 6,78 mm.

Pertumbuhan tunas pada perlakuan media Growmore dikombinasikan dengan ekstrak tomat, ekstrak nanas, dan air kelapa serta ZPT NAA atau BA menunjukkan persentase tertinggi dibandingkan dengan persentase tumbuh tunas pada kombinasi media 1/2 MS ditambah berbagai jenis bahan organik dan NAA atau BA. Persentase tunas terbanyak diperoleh pada perlakuan media Growmore + ekstrak nanas + NAA atau Growmore + ekstrak tomat + BA serta media 1/2 MS + air kelapa + NAA, yaitu masing-masing 100 % (Gambar 4).



Gambar 4. Pengaruh kombinasi jenis media+bahan organik+ZPT terhadap tinggi PLBs terhadap persentase PLBs bertunas. Angka yang diikuti huruf sama pada label yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT taraf kepercayaan 5 %.



Gambar 5. Pengaruh (kombinasi jenis media+bahan organik+ZPT terhadap terhadap jumlah daun. Angka yang diikuti huruf sama pada label yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT taraf kepercayaan 5 %.

Pertumbuhan daun terbanyak umumnya diperoleh dari perlakuan media Growmore atau  $\frac{1}{2}$  MS dikombinasikan dengan bahan organik (ekstrak tomat, ekstrak nanas, air kelapa) dan NAA. Jumlah daun terbanyak juga diperoleh pada media  $\frac{1}{2}$  MS + air kelapa + NAA. Perlakuan media  $\frac{1}{2}$  MS + ekstrak nanas + NAA atau BA tidak menunjukkan adanya pertumbuhan daun (Gambar 5).

Komposisi media merupakan faktor penentu keberhasilan dalam teknik kultur *in vitro*. Kandungan unsur makro dan mikro, unsur organik, sumber karbon, serta zat pengatur tumbuh merupakan komponen penting yang harus tersedia dalam media kultur (Pakum *et al.* 2016; ARELLANO-GARCÍA *et al.*, 2020). Growmore merupakan pupuk daun mudah larut yang sering digunakan untuk memformulasi media anggrek *in vitro*. Media Growmore banyak mengandung unsur hara makro dan mikro yang berguna untuk meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan protokorm (Nugroho *et al.*, 2019; Maulida *et al.*, 2021).

Perbedaan kandungan unsur hara makro dan mikro menentukan respon pertumbuhan *PLBs* (An *et al.*, 2021). Growmore merupakan jenis pupuk mudah larut dalam air mengandung unsur hara makro khususnya N, P, dan K yang tinggi, yaitu Nitrogen (N) sebesar 20% meliputi Ammoniacal Nitrogen 3,9%, Nitrate Nitrogen 5,7%, dan Urea Nitrogen Amoniak 10,4%; fosfat tersedia ( $P_2O_5$ ) 20%, Kalium terlarut ( $K_2O$ ) 20% dan dikayakan dengan unsur hara mikro lainnya yang berperan penting bagi pertumbuhan dan perkembangan berbagai macam spesies anggrek *in vitro* (Pakum *et al.* 2016; Wirmasari dan Novaliza Isda 2019) Kandungan unsur hara makro dan mikro dalam pupuk Growmore berguna untuk meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan protokorm (Nugroho *et al.*, 2019; Maulida *et al.*, 2021)

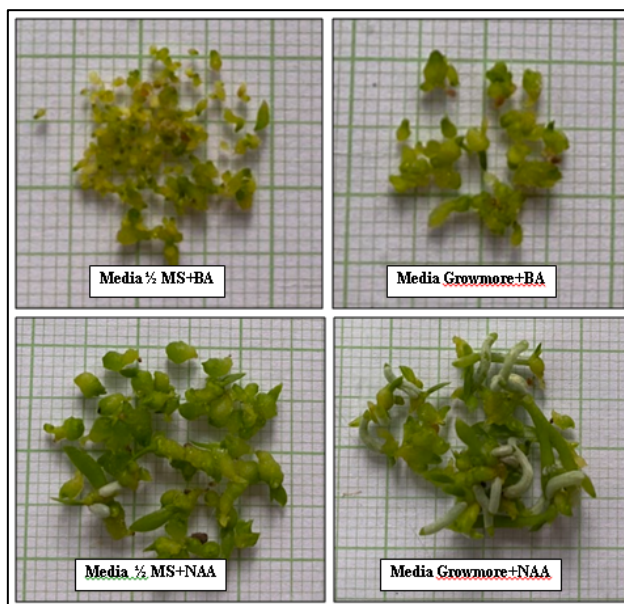
Optimalisasi pertumbuhan anggrek *in vitro* dapat dipicu melalui penambahan *fitoregulator*, salah satunya adalah senyawa organik asal ekstrak buah-buahan (Mercado & Delgado, 2020). Penambahan ekstrak buah-buahan antara lain tomat dan wortel berperan sebagai sumber bahan organik yang mendukung kuantitas dan kualitas pertumbuhan biji *in vitro* (Zahara *et al.*, 2017; Utami & Hariyanto, 2020). Suplemen organik sering ditambahkan untuk memperkaya nutrisi media yang perannya terkait dengan sumber nitrogen organik (asam amino), unsur mikro, dan vitamin untuk pertumbuhan protokorm (Hapsoro *et al.*, 2018; Moraes *et al.*, 2020).

Peran bahan organik yang ditambahkan dalam media pengulturan terlihat dari respon pertumbuhan *PLBs* yang beragam. Penambahan bahan organik ekstrak tomat pada media Growmore + NAA menghasilkan tinggi *PLBs* terbaik (Gambar 3); media  $\frac{1}{2}$ MS + air kelapa + NAA; dan media Growmore + ekstrak tomat + NAA menghasilkan persentase *PLBs* bertunas (Gambar 4) dan jumlah daun (Gambar 5) terbaik, yaitu berturut-turut >90 % dan 2 (dua) daun.

Pertumbuhan *PLBs* yang tinggi diduga akibat kandungan auksin dan senyawa mirip sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel dalam air kelapa (Sukma *et al.*, 2019). Bahan organik asal ekstrak tomat menjadi sumber vitamin C yang dapat merangsang organogenesis, embriogenesis somatik, dan pertumbuhan tunas berbagai spesies tanaman *in vitro* (Darmawati *et al.*, 2021).

Secara umum, pertumbuhan tinggi *PLBs* (Gambar 3), persentase *PLBs* bertunas (Gambar 4), dan jumlah daun (Gambar 5) pada media  $\frac{1}{2}$  MS atau Growmore yang mengandung NAA lebih tinggi dibandingkan dengan pertumbuhan *PLBs* pada media  $\frac{1}{2}$  MS atau Growmore yang mengandung BA. Penampilan pertumbuhan *PLBs* pada berbagai komposisi media perlakuan yang mengandung ZPT NAA atau BA disajikan pada Gambar 6. *PLBs* yang ditumbuhkan pada komposisi media + NAA tampak berukuran lebih besar dengan jumlah tunas dan daun lebih banyak dibandingkan dengan pertumbuhan *PLBs* pada komposisi media + BA.

Peran ZPT dalam media kultur *in vitro* dipengaruhi oleh jenis dan level ZPT yang digunakan. ZPT jenis auksin dan sitokinin sering digunakan untuk merangsang proliferasi jaringan dan perkembangan eksplan menjadi planlet (UDDAIN *et al.* 2016; Hossen *et al.*, 2021; Aung *et al.*, 2022).



Gambar 6. Penampilan pertumbuhan PLBs anggrek pensi Bangka pada jenis media dan ZPT NAA atau BA.

Penambahan ZPT jenis auksin, khususnya NAA dalam media kultur dilaporkan dapat meningkatkan proliferasi dan regenerasi protokorm berbagai jenis anggrek *in vitro* (Gansau *et al.*, 2016; ARELLANO-GARCÍA *et al.*, 2020). Auksin jenis NAA sering ditambahkan dalam media untuk meningkatkan pertumbuhan protokorm (Maharjan *et al.*, 2019; Pyati, 2022), karena NAA berperan dalam menginisiasi organogenesis dari eksplan *in vitro* (Aung *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022).

#### 4. KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa (1) Media dasar  $\frac{1}{2}$  MS merupakan media terbaik untuk pengecambahan biji; Media  $\frac{1}{2}$  MS dikombinasikan dengan adenda organik ekstrak tomat atau ekstrak wortel menghasilkan persentase biji berkecambah terbaik, yaitu >80 %; (2) Media dasar Growmore merupakan media terbaik untuk pembesaran PLBs; Media dasar Growmore dikombinasikan dengan adenda organik ekstrak tomat dan NAA menghasilkan pertumbuhan PLBs terbaik, yaitu tinggi 9,54 mm; persen bertunas > 90%; dan jumlah daun sebanyak 2 (dua) helai.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana melalui Skim Penelitian Akselerasi Lektor Kepala melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Bangka Belitung.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- An J, Kim PB, Park H Bin, Kim S, Park HJ, Lee CW, Lee BD, Kim NY, Hwang JE. 2021. Effects of different growth media on *in vitro* seedling development of an endangered orchid species *sedirea japonica*. *Plants*. 10(6).
- Anggraini D. 2008. *Aneka Tanaman Hias Bangka Belitung yang Menarik*. Pangkal Pinang: UBB press, Pangkal Pinang. 90 p.
- Anwar A, Rizwan M, Aldywaridha, Indra G. 2021. Pemberian BAP dan NAA pada media MS terhadap pertumbuhan planlet anggrek (*Dendrobium bifalce*) secara *in vitro* Administration of BAP and NAA on MS media on the growth of orchid plantlets (*Dendrobium bifalce*) *in vitro*. *Agril J Ilmu*

- Pertan.* 9(3):104–109.
- ARELLANO-GARCÍA J, ENCISO-DÍAZ O, FLORES-PALACIOS A, VALENCIA-DÍAZ S, FLORES-MORALES A, PEREA-ARANGO I. 2020. Asymbiotic germination, effect of plant growth regulators, and chitosan on the mass propagation of *stanhopea hernandezii* (orchidaceae). *Bot Sci.* 98(4):524–533.
- Aung WT, Bang KS, Yoon SA, Ko B, Bae JH. 2022. Effects of Different Natural Extracts and Plant Growth Regulators on Plant Regeneration and Callus Induction from Pseudobulbs Explants through in vitro Seed Germination of Endangered Orchid *Bulbophyllum auricomum* Lindl. *J Bio-Environment Control.* 31(2):133–141.
- Azlan Gansau J, Indan H, Abdullah SN, David D, Marbawi H, Jawan R. 2016. Effects of Organic Additives and Plant Growth Regulators on Protocorm Development of *Dendrobium lowii*. *Trans Sci Technol.* 3(3):462–468.
- Cristina Moraes M, Rubia Camolesi M, Abel Palmieri D, Rosa Bertão M. 2020. Commercial fertilizers and organic additives in orchid micropropagation. *Plant Cell Cult Micropropag.* 16:1–10.
- Darmawati IAP, Astarini IA, 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.* 22(5):2554–2559.
- DESTRI D. 2015. Survei keanekaragaman anggrek (Orchidaceae) di Kabupaten Bangka Tengah dan Belitung, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. 1:509–514.
- Dwiyani R, Yuswanti H, Darmawati IAP, Suada K, Mayadewi NNA. 2015. In vitro germination and its subsequent growth of an orchid of *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis* from Bali on complex additives enriched medium. *Agrivita.* 37(2):144–150.
- Erfa L, Sesanti RN, Maulida D, Riantini NWA, Kriswiyanti. E da. IPS, Setiari N, Purwantoro A, Moeljopawiro S, Semiarti E, Dwiyani R, *et al.* 2019. Germination and Growth Of *Phalaenopsis* Orchid Seeds on Some Combinations of Media Composition and Coconut Water. *J Biol Sci.* 7(2):406–410.
- Febriani S, Wahyuni Ganefianti D, Romeida A, Herawati R. 2019. Acclimatization of Pencil Orchid (*Papilionanthe hookeriana* Rehb.f). *Akta Agrosia.* 22(1):36–41.
- George EF, Hall MA, Klerk GJ De. 2008. *Plant propagation by tissue culture 3rd edition.* Volume ke-1. 503 p.
- Handini E. 2019. Penyimpanan biji dan mikropropagasi anggrek pensil ( *Papilionanthe hookeriana* ) di Kebun Raya Bogor Seed storage and micropropagation of pencil orchid ( *Papilionanthe hookeriana* ) in Bogor. *Pros Sem Nas Biodiv Indon.* 5(1):7–12.
- Hapsoro D, Septiana VA, Ramadiana S, Yusnita Y. 2018. A medium containing commercial foliar fertilizer and some organic additives could substitute MS medium for in vitro growth of *Dendrobium* hybrid seedlings. *JFlorateg.* 13(1):11–22.
- Hapsoro D, Yusnita Y. 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik.* Yogyakarta: Penerbit Andi. ISBN 978-979-29-7189-7.
- Hira A, Bijaya P. 2019. In vitro seed germination and seedling growth of the orchid *Dendrobium primulinum* Lindl. *African J Plant Sci.* 13(12):324–331.
- Hossen M, Saha S, Khatun F, Yasmin S. 2021. Effects of Plant Growth Regulators on In vitro Growth and Development of Orchid *Dendrobium* sp. from Protocorm Like Bodies (PLBs). *J Bangladesh Agric Univ.* 19(3):294.
- Hsieh CH, Liang ZC, Shieh WJ, Chang SL, Ho WJ. 2022. Effects of Nutrients and Growth Regulators on Seed Germination and Development of Juvenile Rhizome Proliferation of *Gastrodia elata* In Vitro. *Agric.* 12(8).
- Jualang AG, Devina D, Hartinie M, Sharon JS, Roslina J. 2014. Asymbiotic seed germination and seedling development of *Vanda dearei*. *Malaysian Appl Biol.* 43(2):25–34.

- Kang JY, Choi HI, Im MY, Soo YK. 2002. Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell*. 14(2):343–357.
- Kumar Bhowmik T, Rahman MM, Tapash C, Bhowmik K, Bhowmik TK. 2017. Effect of different basal media and PGRs on in vitro seed germination and seedling development of medicinally important orchid *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. ~ 167 ~ *J Pharmacogn Phytochem*. 6(1):167–172.
- Maharjan S, Pradhan S, Thapa BB, Pant B. 2019. &In Vitro& Propagation of Endangered Orchid, &Vanda pumila& Hook.f. through Protocorms Culture. *Am J Plant Sci*. 10(07):1220–1232.
- Mala B, Kuegkong K, Sa-ngiaemsri N, Nontachaiyapoom S. 2017. Effect of germination media on in vitro symbiotic seed germination of three *Dendrobium* orchids. *South African J Bot*. 112:521–526.
- Maulida D, Pradana OCP, Erfa L. 2021. Pollination Compatibility of *Dendrobium Polinela* Lampung, and the Effect of Media Composition with Coconut Water on Seed Germination n Vitro. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 1012(1).
- Mayo-Mosqueda A, Maceda-López LF, Andrade-Canto SB, Noguera-Savelli E, Caamal-Velázquez H, Cano-Sosa J del S, Alatorre-Cobos F. 2020. Efficient protocol for in vitro propagation of *Laelia rubescens* Lindl. from asymbiotic seed germination. *South African J Bot*. 133:264–272.
- Mehrnaz Abbaszadeh S, Mehdi Miri S, Naderi R. 2018. An Effective Nutrient Medium for Asymbiotic Seed Germination and In Vitro Seedling Development of *Phalaenopsis* “Bahia Blanca.” *J Ornament Plants*. 8(3):183–192.
- Mercado SAS, Delgado EAB. 2020. Effect of the medium composition on the asymbiotic germination and in vitro development of the *Laeliocattleya* hybrid. *South African J Bot*. 135:80–86.
- Mukminin LH, Al Asna PM, Setiowati FK. 2016. PENGARUH PEMBERIAN GIBERELIN DAN AIR KELAPA TERHADAP PERKECAMBAHAN BIJI ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis* sp.). *Bioeksperimen J Penelit Biol*. 2(2):90.
- Nand L, Madhulika S. 2020. Prospects of Plant Tissue Culture in Orchid Propagation: A Review. *Indian J Biol*. 7(2):103–110.
- Nugroho JD, Arobaya AYS, Tanur EA. 2019. Propagation of *dendrobium antennatum* lindl via seed culture in vitro using simple medium: Fertilizer and complex organic based medium. *HAYATI J Biosci*. 26(3):133–138.
- Pakum W, Watthana S, Srimuang KO, Kongbangkerd A. 2016. Influence of medium component on in vitro propagation of thai’s endangered orchid: *Bulbophyllum nipondhii* seidenf. *Plant Tissue Cult Biotechnol*. 26(1):37–46.
- Pakum W, Watthana S, Srimuang KO, Kongbangkerd A. 2016. Influence of medium component on in vitro propagation of thai’s endangered orchid: *Bulbophyllum nipondhii* seidenf. *Plant Tissue Cult Biotechnol*. 26(1):37–46.
- Pyati AN. 2022. In vitro propagation of some important medicinal and ornamental *Dendrobiums* (Orchidaceae): A review. *J Appl Hortic*. 24(02):245–253.
- Quiroz K, Saavedra J, Vogel H, Verdugo G, Caligari PDS, García-González R. 2017. In vitro asymbiotic germination for micropropagation of the recalcitrant terrestrial orchid *Chloraea crispa* (Orchidaceae) . *Appl Plant Sci*. 5(8).
- Restanto DP, Kriswanto B, Iqmatullah N, Dewanti P. 2021. Pengaruh Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin terhadap Perkembangan Protocorm-Like Body (PLB) dan Regenerasi Anggrek *Phalaenopsis* sp. Hybrid. *Agrikultura*. 32(2):93.
- Restanto DP, Kriswanto B, Khozim MN, Soeparjono S. 2018. KAJIAN THIDIAZURON (TDZ) DALAM INDUKSI PLB ANGGREK *Phalaenopsis* sp SECARA IN VITRO. *Agritrop J Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal Agric Sci*. 16(1):176.

- Sarmah D, Kolukunde S, Sutradhar M, Singh BK, Mandal T, Mandal N. 2017. A Review on: In Vitro Cloning of Orchids. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 6(8):1909–1927.
- Sukma D, Aziz SA, Andini N, Putri HA, Sudarsono S. 2019. Medium composition, coconut water, and chitosan effects on Phalaenopsis protocorm growth and development. *Acta Hortic.* 1262:133–140.
- UDDAIN J, GNASEKARAN P, ZAKARIA L, LYNN CB, SUBRAMANIAM S. 2016. THE EFFECT OF DIFFERENT GROWTH MEDIA, CARBON SOURCE AND PGRs ON DENDROBIUM BROGA GIANT ORCHID'S PROTOCORM-LIKE BODIES (PLBs) PROLIFERATION SUPPORTED WITH SEM AND TEM ANALYSIS. *Pakistan J Bot.* 47(2):587–593.
- Utami ESW, Hariyanto S. 2020. Organic Compounds: Contents and Their Role in Improving Seed Germination and Protocorm Development in Orchids. *Int J Agron.* 2020.
- Wirmasari R, Novaliza Isda M. 2019. Respons Pertumbuhan Protokorm Anggrek Grammatophyllum stapeliiflorum (Teijsm. & Binn.) J.J.Sm. Secara In Vitro pada Beberapa Komposisi Media. *Teijsm Binn) JJSm Orchid Growth Sev Media Compos.* 7(2):2303–2162.
- Xu JJ, Beleski DG, Vendrame WA. 2022. Effects of culture methods and plant growth regulators on in vitro propagation of Brassavola nodosa (L.) Lindl. hybrid. *Vitr Cell Dev Biol - Plant.* 58(6):931–941.
- Zahara M, Datta A, Boonkorkaew P, Mishra A. 2017. The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of Phalaenopsis hybrid "pink." *Brazilian Arch Biol Technol.* 60 December:1–15.