

Pengaruh Komposisi Media dalam Perbanyakan *Protocorm Like Bodies*, Pertumbuhan Planlet, dan Aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*

Media Composition Effect on PLBs multiplication, Plantlets Growth, and Acclimatization of Phalaenopsis amabilis

Erick Raynalta¹ dan Dewi Sukma^{2*}

Diterima 4 September 2013/Disetujui 6 November 2013

ABSTRACT

Phalaenopsis amabilis orchid is one of the most popular species of orchids and was inaugurated as one of the national flower 'Puspa Pesona'. The purpose of this study was to determine the effects of various tissue culture media composition on *Protocorm Like Bodies* (PLBs) multiplication, growth of plantlets, and acclimatization of *Phalaenopsis amabilis*. Basic medium used was a half strength of Murashige and Skoog (1/2MS) and Hyponex with additional coconut water, benzyladeninepurine, and chitosan. In PLBs multiplication experiments, 1/2 MS + 15% coconut water medium produces the highest percentage of survival rate. 1/2 MS + 15% coconut water medium and Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% coconut water + 2.5 ppm chitosan medium gave the best effect on the fresh weight of plantlets. The composition of the culture medium significantly affect the fresh weight and length of root on 8 WAP (week after planting) in the acclimatization stage.

Key words: benzyladeninepurine, chitosan, coconut water, Hyponex, tissue culture

ABSTRAK

Phalaenopsis amabilis yang dikenal dengan nama anggrek bulan merupakan salah satu jenis anggrek yang paling populer dan dinobatkan sebagai salah satu bunga nasional dengan sebutan 'Puspa Pesona'. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh berbagai komposisi media kultur jaringan dalam perbanyakan *Protocorm Like Bodies* (PLBs), pertumbuhan planlet, dan aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*. Media dasar yang digunakan adalah setengah konsentrasi media Murashige dan Skoog (1/2MS) dan Hyponex dengan tambahan air kelapa, benziladeninpurin (BAP), dan kitosan. Pada percobaan perbanyakan PLBs, media 1/2 MS + 15% air kelapa menghasilkan persentase hidup tertinggi. Media 1/2 MS + 15% air kelapa dan Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% AK + 2.5 ppm kitosan memberikan respon terbaik terhadap bobot planlet. Komposisi media kultur berpengaruh nyata terhadap bobot segar dan panjang akar pada 8-MST (minggu setelah tanam) dalam tahap aklimatisasi.

Kata kunci: benzylaminopurin, kitosan, air kelapa, Hyponex, kultur jaringan.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman anggrek dan tersebar dalam rimba belantara (Sarwono, 2002). Salah satu jenis anggrek yang diminati oleh

masyarakat adalah *P. amabilis* atau dikenal dengan nama anggrek bulan (Bey *et al.*, 2006). *Phalaenopsis amabilis* memiliki ukuran bunga cukup besar, mekar serentak, serta daya tahan bunga yang cukup lama sehingga bunga ini sering dijadikan induk silangan (Djaafarer, 2002). Menurut Tang

¹ Alumni Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor

² Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor,

*Email korespondensi: dsukma70@yahoo.com

dan Chen (2007) bunga putih besar standar merupakan kelompok *Phalaenopsis* yang paling populer di pasaran, yang kontribusi genetik terbesarnya diberikan oleh *Phalaenopsis amabilis*.

Penyediaan bibit merupakan faktor penting dalam agribisnis anggrek. *Phalaenopsis amabilis* dapat diperbanyak dengan biji yang dikecambahkan hingga membentuk protokorm dan *Protocorm Like Bodies* (PLBs) dalam kultur *in vitro* dan selanjutnya berkembang menjadi planlet. Untuk menunjang ketersediaan bibit, teknik *in vitro* merupakan cara yang tepat dibandingkan cara perbanyakan lainnya (Iswanto, 2002).

Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan. Kebutuhan hara sel dan jaringan tersebut disediakan oleh media kultur jaringan. Untuk menghasilkan bibit dengan pertumbuhan yang optimum maka dibutuhkan komposisi media kultur yang tepat (Gamborg, 1991).

Penelitian mengenai pengaruh bahan organik serta sitokinin pada media kultur jaringan khususnya anggrek sudah banyak dilakukan. Hasil penelitian Bey *et al.* (2006) menunjukkan bahwa perlakuan tunggal air kelapa pada konsentrasi 250 ml L⁻¹ menghasilkan rerata tinggi kecambah *Phalaenopsis amabilis* yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan 150 ml L⁻¹ dan 200 ml L⁻¹ air kelapa. Hasil penelitian Sopalan *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa pada media padat ½ MS, pertumbuhan relatif *Grammaphyllum speciosum* tertinggi dicapai pada penambahan kitosan sebesar 25 mg L⁻¹. Romeida *et al.* (2013) menyimpulkan pertumbuhan dan multiplikasi PLBs anggrek *Spathoglottis plicata* terbaik dihasilkan pada media MS dengan modifikasi vitamin 85 dan konsentrasi gula 30 g L⁻¹ dan pada media MS dengan penambahan air kelapa 75 ml L⁻¹ atau dengan penambahan 84% µM pada media MS.

Media yang mengandung thidiazuron (TDZ) efektif dalam induksi langsung embriogenesis pada *Phalaenopsis amabilis* var. *formosa* Shimadzu (Chen dan Chang, 2004). Hasil penelitian Latip *et al.* (2010) pada *Phalaenopsis gigantea* menunjukkan bahwa persentasi PLBs yang terbentuk dengan penambahan benziladenin (BAP) secara tunggal lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan TDZ pada konsentrasi yang sama.

Penelitian mengenai komposisi media kultur jaringan ini diharapkan dapat menghasilkan

komposisi media yang cocok untuk perbanyakan PLBs pertumbuhan planlet, dan aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai komposisi media kultur jaringan dalam perbanyakan PLBs, pertumbuhan planlet, dan aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor pada bulan April sampai dengan bulan Oktober 2012. Bahan yang digunakan adalah planlet dan PLBs *Phalaenopsis amabilis in vitro* asal Kalimantan yang sudah dikulturkan sekitar 1.5 tahun sejak perkecambahan benih dalam media ½ MS dan disubkultur setiap 3-4 bulan sekali. Selain itu digunakan larutan stok media Murashige & Skoog, pupuk daun Hyponex 20:20:20, kitosan 1000 ppm, BAP, air kelapa, gula, Polivinylpyrrolidone (PVP). Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat standar dalam laboratorium kultur jaringan dan alat-alat bantu untuk pengamatan.

Penelitian ini terdiri atas dua percobaan, yakni percobaan 1 (Pengaruh Komposisi Media dalam Perbanyakan PLBs) dan percobaan 2 (Pengaruh Komposisi Media dalam Pertumbuhan Planlet). Rancangan yang digunakan pada masing-masing percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor perlakuan yaitu komposisi media. Percobaan pertama terdiri dari 12 komposisi media perlakuan dengan 3 ulangan pada setiap perlakuan, sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan pada percobaan pertama merupakan satu botol media perlakuan yang diisi dengan tiga massa (*clump*) PLBs, sehingga terdapat 108 sampel pengamatan. Percobaan kedua juga terdiri atas 12 komposisi media perlakuan dengan 3 ulangan setiap perlakuannya, sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan pada percobaan kedua merupakan satu botol media perlakuan yang diisi dengan tiga planlet sehingga terdapat total 108 unit pengamatan.

Komposisi media yang diuji pada percobaan 1 adalah ½ MS, ½ MS + 15% air kelapa, ½ MS + 1.5 ppm BAP, ½ MS + 3 ppm BAP, ½ MS + 15% air kelapa + 1.5 ppm BAP, ½ MS + 15% air kelapa + 3 ppm BAP, Hyponex 2 g L⁻¹, Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa, Hyponex 2 g L⁻¹ + 1.5 ppm BAP, Hyponex 2 g

L^{-1} + 3 ppm BAP, Hyponex 2 g L^{-1} + 15% air kelapa + 1.5 ppm BAP, dan Hyponex 2 g L^{-1} + 15% air kelapa + 3 ppm BAP. Komposisi media yang diuji pada percobaan 2 adalah $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS + 15% air kelapa, $\frac{1}{2}$ MS + 2.5 ppm kitosan, $\frac{1}{2}$ MS + 5 ppm kitosan, $\frac{1}{2}$ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan, $\frac{1}{2}$ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan, Hyponex 2 g L^{-1} , Hyponex 2 g L^{-1} + 15% air kelapa, Hyponex 2 g L^{-1} + 2.5 ppm kitosan, Hyponex 2 g L^{-1} + 5 ppm kitosan, Hyponex 2 g L^{-1} + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan, dan Hyponex 2 g L^{-1} + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan. Setiap media perlakuan di ditambahkan gula sebanyak 30 g L^{-1} , agar-agar sebanyak 7 g L^{-1} , dan PVP sebanyak 0.5 g L^{-1} .

Pengamatan yang dilakukan pada percobaan 1 dan 2 meliputi persentase PLBs atau planlet yang hidup pada dua periode kultur (sub kultur *sub kultur*) di media perlakuan, dengan satu *sub kultur* adalah selama 8 minggu. bobot PLBs atau planlet, jumlah daun dan akar yang terbentuk, dan panjang akar terpanjang. Pengolahan data dilakukan dengan uji F menggunakan SAS (*Statistical Analysis System*). Jika hasil uji F menunjukkan pengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan 1. Pengaruh Komposisi Media dalam Perbanyakkan *Protocorm Like Bodies*

Persentase kontaminasi dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8 (*sub kultur* 1) pada percobaan ini sebesar 58.75%. Kontaminasi pada *sub kultur* 1 tergolong tinggi. Persentase kontaminasi pada *sub kultur* 2 sebesar 21.05%. Kontaminasi disebabkan oleh cendawan atau bakteri yang tumbuh pada permukaan media. Kontaminasi dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti kekuranghati-hatian dalam penanaman, lingkungan kultur yang kurang steril atau botol media yang kurang steril. Yusnita (2010), menyatakan bahwa pencucian botol yang kurang sempurna menyebabkan kontaminasi bakteri atau cendawan pada dinding botol yang biasanya terjadi beberapa minggu atau bulan setelah media disterilkan.

Sebagian besar PLBs yang ditanam pada *sub kultur* 1 dalam seluruh media perlakuan yang terbebas dari kontaminasi menunjukkan

kemampuannya untuk beregenerasi. Kemampuan regenerasi tersebut ditunjukkan dengan bertambahnya ukuran dari *clump* PLBs yang ditanam. Pada minggu ke-6 *sub kultur* 1, beberapa PLBs mulai mengalami gejala pencoklatan. Gejala pencoklatan tersebut diduga terjadi karena akumulasi senyawa fenol yang teroksidasi akibat adanya perlukaan yang ditimbulkan saat pemisahan *clump* PLBs sebelum dimasukkan kedalam media perlakuan. Menurut Ling *et al.* (2007) PLBs *Phalaenopsis* sangat sensitif terhadap pelukaan yang mengarah pada terjadinya oksidasi fenol dan pencoklatan jaringan.

Persentase PLBs yang hidup pada *sub kultur* 1 tertinggi diperoleh pada perlakuan komposisi media $\frac{1}{2}$ MS+15% air kelapa dan Hyponex 2 g L^{-1} + 1.5 ppm BAP yakni 100%. Pada *sub kultur* 2, persentase PLBs hidup tertinggi diperoleh pada komposisi media perlakuan $\frac{1}{2}$ MS+15% air kelapa sebesar 85.7%. Komposisi media yang menggunakan BAP pada Tabel 1 menunjukkan persentase PLBs hidup yang lebih baik dibandingkan media $\frac{1}{2}$ MS atau Hyponex 2 g L^{-1} . BAP diduga mendorong keberhasilan hidup PLBs. Hasil penelitian Latip *et al.* (2010) menunjukkan bahwa BAP pada konsentrasi 1.5, 3, dan 3.5 ppm menghasilkan persentase PLBs *Phalaenopsis gigantea* mati terendah dibandingkan dengan perlakuan sitokinin lainnya. Penelitian Neliyati (1996) menunjukkan bahwa penambahan BAP sebanyak 3 ppm pada media kultur selama 16 MST, dapat meningkatkan persentase PLBs *Phalaenopsis* Hibrida yang tumbuh sebesar 59%, tetapi jika konsentrasi BAP dinaikkan menjadi 6 ppm, persentase PLBs yang tumbuh turun menjadi 51%. Air kelapa juga berpengaruh positif terhadap peningkatan jumlah PLBs yang terbentuk, dengan penambahan air kelapa sebanyak 15%, jumlah PLBs yang tumbuh menjadi 51.6%.

Jumlah daun yang tumbuh dapat menggambarkan jumlah PLBs yang mulai tumbuh menjadi planlet. Menurut Yusnita (2010), protokorm memiliki titik tumbuh tunas pada bagian atas yang makin lama menunjukkan primordial daun pada pucuknya. Pada Tabel 2 tersaji data rata-rata jumlah daun dan akar yang muncul pada *sub kultur* 1 dan 2. Jumlah daun dan akar yang muncul pada *sub kultur* 1 dan 2 pada komposisi media yang diuji tidak berbeda nyata.

Jumlah akar planlet tidak berbeda nyata pada semua komposisi media yang diuji,

meskipun terlihat kecenderungan pada media yang mengandung BAP dengan konsentrasi tinggi ditambah dengan air kelapa cenderung menekan jumlah akar. Hasil penelitian Parera (1997) menunjukkan bahwa pemberian air kelapa pada kultur *Dendrobium spp.* memberikan pengaruh yang negatif terhadap pertumbuhan akar. Pengaruh sitokinin didalam kultur *in vitro* menurut Widiastoeti dan Tjokrokusumo (2001) salah satunya berhubungan dengan penghambatan pertumbuhan akar tanaman. Dari hasil penelitian ini, tidak terlihat perbedaan adanya efek yang ditimbulkan oleh air kelapa dan BAP terhadap jumlah akar yang terbentuk.

Menurut Sathyanarayana (2007) pengukuran bobot segar merupakan metode yang cepat dan mudah untuk menilai pertumbuhan kalus dan tidak menyebabkan kerusakan pada materi yang ditimbang. Hasil uji F untuk peubah pertambahan bobot pada *sub kultur* 1 dan 2 menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata dari komposisi media terhadap peubah tersebut (Tabel 3). Sementara itu penelitian Young *et al.* (2000) menunjukkan bahwa media Hyponex lebih cocok dibanding media ½ MS dalam regenerasi planlet dari PLBs *Phalaenopsis*. Berkurangnya bobot pada perlakuan Hyponex 2 g L⁻¹ + 3 ppm BAP disebabkan oleh adanya kematian sebagian PLBs yang menyebabkan bobot segar menjadi berkurang.

Percobaan 2. Pengaruh Komposisi Media dalam Pertumbuhan Planlet

Persentase kontaminasi yang terjadi pada *sub kultur* 1 sebesar 18.52%. Persentase kontaminasi

pada *sub kultur* 2 adalah sebesar 24.45%. Seluruh planlet yang ditanam dalam media perlakuan tidak ada yang mengalami kematian. Dapat diartikan bahwa seluruh media sesuai dalam mempertahankan jumlah planlet hidup. Pada *sub kultur* 1 dan 2, komposisi media tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun dan akar (Tabel 4). Walaupun tidak menunjukkan pengaruh nyata, seluruh komposisi media berpengaruh positif terhadap pertumbuhan daun dan akar planlet.

Tabel 1. Persentase *Clump* PLBs *Phalaenopsis amabilis* yang hidup pada *sub kultur* 1 dan 2.

Komposisi media perlakuan	% PLBs yang Hidup	
	<i>Sub kultur</i> 1	<i>Sub kultur</i> 2
½ MS	66.7	33.3
½ MS+15% air kelapa	100.0	85.7
½ MS+1.5 ppm BAP	80.0	60.0
½ MS+3 ppm BAP	75.0	77.8
½ MS+15% air kelapa +1.5 ppm BAP	83.3	50.0
½ MS+15% air kelapa +3 ppm BAP	87.5	66.7
Hyponex. 2 g L ⁻¹	70.0	33.3
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa	87.5	42.9
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +1.5 ppm BAP	100.0	37.5
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +3 ppm BAP	80.0	44.4
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa +1.5 ppm BAP	75.0	50.0
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa + 3 ppm BAP	66.7	40.0

Tabel 2. Rata- rata jumlah daun dan akar *clump* PLBs pada *sub kultur* 1 dan 2

Perlakuan	Jumlah daun		Jumlah akar	
	<i>Sub kultur</i> 1	<i>Sub kultur</i> 2	<i>Sub kultur</i> 1	<i>Sub kultur</i> 2
½ MS	1.6	-	1.0	-
½ MS+15% air kelapa	11.3	20.0	4.6	10.0
½ MS+1.5 ppm BAP	7.3	12.0	1.3	7.0
½ MS+3 ppm BAP	7.6	22.0	4.3	7.6
½ MS+15% air kelapa +1.5 ppm BAP	2.3	10.0	0.6	5.3
½ MS+15% air kelapa +3 ppm BAP	10.0	28.6	3.3	13.0
Hyponex. 2 g L ⁻¹	7.3	11.3	3.3	10.3
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa	4.0	19.0	2.0	14.0
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +1.5 ppm BAP	13.0	15.6	8.3	12.3
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +3 ppm BAP	2.3	11.0	2.3	3.6
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa +1.5 ppm BAP	1.0	4.6	0.0	3.0
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa + 3 ppm BAP	0.6	-	0.0	-
Uji F	tn	tn	tn	tn
KK %	26.8 ^{T4}	27.27 ^{T3}	25.92 ^{T3}	27.40 ^{T3}

Keterangan: tn= Tidak berbeda nyata pada taraf 5%, (*)= Berbeda nyata pada taraf 5%, ^(T3)= Hasil transformasi $\sqrt{x + 3}$, ^(T4)= Hasil transformasi $\sqrt{x + 4}$, KK= Koefisien keragaman, (-)= tidak dilakukan pengolahan data karena data kurang

Tabel 3. Rata- rata pertambahan bobot *clump* PLBs *Phalaenopsis amabilis* pada *sub kultur* 1 dan 2

Perlakuan	Pertambahan bobot (g)	
	<i>Sub kultur</i>	
	1	2
½ MS	0.30	-
½ MS+15% air kelapa	1.48	1.10
½ MS+1.5 ppm BAP	0.40	0.46
½ MS+3 ppm BAP	0.34	0.88
½ MS+15% air kelapa +1.5 ppm BAP	0.58	0.23
½ MS+15% air kelapa +3 ppm BAP	0.99	1.69
Hyponex. 2 g L ⁻¹	0.69	1.22
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa	0.57	1.74
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +1.5 ppm BAP	1.83	1.08
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +3 ppm BAP	0.74	-0.04
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa +1.5 ppm BAP	0.66	0.42
Hyponex. 2 g L ⁻¹ +15% air kelapa + 3 ppm BAP	0.44	-
Uji F	tn	tn
KK(%)	14.60262 ^{T1}	27.18

Keterangan: tn= Tidak berbeda nyata pada taraf 5%, ^{T1}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 1}$, KK= Koefisien keragaman, (-)= tidak dilakukan pengolahan data karena data kurang

Tabel 4. Rata- rata jumlah daun dan akar planlet pada *sub kultur* 1 dan 2

Perlakuan	Jumlah Daun		Jumlah akar	
	<i>Sub kultur</i>		<i>Sub kultur</i>	
	1	2	1	2
½ MS	7.0	-	5.6	-
½ MS + 15% air kelapa	17.0	11.6	13.0	12.6
½ MS + 2.5 ppm kitosan	14.0	8.3	9.3	8.3
½ MS + 5 ppm kitosan	9.3	-	7.0	-
½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	12.3	-	12.6	-
½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	8.0	19.3	6.6	13.3
Hyponex 2 g L ⁻¹	8.0	-	10.6	-
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa	7.3	10.0	9.3	9.0
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 2.5 ppm kitosan	12.0	13.3	14.0	12.6
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 5 ppm kitosan	8.3	-	11.6	-
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	15.0	15.0	16.3	13.6
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	12.6	11.0	12.6	9.6
Uji F	tn	tn	tn	tn
KK %	29.95 ^{T3}	18.76 ^{T1}	29.47 ^{T1}	17.60 ^{T1}

Keterangan: tn= Tidak berbeda nyata pada taraf 5%, ^{T1}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 1}$, ^{T3}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 3}$, KK= Koefisien keragaman, (-)= tidak dilakukan pengolahan data karena data kurang

Seluruh media perlakuan memberikan pengaruh positif terhadap pertambahan bobot planlet. Pada *sub kultur* 1, komposisi media berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan bobot planlet. Pada Tabel 5 terlihat bahwa media ½ MS + 15% air kelapa menghasilkan bobot segar paling tinggi dengan rata-rata bobot 1.61 g. Pada Tabel 5, terlihat bahwa hasil yang ditunjukkan oleh komposisi media ½ MS + 15% air kelapa tidak berbeda nyata dengan perlakuan Hyponex 2 g L⁻¹+ 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan. Dengan hasil tersebut, dapat diartikan bahwa media Hyponex dengan penambahan 15% air kelapa dan 2.5 ppm kitosan dapat

dijadikan alternatif pengganti media ½ MS dengan penambahan air kelapa dalam pembesaran planlet *Phalaenopsis amabilis*.

Pada *sub kultur* 2, komposisi media tidak berpengaruh nyata terhadap bobot segar planlet. Walaupun demikian, seluruh komposisi media memberikan pengaruh positif terhadap pertambahan bobot segar planlet. Sopalun *et al.* (2010), melaporkan bahwa penambahan kitosan memberikan pengaruh terhadap pertambahan bobot segar hingga batas pemberian 15 ppm pada kultur *Gammatophyllum speciosum* dalam media ½ MS padat. Prasertsongsun dan Chaipakdee (2011) menyatakan bahwa pemberian

kitosan sebanyak 15 ppm memberikan pengaruh terbaik terhadap pertambahan bobot segar PLBs *Phalaenopsis cornucervi* setelah 4 MST berada dalam media perlakuan.

Hasil percobaan pada *sub kultur* 1 menunjukkan bahwa pada media ½MS dan Hyponex dengan penambahan kitosan sebesar 5 ppm menunjukkan hasil yang lebih baik daripada penambahan kitosan sebanyak 2.5 ppm. Hal tersebut menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian Sopalun *et al.* (2010). Penambahan kitosan pada media yang mengandung air kelapa ternyata memberikan hasil yang berlawanan dengan media tanpa air kelapa. Pada media dengan penambahan air kelapa, pemberian kitosan 2.5 ppm menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian kitosan 5 ppm baik pada media ½ MS maupun Hyponex.

Aklimatisasi dilakukan pada percobaan 2, yaitu pada planlet yang telah ditumbuhkan di dalam media perlakuan *sub kultur* 1 dan 2. Terlihat pada Tabel 6, persentase planlet yang hidup dari hasil percobaan 2 *sub kultur* 2 lebih baik dibanding planlet pada *sub kultur* 1. Hal tersebut diduga terjadi karena planlet pada *sub kultur* 2 memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan planlet pada *sub kultur* 1.

Hasil aklimatisasi planlet dari *sub kultur* 1 menunjukkan bahwa persentase planlet hidup tertinggi adalah planlet yang berasal dari media ½MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan, sedangkan yang terendah dari media ½ MS + 2.5 ppm kitosan. Hasil aklimatisasi planlet yang dihasilkan dari *sub kultur* 2 menunjukkan bahwa planlet yang berasal dari media ½ MS + 15% air kelapa, ½ MS + 2.5 ppm kitosan, ½ MS + 5 ppm kitosan, ½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan, ½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan, Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa, dan Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan menghasilkan 100% planlet hidup. Hasil pengolahan data pertumbuhan planlet yang diaklimatisasi selama delapan minggu pada *sub kultur* 1 tersaji pada Tabel 7.

Uji F pada pertambahan bobot segar dan panjang akar terpanjang menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5%. Berdasarkan data yang tersaji, pertambahan bobot terbesar diperoleh pada komposisi media Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan dengan bobot rata-rata 0.42 g. Panjang akar terpanjang diperoleh pada media ½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan dengan panjang 4.13 cm. Jumlah daun

dan akar pada aklimatisasi *sub kultur* 1 pada komposisi media yang diuji tidak berbeda nyata.

Tabel 5. Rata-rata pertambahan bobot segar planlet *Phalaenopsis amabilis* pada *sub kultur* 1 dan 2

Perlakuan	Pertambahan Bobot (g)	
	<i>Sub kultur</i> 1	<i>Sub kultur</i> 2
½ MS	0.73c	-
½ MS + 15% air kelapa	1.61a	1.24
½ MS + 2.5 ppm kitosan	0.73c	0.85
½ MS + 5 ppm kitosan	0.86c	-
½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	1.17bac	-
½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	0.76c	1.74
Hyponex 2 g L ⁻¹	0.96bc	-
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa	1.46ba	1.61
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 2.5 ppm kitosan	0.89bc	1.33
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 5 ppm kitosan	1.21bac	-
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	1.59a	2.03
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	1.20bac	1.82
Uji F	**	tn
KK%	28.1	14.84 ^{T0.5}

Keterangan: tn= tidak berbeda nyata pada taraf 5%, (**)= Berbeda nyata pada taraf 1%, KK= Koefisien keragaman, ^(T0.5)= Hasil transformasi $\sqrt{x + 0.5}$, (-) = tidak dilakukan pengolahan data karena data kurang.

Tabel 6. Persentase planlet *Phalaenopsis amabilis* hidup pada usia delapan minggu setelah aklimatisasi pada *Sub kultur* 1 dan 2 percobaan 2

Perlakuan	<i>Sub kultur</i>	
	1	2
	----- % -----	
½ MS	73.3	72.7
½ MS + 15% air kelapa	73.3	100.0
½ MS + 2.5 ppm kitosan	48.1	100.0
½ MS + 5 ppm kitosan	70.0	100.0
½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	84.6	100.0
½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	92.5	100.0
Hyponex 2 g L ⁻¹	57.1	88.2
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa	86.2	100.0
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 2.5 ppm kitosan	75.5	87.5
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 5 ppm kitosan	87.5	55.5
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	78.7	96.0
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	86.6	100.0

Tabel 7. Pengaruh komposisi media terhadap pertambahan bobot, jumlah daun, jumlah akar, dan akar terpanjang usia delapan minggu setelah aklimatisasi pada *sub kultur* 1 percobaan 2

Perlakuan	Rata pertambahan bobot segar (g)	Rata-rata jumlah daun	Rata-rata jumlah akar	akar terpanjang (cm)
½ MS	0.09 d	-1.0	-1.3	2.83 abc
½ MS + 15% air kelapa	0.09 d	1.0	0	1.77 bc
½ MS + 2.5 ppm kitosan	0.12 d	-0.6	-0.3	3.63 a
½ MS + 5 ppm kitosan	0.07 d	-1.6	-0.6	2.60 abc
½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	0.21 bcc	0.3	0.6	2.20 abc
½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	0.33 abc	-1.0	1.0	4.13 a
Hyponex 2 g L ⁻¹	0.11 d	0	0.6	1.33 c
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa	0.16 cd	-0.6	-0.6	3.07 ab
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 2.5 ppm kitosan	0.35 ab	1.0	1.0	3.80 a
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 5 ppm kitosan	0.16 cd	-0.6	-0.6	3.20 ab
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	0.15 d	0.3	0.3	2.77 abc
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	0.42 a	0.3	0.3	3.44 ab
Uji F	*	tn	tn	*
KK%	6.63 ^{T0.5}	21.02 ^{T4}	21.02 ^{T4}	12.73 ^{T1}

Keterangan: tn= tidak berbeda nyata pada taraf 5%, (*)= Berbeda nyata pada taraf 5%, KK= Koefisien Keragaman, ^{T1}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 1}$, ^{T0.5}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 0.5}$, ^{T4}= Hasil transformasi $\sqrt{x + 4}$

Tabel 8. Pengaruh komposisi media terhadap bobot, jumlah daun, jumlah akar, dan akar terpanjang pada delapan minggu setelah aklimatisasi pada *sub kultur* 2 percobaan 2

Perlakuan	Rata-rata pertambahan bobot segar (g)	Rata-rata jumlah daun	Rata-rata jumlah akar	akar terpanjang (cm)
½ MS	0.18	0.8	0.7	4.20
½ MS + 15% air kelapa	1.06	0.7	0.4	6.00
½ MS + 2.5 ppm kitosan	0.19	-0.6	-0.4	5.20
½ MS + 5 ppm kitosan	0.30	-3.3	0.3	3.40
½ MS + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	0.28	0.2	0.4	5.70
½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	0.22	-0.0	0.0	5.30
Hyponex 2 g L ⁻¹	0.03	0.2	-0.6	4.00
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa	0.31	-0.1	0.3	7.50
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 2.5 ppm kitosan	0.31	-0.7	-0.0	6.50
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 5 ppm kitosan	0.09	-0.5	-0.4	2.10
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan	0.07	0.2	0.3	5.50
Hyponex 2 g L ⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan	0.26	0.1	0.11	6.00

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 8, media perlakuan ½ MS + 15% air kelapa menghasilkan rata-rata pertambahan bobot tertinggi, sedangkan Hyponex 2 g L⁻¹ + 5 ppm kitosan menghasilkan rata-rata pertambahan bobot terendah. Rata-rata jumlah daun dan akar tertinggi dicapai oleh media perlakuan ½ MS, sedangkan rata-rata jumlah akar dan daun terendah secara berurutan dicapai oleh media perlakuan Hyponex 2 g L⁻¹ dan ½ MS + 5 ppm kitosan. Panjang akar terpanjang diperoleh pada media Hyponex 2 g L⁻¹ + 2.5 ppm kitosan, sedangkan yang terendah dicapai oleh Hyponex 2 g L⁻¹ + 5 ppm kitosan.

KESIMPULAN

Pada percobaan 1, komposisi media ½ MS + 15% air kelapa merupakan media yang menghasilkan persentase PLBs hidup tertinggi. Pada percobaan 2, seluruh media perlakuan menghasilkan planlet hidup sebesar 100%. Komposisi media yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertambahan bobot planlet adalah ½ MS + 15% air kelapa dan Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa + 2.5 ppm kitosan. Pada aklimatisasi planlet dari percobaan 2, komposisi media ½ MS + 15% air kelapa + 5 ppm dan Hyponex 2 g L⁻¹ + 15% air kelapa + 5 ppm kitosan merupakan media yang baik terhadap keberhasilan aklimatisasi. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan

bahan organik dan ZPT lain dalam proses perbanyakan anggrek agar dihasilkan media yang sesuai terhadap pertumbuhan tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Bey, Y., W. Syafii, Sutrisna. 2006. Pengaruh pemberian giberelin (GA3) dan air kelapa terhadap perkecambahan biji anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL.) secara *in vitro*. J. Biogenesis. 2: 41-46.
- Chen, J.T., W.C. Chang. 2004. Induction of repetitive embryogenesis from seed derived protocorms of *Phalaenopsis amabilis* var. Formosa Shimadzu. In Vitro Cell. Dev. Biol. 40: 290-293.
- Djaafarer, R. 2003. *Phalaenopsis* Spesies: Jenis dan Potensi untuk Silangan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Gamborg, O.L. 1991. Kalus dan kultur sel, hal. 1-13. Dalam L.R. Wetter, F. Constabel (Eds.). Metode Kultur Jaringan Tanaman. Penerbit ITB. Bandung.
- Iswanto, H. 2002. Petunjuk Perawatan Anggrek. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Latip, M.A, R. Murdad, Z.A. Aziz, L.H. Ting, L.M. Govindasamy, R. Ripin. 2010.

- Effects of N⁶ - benzyladenine and thidiazuron on proliferation of *Phalaenopsis gigantea* protocorms. As. Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol. 18(1): 217-220.
- Ling, A.C.K., C.P. Yap, J.M. Shaib, P. Vilasini. 2007. Induction and morphogenesis of *Phalaenopsis* callus. J. Trop. Agric. And Fd. Sc. 35(1): 147-152.
- Neliyati. 1996. Perbanyakkan Secara *In Vitro* Anggrek *Phalaenopsis amabilis* Hibrida Menggunakan Eksplan Ruas, Tangkai Bunga, dan Daun. Tesis. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Parera, F.D. 1997. Pengaruh tingkat konsentrasi air kelapa terhadap pertumbuhan dan perbanyakkan tanaman anggrek *Dendrobium* spp melalui teknik kultur jaringan. GOTI - Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Universitas Pattimura, Vol. 2.
- Prasertsongsun, S., W. Chaipakdee. 2011. Effect of chitosan on growth and development of *Phalaenopsis cornucervi* (Breda) Blume & Rehb.f. KKKU Sci. J. 39(1): 113-119.
- Romeida, A., S.H. Sutjahjo, A. Purwito, D. Sukma, Rustikawati. 2013. Optimasi pertumbuhan dan multiplikasi lini klon PLBs anggrek *Spathoglottis plicata* Blume melalui modifikasi komposisi medium MS dan sitokinin. J. Hort. Indonesia. 4(2): 84-90.
- Sarwono, B. 2002. Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Sathyanarayana, B.N. 2007. Plant Tissue Culture: Practices and New Experimental Protocols. I. K. International Publishing House Pvt. Ltd. New Delhi.
- Sopalun, K., K. Thammasiri, K. Ishikawa. 2010. Effects of chitosan as the growth stimulator for *Grammatophyllum speciosum* in vitro culture. World Academy of Science, Engineering and Technology. 71: 449-451.
- Tang, C.Y., W.H. Chen. 2007. Breeding and development of new varieties in *Phalaenopsis*, p. 1-22. Dalam W.H. Chen, H.H. Chen (Eds.). Orchid Biotechnology. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Singapore.
- Widyastuti, N., D. Tjokrokusumo. 2001. Peranan beberapa zat pengatur tumbuh (ZPT) tanaman pada kultur *in vitro*. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia. 3(5): 55-63.
- Young, P.S., H.N. Murthy, P.K. Yoeup. 2000. Mass multiplication of protocorm like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 63: 67-72.
- Yusnita. 2010. Perbanyakkan *in Vitro* Tanaman Anggrek. Univeritas Lampung. Bandar Lampung.