

Perbanyak Tanaman Anggrek *Coelogyne dayana* Rchb.f. Secara *In Vitro* dengan Berbagai Media Tumbuh di Kebun Raya Bogor

Propagation of Orchids Coelogyne Dayana Rchb.f. In Vitro with Various Growing Media in Kebun Raya Bogor

Regi Sandy¹⁾, Baiq Farhatul Wahidah¹⁾ & Yupi Isnaini^{2)*}

1)Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo, Indonesia

2)Pusat Riset Konservasi Tumbuhan Kebun Raya dan Kehutanan-Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan
Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

*Corresponding author: regishandy_1908016003@student.walisongo.ac.id

ABSTRAK

Tanaman anggrek merupakan tanaman hias yang memiliki keanekaragaman yang tinggi dan tersebar luas di Indonesia. Tanaman anggrek diperkirakan sekitar 5000 spesies yang tersebar di hutan-hutan Indonesia. Salah satu tanaman anggrek asli Indonesia adalah anggrek *Coelogyne dayana* Rchb.f. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui media tanam paling baik untuk tanaman *C. dayana*. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk membandingkan perlakuan 3 jenis media tanam yang berbeda yaitu T1V (Vacin & Went pertama), VWS (Vacin & Went Semai) dan KC (Knudson'C). Parameter penelitian yang diamati diantaranya persentase hidup eksplan, warna daun eksplan, dan tingkat kontaminasi eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase hidup eksplan pada media T1V adalah sebesar 60% , sedangkan persentase hidup pada media VWS dan KC masing-masing sebesar 34% dan 48%. Daun eksplan pada media T1V berwarna hijau dan pada media VWS dan KC daun eksplan berwarna hijau kekuningan. Tingkat kontaminasi eksplan pada media T1V sebesar 20%, media VWS sebesar 40%, dan media KC sebesar 0%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa media tanam T1V (Vacin & Went pertama) adalah media tanam yang paling baik untuk *C. dayana*.

Kata Kunci: *C. dayana*, media tanam, persentase hidup, warna daun, kontaminasi

ABSTRACT

Orchids are ornamental plants with high diversity and are widespread in Indonesia. Orchids are estimated to be around 5000 species scattered in the forests of Indonesia. One of the native orchids from Indonesia is the Coelogyne Dayana Rchb.f. orchid. The purpose of this study was to determine the best growing medium for C. dayana. This study is a comparative study that compares three types of growing media i.e T1V (first Vacin & Went), VWS (Vacin & Went Semai), and KC (Knudson'C). The parameters of this study were the explant's survival percentage, leaf color of explants, and level of contamination of explants. As a result, the percentage of explant's survival in T1V media was 60%, VWS and KC were 34% and 48%, respectively. The leaves color of the T1V explants were green, whereas in the VWS and KC media the leaves of the explants were yellowish green. The contamination level of the explants on T1V was 20%, VWS was 40%, and KC was 0%. This result show that the T1V media is the best media for C. dayana.

Keywords: *C. dayana*, growing media, survival percentage, leaf color, contamination.

PENDAHULUAN

Tanaman anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang memiliki keanekaragaman yang tinggi dan tersebar luas di Indonesia (Hartati, 2019). Selain itu tanaman anggrek diperkirakan sekitar 5000 spesies yang tersebar di hutan-hutan Indonesia (Sari, 2016). Salah satu contoh tanaman anggrek asli dari Indonesia adalah anggrek *Coelogyne dayana* Rchb.f dan tanaman anggrek ini merupakan sinonim dari *C. pulverula* (Teoh, 2021). Anggrek ini juga berasal dari Kalimantan Barat yang termasuk dalam kategori genus *Coelogyne* yang tersebar luas di dataran tinggi sampai dataran rendah di daerah beriklim tropis benua Asia (Sari, 2016).

Adapun usaha yang dapat dilakukan untuk melestarikan tumbuhan anggrek, yaitu dengan melakukan perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan memiliki keuntungan menumbuhkan tanaman baru dalam waktu yang relatif singkat dalam jumlah banyak, dengan karakteristik fisiologis dan morfologi tanaman induk yang tepat. Salah satu langkah kerja dalam kultur jaringan adalah subkultur (Hartati, et al., 2022). Subkultur adalah salah satu tahapan dalam kultur jaringan yang bertujuan untuk memperbanyak tanaman secara klonal untuk perbanyak massal. Kelebihan dari teknik kultur jaringan ini antara lain yaitu dapat menghasilkan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam (Elfiani & Jakoni, 2015).

Saat melakukan sub kultur dibutuhkan media tumbuh yang memiliki nutrisi lengkap dan jumlah yang tepat bagi kebutuhan plantlet tumbuhan, terutama zat pengatur tumbuh (ZPT), karena dapat mempengaruhi pertumbuhan dan morfologis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Arti & Mukarlina, 2017). Media tumbuh untuk kultur jaringan terdapat banyak jenis seperti media T1V (Vacin & Went pertama) (Lestari & Deswiniyanti, 2015) VWS (Vacin & Went Semai) (Utami, et al., 2017) dan media tanam KC (Knudson'C) (Handini, et al., 2016) dan

lain-lain. Media tumbuh dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu media tumbuh menggunakan bahan organik dan tidak menggunakan bahan organik (Rahmah, et al., 2018). Media T1V yang menggunakan bahan organik pisang dan media ½ MS (Murashige dan Skoog) dan ¼ MS (Murashige & Skoog) (Rodinah, et al., 2018) yang tidak menggunakan bahan tambahan organik.

Salah satu tahapan dalam melakukan kultur jaringan adalah sub kultur secara *in vitro*, tahapan ini merupakan tahapan yang paling penting dalam melakukan kultur jaringan karena tahapan ini dapat memberikan nutrisi tanaman yang cukup (Semiarti, 2018). Selain itu terdapat salah satu faktor yang mempengaruhi dalam melakukan sub kultur secara *in vitro* adalah media. Oleh sebab itu, perlu dilakukan sub kultur secara *in vitro* untuk mengetahui media yang cocok untuk tanaman anggrek *C.dayana* ini. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui media tanam paling baik untuk tanaman *C. Dayana*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif untuk membandingkan perlakuan bahan media tanam yang berbeda dan menggunakan 15 botol media, yang mana setiap media menggunakan 5 botol. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-BRIN (Kebun Raya Bogor). Dalam penelitian ini digunakan bahan berupa media meliputi media T1V (Vacin & Went pertama) komposisinya pisang, gula, agar, arang aktif, dan larutan stok VW, VWS (Vacin & Went Semai) komposisinya tomat, tauge, air kelapa, gula, arang aktif, agar, dan larutan stok VW, dan KC (Knudson'C) komposisinya tauge, air kelapa, gula, agar, arang aktif, dan larutan stok KC, tanaman eksplan anggrek *C. dayana*. Selain itu terdapat alat-alat yang digunakan berupa dan menggunakan alat berupa *Laminar Air Flow* (LAF), gunting, pinset, cawan petri, bunsen,

neraca, pH meter, blender, pengaduk, kompor, panci, gelas ukur berukuran 2 liter, dan autoklaf. Adapun data yang diamati diantaranya persentase hidup eksplan, warna daun eksplan, dan tingkat kontaminasi eksplan.

Pembuatan Media Tanam T1V, VWS, dan KC

Setiap cara pembuatan media tanam itu sama yang membedakan adalah bahan yang digunakan. Langkah awal untuk membuat media sebanyak 10 L yaitu disiapkan terlebih dahulu alat dan bahan yang akan digunakan, bahan-bahan organik ditimbang di atas neraca dengan bantuan cawan petri dan gelas beker sebanyak 200 g. Setelah itu semua bahan dimasukkan kedalam blender untuk dihaluskan kecuali agar dan arang aktif. Kemudian bahan-bahan dimasukkan kedalam gelas ukur 2 L dan ditambahkan larutan stok VW/KC yang masing-masing sebanyak 100 ml, Lalu diukur pH dengan pH meter, pH yang diperlukan adalah 5,6. Setelah itu, ditambahkan aquades hingga 10 L dan dimasukkan ke dalam panci. Setelah bahan-bahan dimasukkan kedalam panci, selanjutnya ditambahkan agar dan arang aktif yang telah ditimbang. Kemudian dipanaskan di atas kompor hingga mendidih, langkah selanjutnya media yang telah direbus dimasukkan kedalam botol kultur berukuran T1 dan T2 sebanyak 20 mL, ditutup, dan dimasukkan ke dalam autoklaf selama 25 menit. Setelah selesai dikeluarkan dari autoklaf, diberi label, dan dimasukkan kedalam ruang media dengan suhu 20°C.

Cara Kerja Sub Kultur Secara *In Vitro*

Langkah awal yang dilakukan adalah menyiapkan LAF, kultur tanaman *C. dayana*, media T1V, VWS, dan KC masing-masing 5 botol, pinset, gunting, cawan petri, dan botol gelas yang telah diautoklaf. Selanjutnya LAF di semprotkan dengan alkohol 70%, lampu bunsen dihidupkan, dan semua yang akan masuk ke LAF disemprotkan alkohol 70% seperti semua media, kultur tanaman, pinset, gunting, cawan petri, dan botol gelas. Botol gelas sebelumnya telah diisi alkohol 96%. Ketika akan memulai sub kultur, tangan disemprot alkohol 70%, buka

plastik wrap pada botol dan tutup botol disamping bunsen yang sedang menyala. Usahakan tutup botol diletakkan dengan posisi telungkup. Selanjutnya diambil tanaman dalam botol dengan pinset, dipisahkan antara tanaman yang hidup dan mati, lalu diletakkan di dalam cawan petri. Ketika melakukan sub kultur harus dilakukan didekat bunsen agar terhindar dari kontaminasi. Selanjutnya diambil 1 botol media dan tanaman yang dicawan petri ditanamkan ke botol media yang telah diambil, pada setiap botol diisikan tanaman sejumlah 15 untuk tanaman yang kecil, 10 untuk tanaman berukuran sedang, dan 5 untuk ukuran besar. Setelah selesai semua dibungkus dengan plastik wrap, diberi label, dan dicatat di log book sub kultur. Tahap terakhir adalah botol yang telah di sub kultur diletakkan di ruangan sub kultur dengan suhu 22°C dan pencahayaan terang 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman anggrek *C. dayana* merupakan spesies yang dapat tumbuh di ketinggian rendah dan dapat menghasilkan bunga lebih dari sekali dalam setahun. Perbungaan tanaman ini berbentuk panjang, gantung, dan multi bunga. Nilai hias spesies ini terletak pada mencoloknya ciri perbungaan panjang yang dapat mencapai kurang lebih 37 cm (Sari, 2018). Saat ini, spesies dikumpulkan dari habitat aslinya dan dijual ke kolektor. Satu pendekatan untuk melestarikan anggrek ini adalah melalui kultur jaringan, yang dapat memperbanyak tanaman yang baru (Hakim, et al., 2015)



Gambar 1. Tanaman anggrek *Coelogyne dayana* koleksi Kebun Raya Bogor (Dokumentasi pribadi, 2022).

Macam-macam media tanam yang digunakan terdapat 3 jenis media tanam yaitu media T1V, VWS, dan KC. Media tanam T1V merupakan singkatan dari Modifikasi Vacin & Tranflan Pertama. Media T1V adalah media yang digunakan dalam kultur jaringan untuk pertumbuhan tanaman agar menjadi lebih baik dalam perkembangannya (Lestari & Deswiniyanti, 2015). Pembuatan media tanam T1V adalah dengan menggunakan bahan organik berupa buah pisang. Secara ilmiah buah pisang mengandung pepton untuk induksi akar dan pertumbuhan tunas tanaman anggrek (Utami, et al., 2016). Selain itu pisang juga mengandung kaya akan vitamin. Vitamin tersebut sangat diperlukan oleh tumbuhan plantet yang akan di sub kultur untuk pekembangan dan pertumbuhannya. Buah pisang juga mengandung hormon auksin dan giberelin, yang mana fungsi hormon tersebut untuk menunjang pertumbuhan akar dan pertumbuhan tunas (Arifki & Berliana, 2018).

Pada media tanam T1V juga digunakan larutan stok VW (Vacin & Went). Sejak tahun 1949, larutan stok VW merupakan media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan karena larutan VW mengandung unsur hara makro dan mikro yang dapat bentuk garam-garam anorganik dengan jumlah yang sesuai berguna untuk pertumbuhan tanaman khususnya tanaman anggrek (Lestari & Deswiniyanti, 2015). Seperti penelitian yang dilakukan oleh Lestari dan Deswiniyanti (2015) dengan judul "Perbanyak Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata*) dengan Media Organik dan Vacin Went Secara *In Vitro*" memperoleh hasil bahwa media VW lebih memiliki unsur hara yang lengkap dibandingkan dengan media organik. Media organik yang mereka gunakan adalah taoge, air kelapa, dan buah pisang. Pada media VW rata-rata sebanyak 235,55 eksplan dan media organik sebanyak 191 eksplan.

Media tanam selanjutnya adalah VWS, VWS singkatan dari Modifikasi Vacin & Went Semai (Arti, 2016). Media VWS (Vacin & Went Semai) merupakan media dalam kultur jaringan

sederhana yang terdiri dari senyawa-senyawa yang mengandung unsur hara makro dan mikro yang dalam penggunaannya untuk media tanaman anggrek. Komposisi dalam pembuatan VWS hampir sama dengan media tanam T1V, yang membedakan dari keduanya adalah pada media tanam VWS menggunakan bahan organik yaitu tomat, taoge, dan air kelapa. Pada tomat mengandung vitamin, kandungan toge yaitu kalori, protein, lemak, kalsium, dan lain sebagainya. Fungsi tomat dan toge yaitu untuk merangsang pertumbuhan batang dan akar (Bidhari, 2018). Pada air kelapa juga terdapat sitokinin endogen, sebagai zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan yang nantinya akan terjadi perubahan dan penampilan tumbuhan (Lestari & Deswiniyanti, 2015). Peranan sitokinin sendiri adalah untuk mengacu pembelahan dan diferensiasi sel (Prihamanti, 2002).

Media tanam terakhir yang digunakan dalam pengamatan ini adalah media KC, Media KC singkatan dari Knudson'C. Media Knudson'C adalah media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan yang berguna untuk suatu media nutrisi bagi tumbuhan (Idly, et al., 2021). Komposisi dari media KC ini sama seperti media VWS, hanya saja pada media KC tidak menggunakan bahan organik tomat dan larutan stok VW akan tetapi menggunakan larutan stok KC. Fungsi larutan stok KC ini adalah untuk perkecambahan dan pertumbuhan pada tanaman yang di sub kultur.

Selain bahan-bahan di atas semua media tanam menggunakan bahan yang sama seperti gula. Gula berfungsi untuk pengganti karbohidrat yang biasa diperoleh dari atmosfer melalui fotosintesis, selain itu gula juga mengandung selulosa yang berguna untuk

menahan daun dan batang agar tetap tegak (Gunawan, 1992). Komposisi selanjutnya adalah arang aktif dan agar, arang aktif untuk mencegah keracunan tanaman dan mempermudah dalam penyerapan makanan dan agar untuk membantu plantlet tetap berdiri.

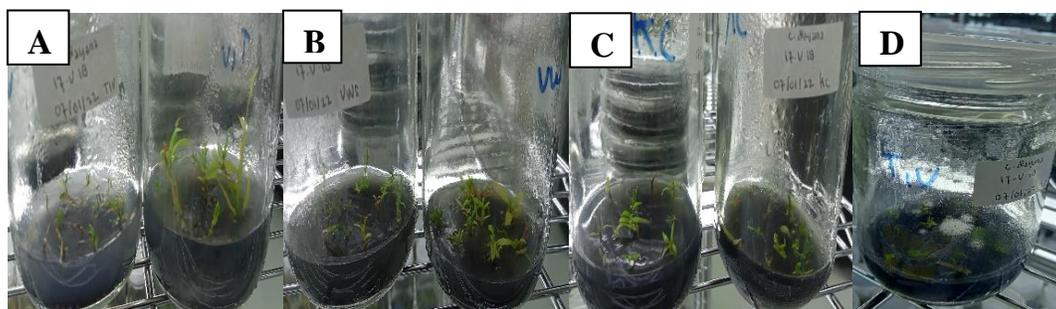
Pada penelitian ini hasil yang diamati adalah persentase hidup eksplan, warna daun eksplan, dan tingkat kontaminasi eksplan. Pada Tabel 1 diketahui bahwa media tanam T1V mempunyai persentase hidup tanaman eksplan lebih tinggi dibandingkan dengan media tanam lain yaitu sebesar 60%, sedangkan pada media tanam VWS dan KC hanya sebesar 34% dan 48%. Selain persentase hidup terdapat juga warna daun eksplan, pada media T1V hasil eksplan daun berwarna hijau seperti pada

gambar 2A, sedangkan pada media VWS dan KC daun eksplan berwarna hijau kekuningan seperti yang ditunjukkan pada gambar 2B dan 2C. Hasil pengamatan yang terakhir adalah tingkat kontaminasi eksplan, diketahui pada media tanam T1V tingkat kontaminasi eksplan sebesar 20%, pada media tanam VWS sebesar 40%, dan media tanam KC sebesar 0%.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dalam melakukan sub kultur secara *in vitro* tanaman anggrek *C. Dayana*, media tanam yang paling baik digunakan adalah media tanam T1V, karena persentase hidup eksplan sebesar 60% lebih besar dibandingkan dengan media tanam VWS dan KC. Selain itu pula warna daun eksplan pada media tanam T1V berwarna hijau seperti pada gambar 2A.

Tabel 1. Hasil Sub Kultur Secara In Vitro Tanaman Anggrek *C. dayana*

No.	Media Tanam	Persentase Hidup (%)	Warna Daun	Kontaminasi (%)
1.	T1V	60	Hijau	20
2.	VWS	34	Hijau Kekuningan	40
3.	KC	48	Hijau Kekuningan	0



Gambar 2. Hasil Sub Kultur Secara *In Vitro* Tanaman Anggrek *C. Dayana*. A. Media Tanam T1V, B. Media Tanam VWS, C. Media Tanam KC, D. Tanaman Eksplan Terkontaminasi (Dokumentasi Pribadi, 2022).

Media T1V menggunakan komposisi yang tidak digunakan pada media lain yaitu dengan buah pisang. Menurut Arditti dan Ernst (1993) menyatakan bahwa pada buah pisang terdapat hormon auksin dan giberelin, oleh sebab itu buah pisang banyak digunakan untuk media dalam kultur jaringan. Hormon auksin dan giberelin sangat membantu dalam proses pertumbuhan tanaman yaitu untuk menunjang pertumbuhan akar dan tunas. Selain buah pisang, media tanam T1V juga mengandung zat

pengatur tumbuh NAA yang merupakan salah satu kelompok hormon auksin yang membantu merangsang pembelahan dan pembesaran sel serta menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru atau tunas (Zulkarnain, 2009). Konsentrasi NAA dalam media kultur sangat menentukan pembentukan akar pada plantlet karena NAA adalah kelompok auksin yang berperan dalam menginduksi pembelahan sel sehingga terbentuk akar. Larutan NAA adalah salah satu kelompok hormon auksin yang membantu merangsang

pembelahan dan pembesaran serta menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru atau tunas (Hartanti dkk, 2022).

Persentase hidup eksplan pada media tanam VWS adalah sebesar 34% dan warna daun eksplan adalah hijau kekuningan. Hal tersebut menunjukkan bahwa media tanam VWS kurang cocok untuk sub kultur tanaman anggrek *C. dayana*. Pada media VWS komposisi yang digunakan adalah tomat, taoge, dan air kelapa. Selain bahan-bahan tersebut media VWS juga menggunakan larutan stok VW yang sama dengan media tanam T1V dengan menggunakan larutan NAA. Pada gambar 2B, terlihat tanaman anggrek *C. dayana* warna daun hijau kekuningan, kemungkinan warna hijau kekuningan tersebut dipengaruhi oleh larutan NAA dan bahan-bahan lain dalam media tanam VWS (Lestari, 2011).

Pada media terakhir adalah media tanam KC diketahui persentase hidup eksplan sebesar 48% dan daunnya berwarna hijau kekuningan. Media tanam KC tidak cocok untuk sub kultur tanaman *C. dayana* karena terlihat dari warna daun yaitu hijau kekuningan. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut adalah komposisi dari media tanam KC, komposisi media tanam KC yaitu sama dengan media tanam VWS yaitu taoge dan air kelapa tetapi tidak menggunakan tomat. Walaupun tomat dan taoge mengandung vitamin dan air kelapa terdapat sitokinin akan tetapi tanaman anggrek *C. dayana* tidak cocok dalam menggunakan bahan-bahan tersebut. Larutan stok yang digunakan media tanam KC adalah larutan stok KC. Pada larutan stok KC tidak terdapat larutan ZPT seperti NAA karena untuk pertumbuhan tanaman hias seperti anggrek *C. dayana* ini membutuhkan larutan ZPT untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut (Kernianti, 2012).

Keberhasilan dalam melakukan sub kultur jaringan terdapat beberapa faktor yaitu sterilisasi, pemilihan bahan eksplan, dan faktor lingkungan. Faktor lingkungan seperti pH, cahaya, temperatur, dan kandungan ZPT dalam medium kultur. ZPT memiliki pengatur tumbuh pada tanaman yaitu senyawa organik bukan

hara. Senyawa tersebut dapat mendukung, menghambat, dan dapat mengubah proses fisiologi tumbuhan. ZPT dalam kultur jaringan dapat ditemukan diberbagai media tanam yang digunakan ketika sedang melakukan sub kultur (Pangestika, et al., 2015).

Selain itu pada gambar 2D terdapat hasil sub kultur secara *in vitro* yang terkontaminasi. Pada tabel 1 diketahui bahwa media tanam yang paling tinggi terkontaminasi adalah media tanam VWS yang menyebabkan tanaman eksplan tidak dapat berkembang dengan baik dan juga menyebabkan tanaman eksplan mati. Kontaminasi pada media sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman eksplan, karena dapat menghambat tanaman eksplan untuk tumbuh dan berkembang. Kontaminasi dalam sub kultur dapat disebabkan karena kondisi LAF, tangan dan alat yang digunakan kurang steril. Selain itu juga, pada media sebelum digunakan diduga botol pada media tersebut kurang steril. Menurut Andriani dan Heriansyah (2021), terjadinya kontaminasi pada eksplan tanaman disebabkan oleh beberapa hal seperti alat dan bahan yang tidak steril, hewan-hewan kecil yang masuk ke dalam botol, dan berasal dari jaringan tanaman.

KESIMPULAN

Media tanam paling baik untuk tanaman *C. dayana* adalah menggunakan media T1V (Vacin & Went Pertama).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis berterima kasih kepada Baiq Farhatul Wahidah, M.Si dan Yupi Isnaini, M.Si selaku pembimbing dalam kegiatan KP (Kerja Praktik). Ibu Irma selaku asisten dalam pelaksanaan Kerja Praktik.

DAFTAR PUSTAKA

Andriani, D. & Heriansyah, P. (2021). Identifikasi jamur kontaminasi pada berbagai eksplan kultur jaringan anggrek

- alam (*Bromheadia finlaysoniana* (lind.) Miq. *Agricultural Journal*, 4(2),192-199.
- Arditti, J. & R. Ernst. (1993). *Micropropagation of Orchid*. New York: John Wiley and Sons.
- Arifki, H.A. & Berlina, M.I. (2018). Karakteristik dan manfaat tumbuhan pisang Indonesia. *Farmaka*, 16(3), 196-203
- Arti, L.S. & Mukarlina. (2017). Multiplikasi anggrek bulan (*Dendrobium sp.*) dengan penambahan ekstrak Taoge dan *benzyl amino purine* (BAP) secara *in vitro*. *Protobiont*, 6(3), 278-282.
- Bidhari, L.A. (2018). Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Ekstra Buah Tomat terhadap Multiplikasi Tunas Pisang Ambon Secara *In Vitro*. Tesis. UNS Surakarta.
- Christenhusz, M.J.M & Byng, J.W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa* 261(3), 201–217.
- Clayton, D. (2002). *The Genus Coelogyne : A Synopsis*. Malaysia: Natural History Publications (Borneo).
- Elfiani & Jakoni. (2015). Sterilisasi eksplan dan sub kultur anggrek, sirih merah dan krisan pada perbanyakan tanaman secara *in vitro*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. XXX(2), 117 – 124.
- Gunawan, L.W. (1992). *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: IPB University
- Elizabeth, H., Puspitaningtyas, D.M., & Garvita, R.V. (2016). Konservasi *Paphiopedilum supardi* Braem & Loeb dengan metode penyimpanan biji dan perbanyakan secara *in vitro*. *Buletin Kebun Raya*, 19(1), 117-128.
- Hakim, M.H. (2015). *Cryopreservation of Coelogyne dayanum Seeds by Vitrification*. Prosiding 11nd International Orchid Symposium. Acta Horticulture 1078.
- Hartati, S., Retna B A, Brigita, R.H, & Cahyono, O. (2022). The effect of auxin and cytokinin on black orchid hybrid (*Coelogyne pandurata* Lindley) *in vitro*. *International Journal*, 12(3), 981-986.
- Hartati, S,A., Yunus, & Djoar, D.W. (2019). Teknik hibridisasi anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindley) untuk memperkaya keanekaragaman genetik dan menyelamatkan kepunahan genetik. *Jurnal Pertanian*, 25(4), 751-755.
- Idly, Saputra, N., Lusmaniar & Syamsudin, T. (2021). Pengaruh Penambahan Ekstra Nabati ke dalam Media Alternatif Subkultur Terhadap Planlet Anggrek *Dendrobium sp.* [Thesis]. Palembang: Universitas Tamansiswa Palembang.
- Kaur, S. & Bhutani, K.K. (2013). *In vitro* mass propagation of ornamentally and medicinally important *Coelogyne flaccida* Lindl. through Pseudobulb Segments. *Plant Tissue Culture & Biotechnology*, 23(1), 39-47
- De Kalyan, K & Sil, S. (2015). Protocorm-like bodies and plant regeneration from foliar explants of *Coelogyne Flaccida*, a horticulturally and medicinally important endangered orchid of Eastern Himalaya. *LANKESTERIANA*, 15(2), 151–158.
- Lalla, M. & Sudiarta I.M. (2022). Pengembangan tanaman anggrek di kawasan wisata Hutan Pinus Motilango Kecamatan Tibawa Kabupaten Gorontalo. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 3(2), 87 - 91.
- Lestari, E.G. (2008). *Kultur Jaringan*. AkaDemia.
- Lestari, N.K.D & Deswiniyanti, N.W. (2015). Perbanyakan anggrek hitam (*Coelogyne Pandurata*) dengan media organik dan vacin went secara *in vitro*. *Jurnal Virgin*, 1(1), 30-39.
- Lestari, E.G. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63-68
- Lindley, J. (1821). *Collectanea Botanica*. London: The Biodiversity Heritage
- Pangestika, D., Samanhudi & Trihatyanto, E. (2015). Kajian pemberian IAA dan paclobutrazol terhadap pertumbuhan

- eksplan bawang putih. *JKB*, 16,(9), 34-46.
- Panjaitan, E. (2005). Respon pertumbuhan tanaman anggrek (*Dendrobium* sp.) terhadap pemberian BAP dan NAA secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*, 3(3), 45-51.
- Prasetyo, C. H. 2009. Teknik Kultur Jaringan Anggrek *Dendrobium* sp. di Pembudidayaan Anggrek Widorokandang Yogyakarta. [skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Prihatmanti, D. 2002. Penggunaan ZPT NAA dan BAP serta Air Kelapa untuk Menginduksi Organogenesis Tanaman Anthrum (*Anthurium andraeanum* Linden ex Andre). [Skripsi]. Bogor: IPB University.
- Rodinah R, Hardarani N, & Ariani HD. (2018). Modifikasi media dan periode subkultur pada kultur jaringan pisang talas (*Musa parasidiaca* VAR. SAPIENTUM L.). *Jurnal Hexagro*, 2(2), 1-6.
- Rahmah, S., Tintrim R., Hayati, A. (2018). Kajian penambahan bahan organik pada media tanam VW pada organogenesis anggrek *Dendrobium* secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Sains Alami*, 1(1), 93-103.
- Semiarti, E. (2018). Orchid Biotechnology For Indonesian Orchids Conservation and Industry. Cite as: AIP Conference Proceedings.
- Santoso, U. & Nursandi, F. (2001). *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Penerbitan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Sari, L.N.I. (2016). Studi Perbanyakan *In Vitro* Anggrek *Coelogyne Dayana* pada Berbagai Konsentrasi Iaa Dan Bap. [Artikel Ilmiah]. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sriyanti, D. & Wijayanti, A. (1994). *Teknik Kultur Jaringan – Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Kanisus : Yogyakarta.
- Teoh, E.S. (2021). *Coelogyne Lindl. In: Orchid Spesies from Himalaya and Southeast Asia*. Singapore: Springer Cham.
- Utami, E.S.W., Hariyanto, S., & Manuhara, Y.S.W. (2016). Pengaruh pemberian ekstrak pisang pada media VW terhadap induksi akar dan pertumbuhan tunas *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. *Agrotrop*, 6(1), 35-42.
- Yusnita. (2004). *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.