



Pemberian air rebusan kentang pada media Murashige-Skoog terhadap pertumbuhan protokorm anggrek sendu (*Grammatophyllum stapeliiflorum*) secara in vitro

In vitro propagation of *Grammatophyllum stapeliiflorum* on the growth of protocorm using Murashige-Skoog medium containing potato water

Fitria Elysyeh Ningrum, Mayta Novaliza Isda*

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

ARTICLE INFO

Article History

Received: November 27, 2021

Accepted: March 21, 2022

Published: March 31, 2022

Keywords:

Grammatophyllum stapeliiflorum, orchid, potato water, protocorm, PLBs, in vitro.

Cite this:

J. Ilm. Pertan., 2022, 19 (1) 19-28

DOI:

<https://doi.org/10.31849/jip.v19i1.8514>

ABSTRACT

Grammatophyllum stapeliiflorum is one of the most popular orchid species because of its beauty and is characterized by the shape of the flower stalk that sticks down and the brown flowers with white and yellow spots that look like drops of water or sad. This type of orchid is almost extinct and is rarely found in its natural habitat, so it is necessary to perform in vitro propagation of orchids. The culture *in vitro* method is one of the most effective methods for propagating rare orchids. This study aimed to determine the effect of adding potato water on protocorm growth and determine the best concentration for the growth of *G. stapeliiflorum* protocorm *in vitro*. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with the addition of potato water (concentrations 0, 50, 100, 150, and 200 ml/L) on Murashige-Skoog (MS) medium. The results showed that the percentage of live explants was 100% in all treatments. The addition of potato water to MS medium had no effect on the percentage of live explants but still affected the growth percentage of Protocorm-like bodies (PLBs) *in vitro*. The best concentration of potato water for the protocorm growth of *G. stapeliiflorum* *in vitro* to MS medium was at a concentration of 150 ml/L, which was indicated by the highest percentage of PLBs growth at 100% and the color of PLBs green (2.5GY 6/8) compared to other potato water treatments and controls.

ABSTRAK

Anggrek sendu (*Grammatophyllum stapeliiflorum*) adalah salah satu spesies anggrek yang banyak digemari karena keindahannya dan dicirikan dengan bentuk tangkai bunga yang menjulur ke bawah dan bunga berwarna cokelat berbintik-bintik putih dan kuning yang tampak seperti cucuran air atau sendu. Anggrek jenis ini hampir punah dan jarang ditemukan di habitat aslinya sehingga perlu dilakukan perbanyakannya secara *in vitro*. Metode kultur *in vitro* adalah salah satu cara yang efektif untuk perbanyakannya anggrek langka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan air rebusan kentang terhadap pertumbuhan protokorm dan menentukan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan penambahan air rebusan kentang (konsentrasi 0, 50, 100, 150 dan 200 ml/L) pada media Murashige-Skoog (MS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase eksplan hidup 100% pada semua perlakuan. Penambahan air rebusan kentang pada media MS tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan hidup, akan tetapi memberikan pengaruh terhadap persentase pertumbuhan PLBs secara *in vitro*. Konsentrasi air rebusan kentang terbaik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* secara *in vitro* pada media MS adalah konsentrasi 150 ml/L ditandai dengan persentase pembentukan PLBs tertinggi sebesar 100% dan warna PLBs hijau (2.5GY 6/8) dibandingkan perlakuan air rebusan kentang lain dan kontrol.

*Corresponding author

E-mail: mayta.isda@lecturer.unri.ac.id

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hias yang popular dan banyak digemari karena keindahan bunganya. Anggrek berasal dari famili Orchidaceae dengan keanekaragaman tertinggi di dunia, diperkirakan dari 35,000 jenis anggrek di dunia terdapat 5,000 jenis anggrek ditemukan di Indonesia (Sadili & Sundari, 2017). Namun saat ini anggrek yang hidup di alam mulai terancam kelestariannya dan sulit ditemukan karena kerusakan habitatnya di alam. Banyaknya penebangan pohon dan kebakaran hutan secara liar menyebabkan penyebaran anggrek semakin terbatas sehingga anggrek endemik mengalami kepunahan (Yolanda & Anggraini, 2019).

Salah satu anggrek di Indonesia yang hampir punah adalah dari genus *Grammatophyllum*. Jenis anggrek *Grammatophyllum* yang ada di Indonesia di antaranya yaitu anggrek tebu (*G. speciosum*), anggrek sendu (*G. stapeliiflorum*) dan anggrek macan (*G. scriptum*). Anggrek sendu (*G. stapeliiflorum*) adalah salah satu jenis *Grammatophyllum* yang sudah langka dan sulit ditemukan di alam termasuk di Riau. Akibat perubahan kondisi lingkungan drastis yang dapat menyebabkan kehilangan banyak spesies anggrek di habitat aslinya (Isda dan Fatonah 2014). *G.stapeliiflorum* dikenal sebagai anggrek sendu karena memiliki bentuk tangkai dan bunga yang unik dengan tangkai menjulur ke bawah dengan ditumbuhi bunga berwarna cokelat gelap, mengkilap berbintik-bintik putih atau kuning yang tampak seperti cucuran air. Bunga beraroma harum dan mekar hingga 1-2 bulan membuat anggrek sendu banyak diminati dan cukup mahal di pasaran (Muskhazli et al., 2012).

Perbanyakan anggrek secara generatif sulit dilakukan karena biji anggrek tidak memiliki endosperm dan di alam hanya bisa berkecambah dengan simbiosis mikoriza. Selain itu, pertumbuhan biji anggrek sangat lambat dari fase biji sampai tanaman dewasa dan berbunga (Isda dan Fatonah, 2014). Secara *in vitro*, pertumbuhan biji anggrek dapat dilakukan dengan cara disemai pada media tanam yang kaya nutrisi. Kultur *in vitro* merupakan metode yang efektif dalam perbanyakan anggrek langka. Manfaat utama kultur *in vitro* yaitu perbanyakan tanaman secara cepat dengan sifat genetik yang identik dengan induknya (Markal et al., 2015).

Permasalahan dalam perbanyakan anggrek dapat diatasi dengan melakukan proliferasi protokorm secara *in vitro*. *Protocorm like bodies* (PLBs) adalah hasil proses embriogenesis somatik. Protokorm merupakan fase awal perkecambahan biji berupa tonjolan bulat sebelum terdiferensiasi menjadi organ tunas atau akar dapat diinduksi untuk meregenerasikan tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Adanya PLBs yang diinduksi dari eksplan biji akan menghasilkan bibit anggrek dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat. Pemilihan media kultur *in vitro* disesuaikan dengan eksplan yang digunakan. Media Murashige-Skoog (MS) adalah media yang umum digunakan untuk kultur *in vitro* (Isda dan Fatonah 2014). Media MS dengan penambahan zat tambahan (suplemen) pada konsentrasi yang sesuai akan membantu germinasi biji dan produksi PLB (Kalimuthu et al., 2007).

Pertumbuhan PLBs dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dari kelompok auksin dan sitokinin, namun bisa juga didapatkan ZPT dari bahan organik. Air rebusan kentang dapat digunakan sebagai zat organik kompleks tambahan ke media kultur *in vitro* dan berperan dalam meningkatkan pertumbuhan eksplan. Imanudin (2016), menjelaskan bahwa penambahan air rebusan kentang ke dalam media dapat meningkatkan pertumbuhan eksplan karena adanya kandungan vitamin A, tiamin, riboflavin, piridoksin, asam askorbat (vitamin C), asam amino, protein, kalsium, magnesium, fosfor dan besi. Air rebusan kentang dapat digunakan sebagai tambahan nutrisi pada media kultur, karena banyak zat gizi yang terlarut dalam air rebusan. Sebagian zat gizi dapat tercuci keluar oleh air yang digunakan untuk merebus, seperti vitamin B dan vitamin C yang migrasi ke dalam air rebusan (Sundari et al., 2015). Kandungan flavonoid (antosianin) dan alkaloid (solanin) pada kentang juga akan larut dalam air rebusan.

Penelitian Hadi (2013), menunjukkan bahwa penambahan air rebusan kentang dengan konsentrasi 200 ml/L memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan akar pisang ambon dengan rerata jumlah tertinggi sebesar 4.33 cm. Hasil penelitian

Imanudin et al. (2015), menunjukkan bahwa penambahan air rebusan kentang 300 ml/L dengan penambahan 1 mg/L BAP dan 0.1 m/L NAA ke dalam media WPM dapat menginduksi kalus jati emas (*Cordia subcordata*) pada 23.6 hari setelah tanam (HST) dan dengan diameter kalus 4.64 cm. Penelitian Imanudin (2016), menunjukkan bahwa penambahan air rebusan kentang dengan konsentrasi 100 ml/L, 200 ml/L, 300 ml/L, 400 ml/L dan 500 ml/L yang dikombinasikan dengan ZPT mempengaruhi mempengaruhi persentase tumbuh eksplan jati emas dan konsentrasi terbaik pada penambahan 300 ml/L air rebusan kentang dalam menginduksi tunas dengan rerata calon tunas mencapai 40.66 calon tunas.

Penelitian mengenai penambahan senyawa organik berupa air rebusan kentang ke dalam media kultur *in vitro* telah dilakukan pada beberapa jenis tanaman, namun belum ada informasi penggunaannya pada pertumbuhan anggrek *G. stapeliiflorum*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan air rebusan kentang pada media MS terhadap pertumbuhan dan perkembangan PLBs anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum*.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu autoklaf, *Laminar air flow Cabinet* (LAFC), timbangan analitik, pH meter, *hotplate*, botol kultur, gelas beaker, gelas ukur, batang pengaduk, cawan petri, spatula, pipet tetes, pinset, scalpel, gunting, lampu bunsen, rak kultur, panci, kertas saring, oven, tissue, *aluminium foil*, plastik, karet dan kertas label. Bahan tanam yang digunakan yaitu buah anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* dari Nursery Harau Orchid, media MS (Murashige-Skoog), kentang, akuades, detergen, arang aktif, gula, agar, alkohol, bayclin dan sunlight.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 taraf perlakuan dengan 5 kali ulangan sehingga dihasilkan 25 unit percobaan (botol). Perlakuan pada penelitian ini adalah :

A0 = Tidak diberikan air rebusan kentang (kontrol)

A1 = 50 ml/L air rebusan kentang

A2 = 100 ml/L air rebusan kentang

A3 = 150 ml/L air rebusan kentang

A4 = 200 ml/L air rebusan kentang

Metode

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari persiapan alat dan bahan, sterilisasi alat, pembuatan media yang diawali dengan pembuatan air rebusan kentang modifikasi dari metode Yulianti *et al.* (2016). Penanaman eksplan (inokulasi) dan inkubasi selama 90 HST dengan pemeliharaan ruang inkubasi agar tetap aseptis. Perawatan selama inkubasi dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70% setiap hari dan suhu ruang inkubasi diatur 23-25°C dengan penyinaran lampu fluoresens (TL) dengan intensitas 1,000-2,000 lux.

Pengamatan dilakukan sekali dalam seminggu hingga 90 HST. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu persentase eksplan hidup (%), pertumbuhan protokorm diamati dengan fase pertumbuhan protokorm berdasarkan Lestari *et al.* (2013) dan jumlah pertumbuhan protokorm diamati secara visual atau langsung. Data dianalisis statistik menggunakan ANOVA, dan apabila berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Pertumbuhan dan perkembangan protokorm dianalisis secara deskriptif berdasarkan fase pertumbuhan berdasarkan Lestari *et al.* (2013) dan warna protokorm dianalisis menggunakan *Munsell Color Chart for Plant Tissues*. Fase-fase pertumbuhan protokorm diantaranya yaitu pada fase 0: biji belum berkembang; fase 1: biji berkembang membentuk protokorm, ditandai adanya tonjolan bulat pada berwarna hijau; fase 2: protokorm dengan primordium daun; fase 3: protokorm dengan daun dan akar pertama; fase 4: protokorm dengan beberapa daun dan akar; dan fase 5: planlet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Hidup dan Persentase Pembentukan PLBs

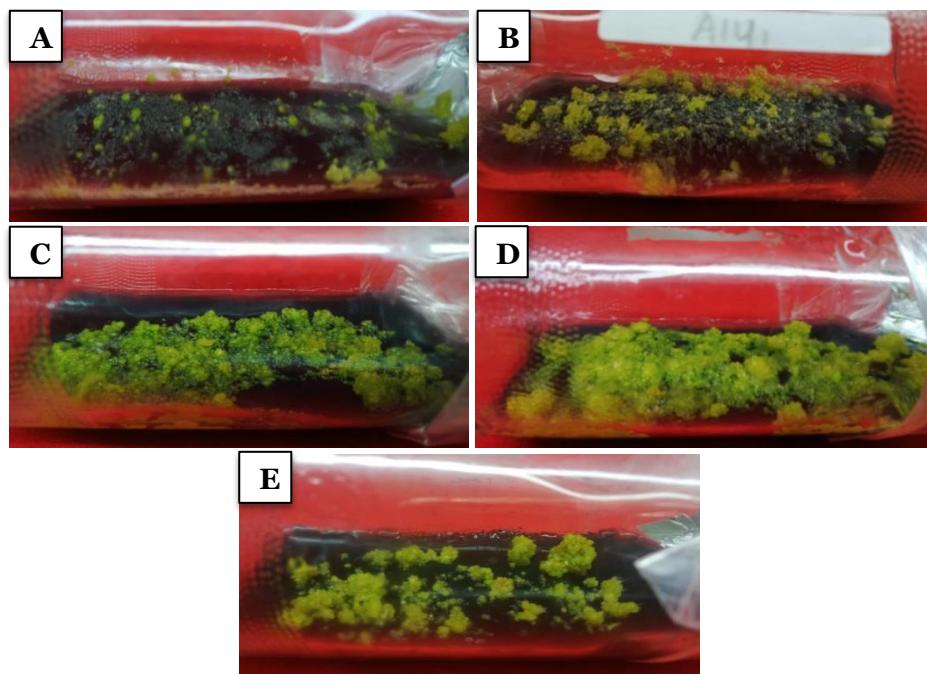
Berdasarkan hasil ANOVA, perlakuan penambahan air rebusan kentang pada media MS tidak memberikan pengaruh terhadap persentase eksplan hidup. Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan air rebusan kentang pada media MS terhadap eksplan biji *G. stapeliiflorum* memperoleh persentase eksplan hidup sebesar 100%. Eksplan hidup ditandai dengan eksplan segar atau eksplan biji tetap berwarna putih cerah. Setelah penanaman eksplan biji terlihat berwarna kekuningan pada permukaan media. Kemudian setelah beberapa minggu eksplan mulai berubah warna menjadi putih cerah, yang menandakan bahwa eksplan hidup dan dapat tumbuh tergantung pada komposisi media. Hal ini menunjukkan bahwa media MS dan media dengan penambahan air rebusan kentang dapat menyediakan kebutuhan hara untuk biji anggrek *G. stapeliiflorum* sehingga semua eksplan dapat hidup. Sundari et al. (2015), menyatakan bahwa kemampuan hidup eksplan tergantung pada eksplan itu sendiri, sedangkan besarnya daya tahan eksplan dipengaruhi oleh jenis dan komposisi media kultur *in vitro*. Isda & Fatonah (2014), menambahkan bahwa media MS yang ditambahkan dengan zat yang sesuai maka akan meningkatkan pertumbuhan eksplan.

Penambahan air rebusan kentang pada media MS menghasilkan persentase pembentukan protokorm atau PLBs yang berbeda-beda. Perlakuan 150 ml/L air rebusan kentang memperoleh persentase pembentukan PLBs tertinggi sebesar 100% diikuti perlakuan 100 ml/L sebesar 70% dan persentase pembentukan PLBs terendah sebesar 10% pada kontrol (Tabel 1). Menurut Lestari (2011), kombinasi media dasar dan ZPT yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis. Pada penelitian ini komposisi media MS yang ditambahkan dengan air rebusan kentang yang tepat maka dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel pada eksplan biji.

Tabel 1. Persentase eksplan hidup dan persentase pembentukan PLBs dari eksplan biji anggrek *G. stapeliiflorum* pada 90 HST.

Kode Perlakuan	Perlakuan	Eksplan Hidup (%)	Pembentukan PLBs (%)
A0	Tidak diberikan air rebusan kentang (Kontrol)	100	10
A1	50 ml/L air rebusan kentang	100	40
A2	100 ml/L air rebusan kentang	100	70
A3	150 ml/L air rebusan kentang	100	100
A4	200 ml/L air rebusan kentang	100	50

Peningkatan konsentrasi penambahan air rebusan kentang meningkatkan pertumbuhan PLBs, namun pada konsentrasi tertinggi yaitu 200 ml/L air rebusan kentang terjadi penurunan pertumbuhan PLBs. Ini diduga karena tambahan vitamin, nutrien makro maupun mikro yang berlebih sehingga menghambat pertumbuhan PLBs. Kandungan toksin senyawa fenolik (antosianin) dan glikoalkaloid pada kentang sebagian larut ke dalam air rebusan. Penambahan bahan organik dapat meningkatkan pertumbuhan PLBs apabila diberikan pada konsentrasi yang tepat. Rahayu et al. (2011), menambahkan bahwa bahan organik yang ditambahkan secara bersamaan menyebabkan nutrien makro dan mikro pada media menjadi berlebih, karena nutrien mikro hanya diperlukan dalam jumlah sedikit apabila tersedia dalam jumlah berlebih akan bersifat toksik. Syammiah (2006), mengatakan bahwa kandungan ekstrak kentang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa organik lainnya.



Gambar 1. Pertumbuhan protokorm atau PLBs anggrek *G.stapeliiflorum* pada 90 HST, A: 0 ml/L air rebusan kentang /kontrol (A0), B : 50 ml/L air rebusan kentang (A1), C : 100 ml/L air rebusan kentang (A2), D : 150 ml/L air rebusan kentang (A3) dan E : 200 ml/L air rebusan kentang (A4).

Penelitian Islam et al. (2003) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kentang (25, 50, 100 dan 200 ml/L) mempengaruhi pertumbuhan PLBs. Perlakuan 100 ml/L ekstrak kentang dapat meningkatkan regenerasi PLBs anggrek *Doritaenopsis* dengan hasil PLBs tertinggi pada perlakuan 100 ml/L sebesar 5.0, berat segar PLBs 0.0460 g dan berat per PLBs 0.00090 g pada kultur umur 8 minggu. Namun pertumbuhan PLBs terhambat pada perlakuan 200 ml/L menunjukkan penurunan PLBs sebesar 1.4, berat segar PLBs 0.0090 g dan berat per PLBs 0.0064 g. Hasil penelitian Amalia (2020), menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kentang mempengaruhi pertumbuhan protokorm anggrek *Grammatophyllum speciosum*. Perlakuan 100 g/L ekstrak kentang memperoleh pertumbuhan PLBs tertinggi yang ditandai pertumbuhan protokorm hingga tahap 5 (planlet) pada umur kultur 15 minggu. Pertumbuhan protokorm pada penelitian ini ditandai dengan biji yang berwarna putih dengan embrio yang masih terbungkus di dalam testa, kemudian embrio mengalami pembengkakan hingga membentuk tonjolan bulat berwarna kuning kehijauan. Menurut Melisa (2018), biji anggrek yang berkecambah ditandai dengan biji yang kelihatan berwarna kuning kehijauan dan terbentuk bulatan seperti gelembung yang disebut sebagai PLBs (*protocorm like bodies*). Pertumbuhan protokorm pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada penelitian ini digunakan biji dari kapsul biji *G.stapeliiflorum* yang berumur \pm 9 bulan sebagai eksplan. Protokorm mulai muncul setelah 8 minggu penanaman eksplan, protokorm yang dihasilkan berbentuk globular berwarna hijau yang belum terdiferensiasi menjadi organ. Pada Gambar 1 terlihat bahwa perlakuan kontrol ditemukan lebih sedikit pertumbuhan PLBs, ini menandakan bahwa kandungan media MS tanpa pemberian air rebusan kentang dapat membantu pertumbuhan protokorm namun pertumbuhannya berjalan lambat. Sundari et al. (2015), mengatakan bahwa jenis dan komponen media akan mempengaruhi jumlah ketersediaan nutrisi media untuk eksplan sehingga secara langsung mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup. Imanudin (2016) menjelaskan bahwa penambahan air rebusan kentang dapat memperkaya kandungan hara dalam media karena adanya kandungan vitamin A, tiamin, riboflavin, piridoksin, asam askorbat (vitamin C), asam amino, protein, kalsium, magnesium, fosfor dan besi. Sundari et al. (2015) menambahkan bahwa, vitamin B dan vitamin C akan larut dalam air rebusan kentang. Sehingga memungkinkan penambahan air rebusan kentang ke dalam media MS untuk mempercepat pertumbuhan PLBs.

Imanudin (2016), mengatakan bahwa nutrisi dari air rebusan kentang yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dalam media tumbuh diantaranya asam amino, fosfor dan tiamin (vitamin B1). Tiamin adalah vitamin yang paling berperan penting dan paling banyak dibutuhkan dalam pertumbuhan. Tiamin berperan dalam mempercepat pembelahan sel pada jaringan meristem dan sebagai koenzim reaksi dalam menghasilkan energi dari karbohidrat. Menurut Amalia (2013), keberadaan tiamin dalam proses perkembangan biji anggrek akan mengoptimalkan aktivitas respirasi penting untuk menghasilkan energi yang diperlukan dalam metabolisme, termasuk dalam produksi klorofil untuk proses fotosintesis.

Fase Pertumbuhan Protokorm atau PLBs

Respon pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *G. stapeliiflorum* pada 90 HST menggunakan perlakuan air rebusan kentang pada media MS mempengaruhi fase PLBs pada pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek. Fase-fase PLBs setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan data dari Tabel 2, setelah pengamatan 90 HST pada perlakuan A0, A1, A2, A3 dan A4 diperoleh pertumbuhan protokorm fase 0 dari saat biji ditabur ke dalam media dan belum mengalami perkembangan hingga fase 1. Setiaji et al. (2018) menambahkan bahwa bentuk protokorm membulat terdiri dari sel-sel yang seragam (parenkim) berfungsi dalam penyimpanan energi untuk pertumbuhan biji. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Islam et al. (2011) bahwa penambahan ekstrak kentang pada 25 ml/L, 50 ml/L, 100 ml/L dan 200 ml/L memperoleh pertumbuhan protokorm dengan primordium daun (fase 2) setelah kultur berumur 2 bulan pada anggrek *Vanda roxburghii*/lokal.

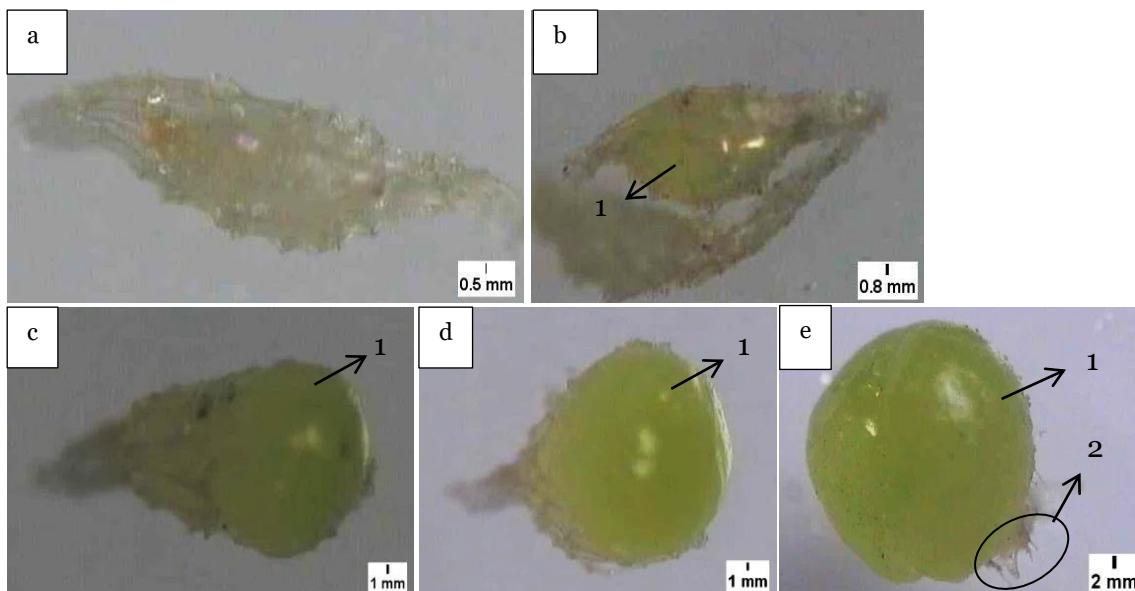
Tabel 2. Fase-fase protokorm atau PLBs pada pertumbuhan biji anggrek *G.stapeliiflorum* pada 90 HST.

Kode Perlakuan	Perlakuan	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
A0	Tanpa diberi air rebusan kentang (kontrol)	✓	✓	-	-	-	-
A1	50 ml/L air rebusan kentang	✓	✓	-	-	-	-
A2	100 ml/L air rebusan kentang	✓	✓	-	-	-	-
A3	150 ml/L air rebusan kentang	✓	✓	-	-	-	-
A4	200 ml/L air rebusan kentang	✓	✓	-	-	-	-

Perkecambahan anggrek dari fase 0 hingga fase 1 dapat dilihat pada Gambar 2. Perkecambahan anggrek ini dimulai dari fase 0 yaitu biji yang belum berkembang dan embrio masih berada didalam, terbungkus rapat oleh testa (Gambar 2a). Kemudian biji yang berwarna kuning kecokelatan akan berubah warna menjadi pudar nampak memutih. Embrio mulai membengkak dikarenakan pembelahan sel (sel parenkim) didalam biji hingga testa pecah (Gambar 2b, 2c dan 2d). Hal ini sesuai dengan penelitian Febrianti et al. (2019), embrio berkembang ditandai dengan ukuran biji yang membesar di bagian tengah dan semakin besar berbentuk bulat, dengan testa yang semakin terlepas hingga testa tersisa di ujung protokorm. Pada fase akhir protokorm terdapat *absorbing hair* (AH) di bagian posterior protokorm yang berfungsi sebagai alat penyerap nutrisi pada biji dan protokorm yang berwarna hijau lebih pekat menandakan biji mengandung banyak nutrisi (Gambar 2e).

Pada penelitian ini semua perlakuan menghasilkan pertumbuhan protokorm fase 0 hingga fase 1 (Gambar 2) biji telah berkembang membentuk protokorm yang ditandai adanya tonjolan bulat berwarna hijau yang padat, berisi ratusan sel

yang belum terdiferensiasi menjadi organ dan tampak seperti umbi, akan tetapi pertumbuhan PLBs tidak merata keseluruhan. Pada saat pengamatan perlakuan A0 (kontrol) lebih dominan ditemukan biji yang belum berkembang, testa masih menyelimuti biji (Gambar 2a). Pada perlakuan A1 (50 ml/L air rebusan kentang) lebih dominan ditemukan biji yang membengkak, terlihat protokorm mulai terbentuk (Gambar 2b dan 2c). Sedangkan perlakuan A2, A3 dan A4 (100 ml/L, 150 ml/L dan 200ml/L air rebusan kentang) lebih dominan ditemukan protokorm yang membesar dan bulat, terlihat protokorm telah membulat dengan testa yang tersisa di bagian ujung biji (Gambar 2c dan 2d).



Gambar 2. Fase pertumbuhan PLBs, menggunakan mikroskop stereo (*Microscope OLYMPUS SZX7*). a: biji belum berkembang, b: biji membengkak di bagian tengah (protokorm mulai terbentuk), c dan d :protokorm membesar dan membulat (protokorm (1), e : protokorm dengan AH (*absorbing hair*(2).

Pada perlakuan kontrol menghasilkan protokorm lebih sedikit dibandingkan perlakuan air rebusan kentang, ditemukan lebih dominan biji yang belum berkembang pada kontrol. Ini diduga karena kandungan pada media MS tanpa tambahan bahan organik tidak cukup untuk pertumbuhan PLBs. Hasil ini sesuai dengan penelitian Islam et al. (2011) menunjukkan pertumbuhan PLBs lebih lambat pada kontrol dengan persentase PLBs terendah (15.18%). Menurut Gnasekaran (2012), penambahan ekstrak nutrisi organik dalam media dapat bermanfaat sebagai sumber karbon sekaligus menambahkan kandungan zat pengatur tumbuh alami serta beberapa vitamin untuk pertumbuhan tanaman. Pada penelitian ini air rebusan kentang hanya dapat menghasilkan PLBs hingga fase 1 pada semua perlakuan, dengan terbentuknya protokorm. Hal ini menandakan bahwa konsentrasi air rebusan kentang yang ditambahkan belum mampu untuk mempercepat perkembangan protokorm sampai pembentukan tunas dan daun. Pada penelitian ini aktivitas sel baru sampai pada tahap pembelahan dan pembesaran sel saja tanpa diferensiasi menjadi organ.

Warna Protokorm atau PLBs

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa protokorm yang dihasilkan memiliki perbedaan warna yang dianalisis menggunakan *Munsell Color Chart for Plant Tissues* dengan kode warna 2.5GY 8/8 terdapat pada perlakuan A0 (kontrol) dan A1 (50 ml/L air rebusan kentang). Kode warna 2.5GY 6/8 terdapat pada perlakuan A2 (100 ml/L air rebusan kentang) A3 (150 ml/L air rebusan kentang) dan A4 (200 ml/L air rebusan kentang). Hal ini dapat terjadi karena klorofil yang terkandung dalam protokorm yang berbeda-beda tiap perlakuan. Protokorm yang memiliki warna hijau pada perlakuan A2, A3 dan A4 mengandung lebih banyak klorofil dibandingkan dengan protokorm berwarna hijau kekuningan pada perlakuan A0 dan A1.

Tabel 3. Warna protokorm yang terbentuk dari eksplan biji anggrek *G.stapeliiflorum* pada 90 HST.

Gambar	Visual warna	Munsell Color Chart
		2.5GY 8/8
		2.5GY 6/8

Pada hasil pengamatan diperoleh bahwa perlakuan A0 (kontrol) dan A1 (50 ml/L air rebusan kentang) menghasilkan protokorm berwarna hijau kekuningan dengan ukuran protokorm lebih kecil. Peningkatan konsentrasi dengan perlakuan A2 (100 ml/L air rebusan kentang), A3 (150 ml/L air rebusan kentang) dan A4 (200 ml/L air rebusan kentang) menghasilkan protokorm berwarna hijau dengan ukuran lebih besar dibandingkan perlakuan kontrol, yang menandakan protokorm kaya akan nutrisi. Menurut Syammiah (2006), protokorm yang berwarna hijau kekuningan terjadi karena proses protokorm menyerap unsur-unsur hara dalam media berjalan lambat sehingga protokorm tidak mampu membentuk klorofil. Klorofil adalah zat hijau daun yang penting dalam proses fotosintesis. Jumlah klorofil yang sedikit dapat menyebabkan fotosintesis tidak berjalan dengan maksimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan penambahan air rebusan kentang pada media MS tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan hidup *G. stapeliiflorum*, akan tetapi memberikan pengaruh terhadap persentase pembentukan PLBs *G. stapeliiflorum* secara *in vitro*. Konsentrasi air rebusan kentang terbaik untuk pertumbuhan protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* pada media MS adalah konsentrasi 150 ml/L ditandai dengan persentase pembentukan PLBs tertinggi sebesar 100% dan warna PLBs hijau (2.5GY 6/8) dibandingkan perlakuan air rebusan kentang lain dan kontrol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dan memberi masukan selama penelitian. Terima kasih kepada pihak *Advanced Knowledge And Skills For Sustainable Growth In Indonesia* (AKSI) *Project Asian Development Bank* (ADB) Universitas Riau yang menyediakan dana melalui Program Riset Penelitian Mahasiswa Tahun Anggaran 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, R., Nurhidayati, T., & Nurfadilah, S. (2013). Pengaruh jenis dan konsentrasi vitamin terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *in vitro*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 1(1), 1-6. <http://dx.doi.org/10.12962/j23373520.v2i1.2581>
- Gnasekaran, P., Poobathy, R., Mahmood, M., & Samian, R. (2012). Effects of complex organic additives on improving the growth of PLBs of Vanda Kasem's delight. *Australian Journal of Crop Science*, 6, 1245-1248.
- Hadi, S. (2013). Pengaruh penambahan air rebusan kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap pertumbuhan pisang ambon (*Musa acuminate* AAA) dalam teknik kultur *in vitro*. Program Sarjana Pendidikan Biologi. Semarang.
- Imanudin, Kurwasit, N., Handayani, S., Tria, E. W., & Tanjung, N. A. (2015). Efektivitas air rebusan kentang (*Solanum tuberosum* L.) untuk konservasi tanaman jati (*Tectona grandis*) secara *in vitro*. *Naskah Artikel Ilmiah PKM-P. Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta*. <https://www.scribd.com/doc/271319288/Naskah-Artikel-Ilmiah-Pkm-p>

- Imanudin. (2016). Pengaruh penambahan air rebusan kentang (*Solanum tuberosum* L.), BAP dan NAA terhadap induksi tunas jati emas (*Cordia subcordata*) secara *in vitro*[Skripsi]. Departemen Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
- Isda, M. N., & Fatonah, S. (2014). Induksi akar pada eksplan tunas anggrek *Grammatophyllum scriptum* var. *Citrinum* secara *in vitro* pada media MS dengan penambahan NAA dan BAP. *Jurnal Biologi*, 7(2), 53-57. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v7i2.2715>
- Islam M.O., Abu R. Md. M. R., Shuichiro M. dan A.K.M. Azad-ud-doula P. (2003). Effect of complex organic extracts on callus growth and PLB regeneration through embryogenesis in the *Doritaenopsis* orchid. *JARQ*, 37(4), 229-235. <https://doi.org/10.6090/jarq.37.229>
- Islam, M. O., Akter, M., & Prodhan, A. K. M. A. (2011). Effect of potato extract on *in vitro* seed germination and seedling growth of local *Vanda roxburgii* orchid. *Journal Bangladesh Agril Univ*, 9(2), 211-215. <http://dx.doi.org/10.3329/jbau.v9i2.10988>
- Kalimuthu, K., Senthilkumar R., and Vijayakumar S. (2007). *In vitro* micropropagation of orchid *Oncidium* sp. (Dancing Dolls). *African Jurnal of Biotechnology*, 6(10), 1171-1174. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57136/45529>
- Lestari, E. G. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63-68. <https://dx.doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Lestari, E., Nurhidayati, T., & Nurfadilah, S. (2013). Pengaruh konsentrasi ZPT 2,4- D dan BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium laxiflorum* J.J.Smith secara *in vitro*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1), 43- 47. https://ejurnal.its.ac.id/index.php/sains_seni/article/download/2748/740
- Markal, A., Isda, M. N & Fatonah, S. (2015). Perbanyakan anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BL. melalui induksi tunas secara *in vitro* dengan penambahan BAP dan NAA. *JOM FMIPA*, 2(1), 108-114. <https://www.neliti.com/id/publications/185222/perbanyakan-anggrek-grammatophyllum-scriptum-lindl-bl-melalui-induksi-tunas-seca>
- Muskhazli, M., Shalifah, H. A. B., Azwandy, A. A. N., & Rusea, G. (2012). Assessing the interaction of orchid seed and mychorrhiza IEBlated from cultivated *Grammatophyllum stapeliiflorum*(Teijsm. and Mann.) S.S. Smith based on *in-vitro* symbiotic seed germination. *Thai Journal of Agricultural Science*, 45(2), 89 – 97. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/TIAS/10898997.pdf>
- Rahayu, E.M.D., Handini, E., Mursidawati, S. & Isnaini, Y. (2011). Penggunaan bahan organik untuk pembesaran kultur *in vitro* anggrek (*Phalaenopsis fuscata* Rchb.f.). *Jurnal Berkala Penelitian Hayati*, 7A, 133-137. <https://berkalahayati.org/files/journals/1/articles/212/submission/212-629-1-SM.pdf>
- Sadili, A., & Sundari, S. (2017). Keanekaragaman, sebaran dan pemanfaatan jenis-jenis anggrek (Orchidaceae) di Hutan Bodogol, Taman Nasional Gede Pangrango, Jawa Barat. *Jurnal Widyariset*, 3(2), 95-106. <http://dx.doi.org/10.14203/widyariset.3.2.2017.95-106>
- Setiaji, A., Setiari, N., & Semiarti, E. (2018). induksi tunas dari protokorm intak dan fase awal perkembangan *Dendrobium*, *Phalaenopsis* secara *in vitro*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 4(1), 20-27. <https://smujo.id/psnmbi/article/download/2630/2294>
- Sundari, D., Almasyhuri, & Lamid, A. (2015). Pengaruh proses pemasakan terhadap komposisi zat gizi bahan pangan sumber protein. *Media Litbangkes*, 25(4), 235-242. <http://dx.doi.org/10.22435/mpk.v25i4.4590.235-242>
- Sundari, L., Siregar, L. A. M., & Hanafiah, D. S. (2015). Kajian awal : Respon eksplan nodus dalam inisiasi tunas mikro tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) dalam medium WPM. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 3(1), 179-187. <https://media.neliti.com/media/publications/102887-ID-kajian-awal-respon-eksplan-nodus-dalam-i.pdf>
- Syammiah. (2006). Jenis senyawa organik suplemen pada medium Knudson C untuk pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* *Dendrobium* bertacong blue x *Dendrobium undulatum*. *Jurnal Floratek*, 2, 86-92. <http://jurnal.unsyiah.ac.id/floratek/article/view/97>
- Yolanda, R., & Anggraini, D. (2019). Galeri anggrek Indonesia di Jakarta. *JURNAL STUPA*, 1(1), 20-31. <http://dx.doi.org/10.24912/stupa.v1i1.3973>

- Yulianti, Y., Aisyah, S. I., & Sukma, D. (2016). Pengaruh bahan organik nabati dan hewani terhadap pertumbuhan *Protocorm Like Bodies Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume. *J. Hort. Indonesia*, 7(3), 176-186. [https://www.researchgate.net/publication/323938977 Pengaruh Bahan Organik Nabati dan Hewani terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Bodies Phalaenopsis amabilis L Blume](https://www.researchgate.net/publication/323938977_Pengaruh_Bahan_Organik_Nabati_dan_Hewani_terhadap_Pertumbuhan_Protocorm_Like_Bodies_Phalaenopsis_amabilis_L_Blume)
- Zulkarnain. (2009). *Kultur jaringan tanaman: Solusi perbanyak tanaman budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta.