

Pengaruh Bahan Organik Nabati dan Hewani terhadap Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume

*The Effect of Plant and Animal Organic Compounds on Protocorm Like Bodies
Growth of Phalaenopsis amabilis (L.) Blume*

Yustia Yulianti¹, Syarifah Iis Aisyah², dan Dewi Sukma^{2*}

Diterima 10 Agustus 2016/Disetujui 9 November 2016

ABSTRACT

Phalaenopsis orchid is among the popular ornamental plants in Orchidaceae family. Clonal propagation of this orchid is usually performed through protocorm like bodies (plbs) multiplication in tissue culture medium. The objective of this experiment was to determine the effect of the combination of phyto-organic substances (bananas, potatoes, sweet potatoes extract) and fish emulsion on in vitro growth, multiplication of plbs and plantlet regeneration of Phalaenopsis amabilis. This experiment was arranged in completely randomized design with two factors. The first factor was phyto-organic substances which consisted of bananas, potatoes, and sweet potatoes extract (50 g L⁻¹) and the second one was fish emulsion with four concentration levels (0 ml L⁻¹, 2 ml L⁻¹, 4 ml L⁻¹, and 6 ml L⁻¹). Basic (control) medium used NPK fertilizer (2 g L⁻¹) with addition of MS vitamins, myo-inositol, 1.5% of coconut water, and 2 g L⁻¹ of active charcoal. The results showed that the highest survival rate (>90%) and multiplication (>70%) of plbs was found on control medium with addition of 2 ml L⁻¹ of fish emulsion or banana or potato extract without fish emulsion. The best plantlet morphogenesis as indicated by leaf and root number, was resulted on medium with addition of potato extract without fish emulsion which produced 3.2 leaves and 2.2 roots per plantlets. The best plantlet morphogenesis as indicated by leaf and root number, was resulted on medium with addition of potato extract without fish emulsion which produced 3.2 leaves and 2.2 roots per plantlets. The result of this experiment suggested that basic medium with addition of 2 ml L⁻¹ of fish emulsion, banana or potato extract was appropriate for plbs growth and multiplication while basic medium with addition of potato extract without fish emulsion for plantlet regeneration.

Keywords: bananas, fish emulsion, potatoes, protocorm like bodies (plbs), sweet potatoes

ABSTRAK

Anggrek *Phalaenopsis* merupakan salah satu tanaman hias paling populer dalam famili Orchidaceae. Perbanyak klonal anggrek ini biasanya dilakukan melalui multiplikasi protocorm like bodies (*plbs*) dalam kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi bahan organik nabati (ekstrak pisang, kentang, ubi jalar) dan emulsi ikan terhadap pertumbuhan, multiplikasi *plbs* dan regenerasi planlet *Phalaenopsis amabilis*. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah bahan organik nabati terdiri atas ekstrak pisang, kentang, dan ubi jalar sebanyak 50 g L⁻¹ dan faktor kedua adalah emulsi ikan dengan empat konsentrasi yaitu 0, 2, 4 atau 6 ml L⁻¹. Media dasar (kontrol) menggunakan pupuk NPK (2 g L⁻¹) ditambah dengan vitamin dan myoinositol dari media Murashige dan Skoog (MS), 15% air kelapa dan 2 g L⁻¹ arang aktif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberhasilan hidup tertinggi (>90%) dan multiplikasi *plbs* tertinggi (sekitar 70%) ditemukan pada media kontrol yang ditambahkan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ atau ditambahkan ekstrak pisang atau kentang tanpa penambahan emulsi ikan. Morfogenesis *plbs* menjadi planlet yang terbaik sebagaimana ditunjukkan oleh jumlah daun dan akar

¹Mahasiswa Program Sarjana Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

²Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University)

Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia Telp.& Faks. 62-251-8629353

Email: dsukma70@gmail.com (*penulis korespondensi)

terbanyak dihasilkan pada perlakuan ekstrak kentang tanpa emulsi ikan dengan jumlah daun dan akar yang dihasilkan adalah sebanyak 3.2 helai daun dan 2.2 akar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa media dasar yang ditambah dengan 2 ml L⁻¹ emulsi ikan, ekstrak pisang atau kentang adalah sangat sesuai untuk pertumbuhan dan multiplikasi *plbs* sementara media dasar yang ditambah ekstrak kentang tanpa emulsi ikan terbaik untuk regenerasi planlet.

Kata kunci: emulsi ikan, kentang, pisang, *protocorm like bodies (plbs)*, ubi jalar

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan salah satu jenis tanaman hias yang banyak diminati dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Salah satu anggrek penting di Indonesia adalah genus *Phalaenopsis*. Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan salah satu anggrek kebanggaan nasional. Anggrek *Phalaenopsis amabilis* merupakan salah satu bunga nasional Indonesia dengan sebutan *Puspa Pesona*. Anggrek tersebut memiliki ciri khas bunga berwarna putih bersih dengan lidah kuning keemasan (Rukmana, 2000). Perbanyak anggrek monopodial seperti *Phalaenopsis* secara konvensional dapat dilakukan menggunakan keiki yang muncul dari tangkai bunga. Perbanyak secara konvensional sangat lambat prosesnya, sehingga tidak dapat diandalkan untuk memproduksi bibit secara massal jika dibutuhkan klon anggrek tertentu dalam jumlah besar (Yusnita *et al.*, 2007). Salah satu teknik yang bisa dilakukan adalah dengan teknik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan salah satu metode untuk melakukan perbanyak tanaman pada kondisi yang aseptik. Induksi jumlah *protocorm like bodies (plbs)* dengan menggunakan *protocorm* anggrek hasil silangan yang dikecambahkan merupakan salah satu cara dalam teknik kultur jaringan tanaman yang dilakukan untuk memperbanyak beberapa jenis anggrek *Phalaenopsis* (Nazi, 2014). *Plbs* merupakan pertumbuhan lebih lanjut dari embrio anggrek. Menurut Yusnita *et al.* (2007), *plbs* yang terbentuk mula-mula berukuran kecil (1-2 mm) berbentuk globular dan berwarna hijau muda. Pada tahap perkembangan lebih lanjut, *plbs* akan tumbuh planlet yang lengkap dengan daun dan akar.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel pada kultur *in vitro* diantaranya sumber eksplan, media, hormon, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan lingkungan fisik kultur (Sandra, 2012).

Media kultur yang baik tidak hanya mendukung kehidupan jaringan tapi aktif merangsang pertumbuhan dan proliferasi sel secara *in vitro* sehingga tidak hanya dapat menunjang eksplan tetapi juga meningkatkan pertumbuhannya secara optimal (Semiarti *et al.*, 2010). Jenis media dan kandungan unsur hara yang digunakan sangat berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan tanaman (Niedz dan Evans, 2007). Salah satu komponen yang umumnya ditambahkan dalam media kultur yaitu bahan organik. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya seperti yang dilakukan oleh Agriani (2010) dan Dwiarum (2007), modifikasi media kultur dengan penambahan bahan organik mampu meningkatkan viabilitas anggrek. Berdasarkan penelitian Putri (2015), selain penggunaan media dasar yang sesuai, bahan organik tertentu juga dapat memacu pertumbuhan, perkembangan, dan ketahanan tanaman terhadap penyakit.

Menurut Kasutjiani dan Irawan (2013), penambahan BAP 2 mg L⁻¹, air kelapa 150 ml L⁻¹ dan ekstrak pisang ambon 50 g L⁻¹ memberikan pengaruh sama pada penambahan jumlah tunas, rata-rata 2 tunas anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis*. Selain itu, menurut Sallolo *et al.* (2012), penambahan ekstrak pisang memberikan pengaruh yang nyata hampir terhadap seluruh peubah pengamatan planlet anggrek *Dendrobium Candy Stripe Lasianthera* umur 16 MST yaitu tinggi planlet, luas daun, jumlah akar, panjang akar, jumlah anakan, bobot basah dan bobot kering, kecuali terhadap jumlah daun berpengaruh tidak nyata. Agriani (2010) menyatakan bahwa perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g L⁻¹ memberikan hasil optimal terhadap saat muncul akar, jumlah daun, dan jumlah akar sedangkan perlakuan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ memberikan hasil optimal terhadap saat muncul akar serta perlakuan emulsi ikan 4 ml L⁻¹ memberikan hasil optimal terhadap tinggi plantlet, jumlah daun, dan panjang akar *plbs* anggrek persilangan

Phalaenopsis Pinlong Cinderella \times *Vanda tricolor*. Raynalta dan Sukma (2013) melaporkan bahwa keberhasilan hidup *plbs Phalaenopsis amabilis* paling tinggi diperoleh dalam media dengan media dasar pupuk NPK (20:20:20) yang ditambahkan air kelapa 15%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi bahan organik nabati dan hewani terhadap pertumbuhan dan multiplikasi *plbs* serta regenerasi planlet *Phalaenopsis amabilis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juli 2016, bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *clump plbs* anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang diperoleh dari semaian biji yang sebelumnya sudah dikulturkan selama 8 bulan pada setengah konsentrasi media Murashige dan Skoog (1962) (MS1/2) yang ditambahkan 15% air kelapa.

Rancangan percobaan yang digunakan pada percobaan ini adalah rancangan faktorial dengan dua faktor yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama adalah perlakuan bahan organik tambahan disamping air kelapa 150 ml L⁻¹ yang sudah ada di media dasar yaitu tanpa penambahan bahan organik, penambahan ekstrak pisang ambon, ekstrak kentang dan ekstrak ubi jalar dengan konsentrasi masing-masing 50 g L⁻¹. Faktor kedua adalah emulsi ikan (merk Liquinox) dengan 4 taraf konsentrasi yaitu tanpa emulsi ikan, emulsi ikan 2, 4 atau 6 ml L⁻¹. Kombinasi dua faktor tersebut menghasilkan 16 kombinasi perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 48 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri atas 5 botol dan setiap botol terdiri dari 5 *plbs*, sehingga total terdapat 1200 *plbs* yang digunakan dalam percobaan. Peubah pertumbuhan yang diamati adalah persentase *plbs* yang hidup, persentase kontaminasi, persentase *plbs* bermultiplikasi, jumlah daun, dan jumlah akar planlet. Pengamatan dilakukan dua minggu sekali. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dengan uji sidik ragam pada taraf $\alpha=$

5% menggunakan *software* STAR 2.0.1 dan SAS 9.1.3 portable. Jika hasil uji sidik ragam yang berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

Pembuatan media dasar dilakukan dengan melarutkan 2 g L⁻¹ pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) ditambahkan 30 g L⁻¹ gula pasir, 150 ml L⁻¹ air kelapa, dan 2 g L⁻¹ arang aktif. Ekstrak bahan organik nabati pisang, kentang dan ubi jalar sebelum ditambahkan ke media terlebih dahulu diblender sampai halus dan disaring lalu ditambahkan ke media dasar sesuai perlakuan. Emulsi ikan ditambahkan ke dalam larutan media sesuai perlakuan. Selanjutnya larutan media diletakkan pada *magnetic stirrer* agar larutan homogen dan diukur pH hingga mencapai 5,8, apabila pH lebih kecil dari 5,8 dilakukan penambahan KOH 1 N atau dilakukan penambahan HCl 1 N jika pH diatas 5,8. Larutan dimasukkan ke dalam panci dan ditambahkan agar sebanyak 7 g L⁻¹, lalu diaduk hingga mendidih, lalu dituang ke dalam botol kultur sebanyak 25 ml. Botol kultur ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang serta diberi label. Botol yang telah terisi media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 17,5 psi selama 20 menit. Penanaman dilakukan di dalam laminar yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. *Clump plbs* disubkultur dari media sebelumnya ke media perlakuan. Kultur *plbs* diinkubasi di laboratorium yang diberi cahaya dari lampu *fluorescent* dengan intensitas cahaya 1000-2000 lux. Ruang kultur dilengkapi dengan pendingin ruangan yang suhunya berkisar 24-30 °C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Media dalam kultur *in vitro* merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan dan perkembangan tanaman selain faktor eksplan dan lingkungan tumbuh (Sallolo *et al.*, 2012). Hal tersebut juga didukung laporan Semiarti *et al.* (2010) dimana medium kultur yang baik tidak hanya mendukung kehidupan jaringan tapi aktif merangsang pertumbuhan dan proliferasi secara *in vitro* sehingga tidak hanya dapat menunjang eksplan tetapi juga meningkatkan pertumbuhannya secara optimal. Jenis media

dan kandungan unsur hara yang digunakan sangat berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan tanaman (Niedz dan Evans, 2007).

Perbanyakan anggrek *Phalaenopsis* umumnya dilakukan dengan cara perkecambahan biji secara *in vitro*, dimana benih anggrek yang ditanam pada media membentuk *plbs*, selanjutnya *plbs* akan beregenerasi membentuk planlet atau kemungkinan juga membentuk *plbs* sekunder. Pertumbuhan *plbs* menjadi planlet atau membentuk *plbs* sekunder dipengaruhi oleh genetik dan komposisi media (Andini, 2013). Pada percobaan ini perkembangan *plbs* yang dikulturkan menunjukkan terjadinya multiplikasi pada semua media perlakuan. Multiplikasi terjadi selama 6-10 MST dengan munculnya bulatan-bulatan yang bergerombol di sekitar *plbs* induk. Perkembangan selanjutnya yaitu terbentuknya daun pada saat *plbs* berumur 4 MST dan terbentuk akar pada umur 8 MST.

Berdasarkan hasil rekapitulasi sidik ragam, faktor perlakuan bahan organik nabati memiliki pengaruh yang sangat nyata terhadap semua peubah yang diamati yaitu persentase hidup, persentase kontaminasi, persentase *plbs* bermultiplikasi, jumlah daun, dan jumlah akar planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis*. Sementara itu, perlakuan bahan organik hewani juga memiliki pengaruh yang nyata hampir terhadap semua peubah kecuali persentase *plbs* bermultiplikasi dan jumlah akar pada saat 8 MST. Interaksi kedua faktor perlakuan juga berpengaruh sangat nyata hampir pada semua peubah yang diamati meliputi persentase *plbs* hidup, persentase *plbs* bermultiplikasi, jumlah daun dan jumlah akar.

Persentase Hidup

Kategori *plbs* yang hidup teramati dari *plbs* yang masih berwarna hijau. Persentase hidup *plbs* *Phalaenopsis amabilis* seperti terlihat pada Tabel 1. Persentase hidup *plbs* pada beberapa perlakuan mengalami penurunan pada setiap MST. Persentase *plbs* hidup pada 4 MST hampir mencapai 100% pada semua kombinasi perlakuan, kecuali pada media perlakuan bahan organik ubi jalar. Pada 8 MST, persentase hidup *plbs* paling tinggi adalah pada media kontrol, berbeda nyata persentase hidup *plbs* pada media dengan bahan organik ubi jalar. Penambahan emulsi ikan pada media kontrol dan media dengan

penambahan bahan organik ekstrak kentang, tidak meningkatkan secara nyata persentase hidup *plbs*, sebaliknya pada media dengan bahan organik ekstrak pisang, persentase hidup *plbs* menurun secara nyata pada penambahan emulsi ikan 4 dan 6 ml L⁻¹, dan pada media dengan penambahan ekstrak ubi jalar, persentase hidup *plbs* menurun pada penambahan emulsi ikan 2, 4 dan 6 ml L⁻¹. Hal tersebut menunjukkan bahwa persentase hidup *plbs* pada perlakuan bahan organik ekstrak pisang dan ubi jalar cenderung menurun jika konsentrasi emulsi ikan ditingkatkan. Pola tersebut terlihat konsisten pada 12 dan 16 MST. Persentase hidup *plbs* paling tinggi pada 18 MST yaitu hampir mencapai 100% diperoleh pada kontrol dengan penambahan emulsi ikan 2, 4 ataupun 6 ml L⁻¹ dan media perlakuan ekstrak kentang tanpa emulsi ikan maupun dikombinasikan dengan emulsi 2 dan 4 ml L⁻¹. Pemilihan media yang sesuai untuk mendapatkan persentase hidup *plbs* yang paling tinggi juga perlu mempertimbangkan biaya dan kepraktisan dalam penyediaan media, sehingga dalam percobaan ini media paling sederhana dan mudah dibuat adalah media dengan penambahan ekstrak kentang tanpa emulsi ikan atau media kontrol dengan penambahan emulsi ikan 2 ml L⁻¹.

Kematian pada *plbs* terjadi karena adanya pelukaan pada *plbs* yang terjadi pada saat pemisahan *plbs* ke media perlakuan (subkultur). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Murdad *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa *plbs* yang baru disubkultur ke media baru akan mengalami pelukaan yang disebabkan oleh proses pemisahan yang memiliki peran penting dalam pembentukan *plbs* sekunder melalui proliferasi. Pelukaan tersebut dapat mendorong multiplikasi jumlah yang lebih tinggi dari jumlah *plbs* awal, tetapi juga menyebabkan kematian pada beberapa *plbs* yang terluka. Gejala kematian *plbs* ditunjukkan oleh adanya pencoklatan (*browning*). *Browning* disebabkan adanya pelukaan ketika pemisahan *plbs* sehingga menghasilkan fenol, lalu terjadi proses oksidasi fenol membentuk larutan berwarna coklat yang disebut *quinon* yang bersifat toksik, yang terakumulasi dalam media di sekitar *plbs* sehingga meracuni *plbs* (Syammiah, 2006). Menurut Syabana *et al.* (2015), akumulasi senyawa fenolik yang terkandung dalam tanaman kemudian teroksidasi akibat stres mekanik atau pelukaan

pada eksplan. Senyawa fenol dihasilkan dari aktivitas enzim polifenol oksidase dan tirosinase. Dalam kondisi oksidatif akibat pelukaan, enzim tersebut secara alami disintesis oleh eksplan untuk mendorong sintesis fenol sebagai bentuk pertahanan diri, namun jika senyawa fenol berlebihan akan bersifat racun dan dapat merusak jaringan eksplan dan akhirnya menyebabkan kematian pada eksplan.

Menurut Murdad *et al.* (2006), respon awal pemisahan *plbs* adalah produksi eksudat fenolik dan *browning* pada medium di sekitar eksplan selama dua minggu pertama. Pengaruh negatif senyawa fenolik dapat dikurangi dengan penambahan arang aktif pada media, sehingga tidak menghambat pembengkakan bagian basal dari *plbs* untuk inisiasi *plbs* baru. Arang aktif secara signifikan juga dapat meningkatkan persen planlet hidup seperti yang dilaporkan Oktafiani *et al.* (2012), dimana persentase planlet hidup *Phalaenopsis bellina* pertumbuhan planlet terbaik diperoleh pada media Knudson PA 70% yang ditambahkan arang aktif. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan arang aktif pada media menyebabkan planlet *Phalaenopsis bellina*

dapat berkembang baik sedangkan planlet pada media yang tidak diberi tambahan arang aktif menunjukkan gejala fenolik, kematian jaringan sedikit demi sedikit dan akhirnya mati.

Persentase Kontaminasi

Salah satu kendala yang terjadi dalam kultur *in vitro* adalah adanya kontaminasi. Dalam penelitian ini, rata-rata persentase kontaminasi yang terjadi dari 4 MST hingga 16 MST berkisar antara 27-47%. Pada saat 4 MST tercatat kontaminasi sebesar 27% pada media perlakuan 50 g L⁻¹ ekstrak ubi jalar yang dikombinasikan dengan 4 ml L⁻¹ emulsi ikan dan 40% pada media perlakuan 50 g L⁻¹ ubi jalar yang dikombinasikan dengan 6 ml L⁻¹ emulsi ikan. Kontaminasi pada saat bulan pertama termasuk tinggi. Kontaminasi yang terjadi disebabkan oleh bakteri dan cendawan. Adanya kontaminasi tersebut terjadi karena beberapa hal seperti kondisi ruang kultur yang kurang steril, kesalahan prosedur yang dilakukan pada saat penanaman, dan proses pencucian alat kultur dan botol kultur yang mungkin kurang bersih.

Tabel 1. Rata-rata persentase hidup *plbs* anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada perlakuan bahan organik nabati dan hewani.

Perlakuan	Emulsi Ikan (ml L ⁻¹)			
	0	2	4	6
.....4 MST.....				
Kontrol	99 a	100 a	100 a	100 a
50 g L ⁻¹ pisang	100 a	99 a	99 a	84 ab
50 g L ⁻¹ kentang	99 a	100 a	100 a	99 a
50 g L ⁻¹ ubi jalar	85 ab	100 a	71 bc	59 c
.....8 MST.....				
Kontrol	95 ab	93 abc	100 a	83 abc
50 g L ⁻¹ pisang	91 abc	87 abc	69 cde	51 efg
50 g L ⁻¹ kentang	84 abc	91 abc	96 ab	73 bcde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	77 abcd	56 def	32 g	37 fg
.....12 MST.....				
Kontrol	85 abc	100 a	100 a	99 a
50 g L ⁻¹ pisang	100 a	100 a	100 a	37 e
50 g L ⁻¹ kentang	100 a	100 a	96 ab	77 c
50 g L ⁻¹ ubi jalar	87 abc	81 bc	53 d	59 d
.....16 MST.....				
Kontrol	81 bc	92 ab	100 a	98 a
50 g L ⁻¹ pisang	97 ab	93 ab	75 c	32 e
50 g L ⁻¹ kentang	100 a	100 a	94 ab	75 c
50 g L ⁻¹ ubi jalar	85 abc	70 c	50 d	49 d

Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada waktu pengamatan yang sama pada baris atau kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf $\alpha = 5\%$.

Yusnita (2007), 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. Kontaminasi dapat berasal dari mikroba bakteri atau spora cendawan yang masih bertahan hidup yang mungkin terdapat dalam ekstrak bahan organik, meskipun telah di sterilisasi dengan autoklaf.

Persentase Multiplikasi

Multiplikasi merupakan kemampuan eksplan untuk memperbanyak diri (Nazi, 2014). *Plbs Phalaenopsis amabilis* mulai terlihat bermultiplikasi pada saat 6 MST hingga 10 MST. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa faktor bahan organik nabati dan interaksinya dengan emulsi ikan berpengaruh sangat nyata terhadap persentase *plbs Phalaenopsis amabilis* yang bermultiplikasi seperti disajikan pada Tabel 2.

Persentase *plbs Phalaenopsis amabilis* yang bermultiplikasi secara umum meningkat dengan bertambahnya minggu pengkulturan (6-10 MST), dengan persentase *plbs* yang bermultiplikasi berkisar 16-77%, seperti terlihat pada Tabel 2. Ekstrak bahan organik nabati terlihat lebih berpengaruh dibandingkan emulsi ikan terhadap persentase *plbs*

bermultiplikasi. Persentase *plbs* yang bermultiplikasi pada media kontrol hingga 10 MST hanya sebesar 41%, sedangkan media dengan perlakuan ekstrak kentang atau ekstrak pisang lebih baik (berkisar 60-77%). Sebaliknya pada media dengan perlakuan ekstrak ubi jalar (berkisar 40-67%). Penambahan emulsi ikan pada media kontrol dan perlakuan bahan organik ekstrak kentang sebaiknya tidak lebih dari 4 ml L⁻¹, pada media dengan bahan organik ekstrak pisang tidak lebih dari 2 ml L⁻¹, karena pada konsentrasi emulsi ikan yang lebih tinggi persentase *plbs* bermultiplikasi akan menurun. Sebaliknya, pada media perlakuan ekstrak ubi jalar, peningkatan konsentrasi emulsi ikan hingga 6 ml L⁻¹ masih dapat meningkatkan persentase *plbs* bermultiplikasi. Hal ini kemungkinan disebabkan emulsi ikan dapat menyuplai nutrisi terutama yang tidak terkandung dalam ekstrak ubi jalar yang dapat mendorong multiplikasi *plbs*.

Perbedaan bahan organik mempengaruhi pertumbuhan dan multiplikasi *plbs* karena perbedaan kandungan nutrisi, gula, asam amino, vitamin maupun sifat fisik media yang ditimbulkan oleh bahan organik tertentu. Ekstrak kentang dan pisang menunjukkan pengaruh yang lebih baik dibanding ekstrak ubi jalar.

Tabel 2. Rata-rata persentase *plbs* bermultiplikasi pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada perlakuan bahan organik nabati dan hewani.

Perlakuan	Emulsi Ikan (ml L ⁻¹)			
	0	2	4	6
.....6 MST.....				
Kontrol	28 cde	48 abc	47 abcd	49 abc
50 g L ⁻¹ pisang	55 ab	39 abcd	25 de	15 e
50 g L ⁻¹ kentang	61 a	56 ab	59 ab	56 ab
50 g L ⁻¹ ubi jalar	36 bcde	51 ab	28 cde	49 abc
.....8 MST.....				
Kontrol	39 ef	67 abc	68 abc	59 abcde
50 g L ⁻¹ pisang	71 ab	49 bcdef	41 ef	16 g
50 g L ⁻¹ kentang	64 abcd	60 abcde	77 a	57 abcde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	44 def	47 cdef	35 fg	67 abc
.....10 MST.....				
Kontrol	41 ef	68 abc	73 ab	56 bcdef
50 g L ⁻¹ pisang	69 abc	63 abc	39 f	16 g
50 g L ⁻¹ kentang	68 abc	61 abcd	77 a	59 abcde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	43 def	40 ef	53 cdef	67 abc

Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada waktu pengamatan yang sama pada baris atau kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf $\alpha=5\%$.

Penelitian Chai *et al.* (2002) menyatakan bahwa jumlah *plbs* baru pada anggrek *Phalaenopsis* terbentuk lebih banyak pada media dengan penambahan 100 g L⁻¹ ekstrak kentang dibandingkan dengan dua media lain yaitu penambahan 100 g L⁻¹ ekstrak apel dan penambahan 50 g L⁻¹ ekstrak apel + 50 g L⁻¹ ekstrak kentang. Bahan lain yang berpengaruh terhadap multiplikasi *plbs* adalah arang aktif dan air kelapa pada media. Murdad *et al.* (2006) menyatakan bahwa arang aktif secara signifikan meningkatkan persentase multiplikasi *plbs*. Widiastoety *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa air kelapa dapat merangsang pembelahan sel dan menstimulus proses diferensiasi, serta pembentukan *plbs*. Namun dalam penelitian ini, penambahan ekstrak kentang atau ubi jalar atau emulsi ikan 2-4 ml L⁻¹ dalam media kontrol yang sudah mengandung air kelapa dapat meningkatkan multiplikasi *plbs*.

Jumlah Daun

Plbs akan tumbuh menjadi planlet diawali dengan munculnya daun dan diikuti akar. Rata-rata pertambahan jumlah daun dipengaruhi oleh perlakuan bahan organik nabati, hewani, dan interaksi antara bahan organik nabati dan hewani (Tabel 3). Pada 16 MST, perlakuan ekstrak kentang 50 g L⁻¹ tanpa penambahan emulsi ikan menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu 3.16 helai, sebaliknya jumlah daun terendah dihasilkan pada perlakuan media 50 g L⁻¹ pisang + 6 ml L⁻¹ emulsi ikan yaitu 1.27 daun. Jumlah daun pada media kontrol dapat ditingkatkan dengan penambahan 2 ml L⁻¹ emulsi ikan, sebaliknya pada media perlakuan ekstrak pisang, penambahan emulsi ikan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun. Pada media perlakuan ekstrak ubi jalar, perlakuan emulsi ikan cenderung belum konsisten pengaruhnya terhadap jumlah daun planlet. Secara ekonomis, media perlakuan ekstrak kentang tanpa emulsi ikan sudah optimum untuk mendapatkan jumlah daun terbanyak.

Tabel 3. Rata-rata jumlah daun planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada perlakuan bahan organik nabati dan hewani.

Perlakuan	Emulsi Ikan (ml L ⁻¹)			
	0	2	4	6
.....Jumlah Daun (helai) pada 4 MST.....				
Kontrol	0.2 bcde	0.3 bcd	0.4 abc	0.2 bcde
50 g L ⁻¹ pisang	0.4 ab	0.5 a	0.2 def	0.0 f
50 g L ⁻¹ kentang	0.2 bcde	0.2 cdef	0.0 f	0.0 f
50 g L ⁻¹ ubi jalar	0.1 def	0.0 f	0.2 cdef	0.1 ef
.....Jumlah Daun (helai) pada 8 MST.....				
Kontrol	0.7 cdef	0.9 bcd	0.8 cde	0.8 cdef
50 g L ⁻¹ pisang	1.1 b	1.1 bc	0.7 def	0.6 def
50 g L ⁻¹ kentang	1.5 a	1.0 bc	0.6 def	0.5 ef
50 g L ⁻¹ ubi jalar	0.7 def	0.1 g	0.7 cdef	0.4 fg
.....Jumlah Daun (helai) pada 12 MST.....				
Kontrol	0.9 gh	1.5 bcd	1.2 cdefg	1.1 efg
50 g L ⁻¹ pisang	1.3 cdef	1.4 cde	0.7 h	0.7 h
50 g L ⁻¹ kentang	2.1 a	1.8 ab	1.6 bc	1.4 cde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	1.1 defg	0.9 gh	1.3 cdef	1.0 fgh
.....Jumlah Daun (helai) pada 16 MST.....				
Kontrol	1.6 fg	2.7 bc	1.9 ef	1.9 ef
50 g L ⁻¹ pisang	2.1 de	2.3 cde	1.6 fg	1.3 g
50 g L ⁻¹ kentang	3.2 a	2.8 ab	2.6 bcd	2.2 cde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	2.0 ef	1.9 ef	2.4 bcde	1.9 ef

Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada waktu pengamatan yang sama pada baris atau kolom data interaksi tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf $\alpha=5\%$.

Perlakuan media ekstrak kentang 50 g L⁻¹ tanpa emulsi ikan menunjukkan jumlah daun terbanyak, diduga karena peranan dari bahan organik kentang yang ditambahkan sehingga walaupun tanpa emulsi ikan tetapi kebutuhan unsur-unsur kemungkinan telah terpenuhi dari penambahan bahan organik kentang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Silviasari (2010), rata-rata jumlah daun anggrek *Dendrobium alicia noda* x *Dendrobium tomie* terbanyak dihasilkan pada media tanpa penambahan emulsi ikan. Selain itu, hasil penelitian yang dilakukan oleh Syammiah (2006) menunjukkan bahwa penggunaan 15% jus kentang pada media Knudson C merupakan media tercepat untuk pertumbuhan *plbs* anggrek *Dendrobium Bertacong Blue* x *Dendrobium undulatum* dibandingkan dengan penambahan 5% jus tomat dan 5% jus lidah buaya.

Perlakuan media dengan perlakuan ekstrak ubi jalar memiliki rata-rata jumlah daun terendah. Hal yang serupa dilaporkan oleh Widiastoety dan Purbadi (2003) pada kultur anggrek *Oncidium*, dimana, penambahan 15.9 g karbohidrat yang berasal dari bubur ubi jalar baik varietas berdaging putih, merah, maupun ungu yang mengandung gula berkisar antara 2.0-6.7% diduga menyebabkan pertumbuhan jumlah dan luas daun planlet terhambat. Penghambatan tersebut diduga disebabkan oleh pengaruh tekanan osmotik akibat penggunaan sumber karbohidrat dengan konsentrasi yang sangat tinggi.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan yang diberikan maka jumlah daun yang dihasilkan cenderung semakin sedikit. Hal tersebut diduga terjadi karena emulsi ikan menyumbang unsur nitrogen dan thiamin. Thiamin selain diperoleh dari media dasar juga terdapat pada bahan organik nabati seperti pisang, kentang, ubi jalar, emulsi ikan, dan air kelapa. Menurut Widiastoety *et al.* (2009), terjadinya akumulasi thiamin menyebabkan proses proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman mengalami hambatan.

Jumlah Akar

Akar merupakan bagian terpenting dari tanaman karena berkaitan dengan kelangsungan hidup tanaman. Jumlah akar pada tanaman mengindikasikan seberapa luas jangkauan tanaman dalam menyerap nutrisi

dan unsur hara. Semakin banyak jumlah akar maka semakin luas jangkauan tanaman tersebut dan semakin banyak hara yang diserap oleh tanaman (Silviasari, 2010). Dalam penelitian ini, sampai 4 MST, planlet belum menghasilkan akar dan akar baru mulai terbentuk pada saat *plbs* berumur 8 MST.

Perlakuan 50 g L⁻¹ ekstrak kentang tanpa emulsi ikan menghasilkan rata-rata jumlah akar terbanyak dibandingkan ekstrak pisang ataupun ubi jalar (Tabel 4). Rata-rata jumlah akar pada media perlakuan ekstrak kentang tersebut adalah 2.2 akar. Rata-rata jumlah akar terendah dihasilkan pada media kontrol sebanyak 0.7 akar. Perlakuan ekstrak pisang ditambah 2 ml L⁻¹ emulsi ikan memiliki pengaruh yang nyata lebih tinggi dibandingkan perlakuan ekstrak ubi jalar ditambah 2 ml L⁻¹ emulsi ikan. Penambahan emulsi ikan hanya dimungkinkan pada konsentrasi 2 ml L⁻¹, karena peningkatan konsentrasi emulsi ikan menjadi 4 atau 6 ml L⁻¹ cenderung menekan jumlah akar. Menurut Sallolo *et al.* (2012), emulsi ikan selain mengandung unsur nitrogen (N) dan kalium (K) juga mengandung unsur fosfor (P) yang penting untuk perakaran. Penambahan arang aktif pada media juga mempengaruhi pertumbuhan akar. Eymar *et al.* (2000) mengamati bahwa penambahan arang aktif meningkatkan dan mempertahankan tingkat pH selama kultur, meningkatkan serapan nitrogen, dan meningkatkan pertumbuhan dan aspek visual dari eksplan serta mengurangi efek penghambatan sitokinin eksogen pada pertumbuhan akar.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan yang diberikan maka jumlah akar yang dihasilkan juga cenderung semakin sedikit pada semua perlakuan ekstrak bahan organik nabati. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Silviasari (2010) yang diduga terjadi karena kandungan asam amino triptofan pada emulsi ikan. Asam amino ini dapat membantu tanaman membentuk auksin endogen sehingga konsentrasi auksin semakin tinggi. Konsentrasi auksin yang tinggi dapat menghambat pembelahan dan regenerasi sel tanaman. Auksin yang terdapat pada emulsi ikan adalah IAA (*Indole acetic acid*), IAA terbentuk dari asam amino triptofan. Konsentrasi IAA yang relatif tinggi pada akar, akan menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar (Zainal, 1994).

Tabel 4. Rata-rata jumlah akar planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada perlakuan bahan organik nabati dan hewani.

Perlakuan	Emulsi Ikan (ml L ⁻¹)			
	0	2	4	6
.....Jumlah Akar pada 8 MST.....				
Kontrol	0.0 b	0.1 ab	0.0 b	0.0 b
50 g L ⁻¹ pisang	0.1 ab	0.0 b	0.2 a	0.0 b
50 g L ⁻¹ kentang	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
50 g L ⁻¹ ubi jalar	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
.....Jumlah Akar pada 12 MST.....				
Kontrol	0.3 ef	0.6 bcd	0.4 cdef	0.4 cdef
50 g L ⁻¹ pisang	0.6 bcd	0.5 cde	0.2 ef	0.3 cdef
50 g L ⁻¹ kentang	1.3 a	1.0 b	0.7 bc	0.5 cde
50 g L ⁻¹ ubi jalar	0.3 ef	0.1 f	0.3 def	0.2 ef
.....Jumlah Akar pada 16 MST.....				
Kontrol	0.7 f	1.4 bc	1.0 def	1.0 def
50 g L ⁻¹ pisang	1.4 bc	1.2 cde	0.8 ef	0.7 f
50 g L ⁻¹ kentang	2.2 a	1.6 b	1.4 bc	1.2 cd
50 g L ⁻¹ ubi jalar	0.9 def	0.8 f	1.0 def	0.8 ef

Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada waktu pengamatan yang sama pada baris atau kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf $\alpha = 5\%$.

Berdasarkan hasil penelitian ini, terlihat bahwa bahan organik ekstrak kentang atau pisang dan emulsi ikan pada konsentrasi tertentu berpengaruh baik terhadap pertumbuhan dan morfogenesis *plbs*. Bahan organik tersebut menyumbang gula, asam amino, unsur-unsur hara tanaman seperti N, P dan K dan senyawa organik kompleks lainnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peubah-peubah yang diamati menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan media yang tidak selalu sama. Peubah persentase hidup *plbs* tertinggi diperoleh pada media dengan penambahan emulsi ikan 2, 4 ataupun 6 ml L⁻¹ dan media perlakuan ekstrak kentang atau pisang tanpa emulsi ikan maupun dikombinasikan dengan emulsi 2 atau 4 ml L⁻¹, dengan persentase *plbs* hidup di media-media tersebut di atas 90%. *Plbs* yang mengalami multiplikasi terbaik diperoleh pada media perlakuan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ atau media perlakuan ekstrak pisang atau kentang, untuk ekstrak pisang dapat dikombinasikan dengan emulsi ikan 2 atau 4 ml L⁻¹, sedangkan untuk ekstrak kentang dapat dikombinasikan dengan 2, 4, atau 6 ml L⁻¹ emulsi ikan, dengan persentase *plbs* bermultiplikasi sekitar 60-70%. Media perlakuan ekstrak ubi jalar kurang sesuai untuk multiplikasi *plbs*. Sementara itu, untuk peubah jumlah daun dan akar paling banyak dihasilkan pada media perlakuan

ekstrak kentang tanpa penambahan emulsi ikan, menunjukkan bahwa media tersebut sesuai untuk morfogenesis *plbs* menjadi planlet dan perkembangan organ daun dan akar planlet secara maksimal. Jika mempertimbangkan aspek kepraktisan dan ekonomi, hasil penelitian ini menyarankan bahwa untuk tahapan pertumbuhan dan multiplikasi *plbs*, media yang paling sesuai adalah media kontrol dengan penambahan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ atau media dengan perlakuan ekstrak pisang atau ekstrak kentang tanpa emulsi ikan, selanjutnya untuk morfogenesis planlet *plbs* dapat dipindah ke media perlakuan ekstrak kentang.

KESIMPULAN

Media perlakuan terbaik untuk pertumbuhan dan multiplikasi *plbs* adalah media kontrol yang dikombinasikan dengan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ atau media perlakuan ekstrak pisang atau ekstrak kentang tanpa penambahan emulsi ikan, yang dapat menghasilkan persentase hidup *plbs* di atas 90% dan persen *plbs* bermultiplikasi sekitar 70%. Morfogenesis *plbs* menjadi planlet yang sempurna terlihat dari jumlah daun dan akar terbanyak dihasilkan pada perlakuan ekstrak kentang tanpa emulsi ikan dengan jumlah daun

dan akar yang dihasilkan adalah sebanyak 3.2 helai daun dan 2.2 akar.

SARAN

Kultur *plbs* pada tahap multiplikasi sebaiknya menggunakan media dengan penambahan emulsi ikan 2 ml L⁻¹ dan untuk pembesaran planlet menggunakan media dengan penambahan ekstrak kentang tanpa penambahan emulsi ikan. Pertumbuhan lanjut planlet pada tahap aklimatisasi perlu dievaluasi untuk mengetahui kualitas planlet dari berbagai asal media perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Riset dan Teknologi melalui skema Riset Hibah Kompetensi tahun 2016 atas nama Dr. Dewi Sukma, SP. MSi, dengan nomor kontrak: 079/SP2H/LT/DRPM/II/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Agriani, S.M. 2010. Pengaruh konsentrasi ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan terhadap pertumbuhan *plb* anggrek persilangan *Phalaenopsis* 'Pinlong Cinderella' x *Vanda tricolor* pada media *Knudson C*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Andini, N. 2013. Pertumbuhan *protocorm like bodies (plbs)* dua populasi hasil persilangan anggrek *Phalaenopsis* pada beberapa komposisi media. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Chai, M.L., C.J. Xu, K.K. Senthil, J.Y. Kim, D.H. Kim. 2002. Stable transformation of *protocorm like bodies* in *Phalaenopsis* orchid mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Sci. Hort.* 96(2002): 213-224.
- Dwiarum, A.C. 2007. Pengaruh kombinasi media kultur *in vitro* dengan penambahan bahan organik terhadap pertumbuhan *protocorm like bodies (plb)* anggrek *Pharaphalaenopsis serpentilingua*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Eymar, E., J. Alegre, M. Toribio, D. Lopezvlla. 2000. Effect of activated charcoal and 6-benzyladenine on *in vitro* nitrogen uptake by *Lagerstroemia indica*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 63: 57-65.
- Kasutjaningati, R. Irawan. 2013. Media alternatif perbanyakan *in vitro* anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*). *J. Agroteknos.* 3(3): 184-189.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum.* 15: 473-497.
- Murdad, R., K.S. Hwa, C.K. Seng, M.A. Latip, Z.A. Aziz, R. Ripin. 2006. High frequency multiplication of *Phalaenopsis gigantea* using trimmed bases protocorm technique. *Sci. Hort.* 111: 73-79.
- Nazi. 2014. Kultur *protocorm like bodies* anggrek hasil persilangan *Phalaenopsis gigantea* x *Phalaenopsis violacea* pada beberapa kombinasi media dan ZPT. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Niedz R.P., T.J Evens. 2007. Regulating plant *in vitro* growth by mineral nutrition. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 43: 370-381.
- Oktafiani, A., M. Puspitasari, T. Purbiati, Destiwarni. 2012. Pengaruh beberapa media kultur jaringan terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis bellina*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Kalimantan Barat.
- Putri, H.A. 2015. Pengaruh komposisi media dasar dan kitosan terhadap pertumbuhan *protocorm like bodies (plbs)* dan planlet anggrek *Phalaenopsis* hibrida. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Raynalta, E., D. Sukma. 2013. Pengaruh komposisi media dalam perbanyakan *protocorm like bodies*, pertumbuhan planlet, dan aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis* J. Hort. Indonesia. 4(3): 131-139
- Rukmana, R. 2000. Anggrek Bulan. Kanisius. Yogyakarta.
- Sallolo, S.T., I.G.R. Sadimantara, T. Wijayanto. 2012. Pertumbuhan anggrek *Dendrobium* Candy Stripe *Lasianthera* pada media saphir Vacin dan Went secara *in vitro* dengan penambahan ekstrak pisang raja dan fish emulsion. J. Penelitian Agronomi. 1(1): 57-62.
- Sandra, E. 2012. Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga. IPB Press. Bogor.
- Semiarti, E., A. Indiarjo, E.A. Suyono, R.L. Nurwulan, R. Restiani. 2010. Mikropropagasi tanaman anggrek hitam *Coelogyne pandurata* Lindl. dengan penyisipan gen penumbuh tunas melalui *Agrobacterium*. Seminar Nasional Biologi UGM; Yogyakarta, 24-25 September 2010.
- Silviasari, A.D. 2010. Pengaruh konsentrasi ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium alicia noda* x *Dendrobium tomie* dan *Phalaenopsis pinlong* *Cinderella* x *Vanda tricolor* pada medium Vacin dan Went. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Syabana, M.A., I. Rohmawati, E.P. Ningsih.. 2015. Pertumbuhan tanaman marasi (*Cuculigo latifolia*) dengan perbedaan konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) secara *in vitro*. Jur. Agroekotek. 7(1): 6-15.
- Syammiah. 2006. Jenis senyawa organik suplemen pada medium *Knudson C* untuk pertumbuhan *protocorm like bodies* *Dendrobium* bertampang *blue* x *Dendrobium undulatum*. J. Floratek. 2: 86-92.
- Widiastoety, D., Purbadi. 2003. Pengaruh bubuk ubikayu dan ubijalar terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium*. J. Hort. 13(1): 1-6.
- Widiastoety, D., N. Solvia, S. Kartikaningrum. 2009. Pengaruh tiamin terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Oncidium* secara *in vitro*. J. Hort. 19(1): 35-39.
- Yusnita, C. Kesuma, D. Andiviaty, S. Ramadiana, D. Hapsoro. 2007. Perbanyakan klonal *Phalaenopsis* sp. *in vitro* dari eksplan daun dan eksplan tangkai bunga. Hal 119-124. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian yang Dibiayai oleh Hibah Kompetitif. Bogor, 1-2 Agustus 2007.
- Zainal, A. 1994. Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa, Bandung.