

Isyraq, M. · L. Amalia · I. Aisyah

Pengaruh air kelapa sebagai sitokinin organik dan sukrosa terhadap pertumbuhan *protocorm* anggrek (*Phalaenopsis hybrid* MP 253 x F1 3363 (M)) *in vitro*

Sari. Sitokinin dan sukrosa dibutuhkan untuk meregenerasi *protocorm* anggrek. Air kelapa diketahui memiliki kandungan sitokinin sehingga berpotensi dijadikan sebagai sitokinin organik. Percobaan ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi air kelapa sebagai sitokinin organik dan sukrosa terhadap pertumbuhan *protocorm* anggrek. Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Winaya Mukti, Kecamatan Tanjungsari Kabupaten Sumedang. Percobaan dimulai pada bulan Mei sampai dengan bulan Agustus 2019. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan dua faktor dan diulang dua kali. Faktor pertama adalah konsentrasi air kelapa, terdiri dari lima taraf yaitu 0 mL L⁻¹, 50 mL L⁻¹, 100 mL L⁻¹, 150 mL L⁻¹, dan air kelapa 200 mL L⁻¹. Faktor kedua adalah konsentrasi sukrosa dengan lima taraf, yaitu 0 g L⁻¹, 10 g L⁻¹, 20 g L⁻¹, 30 g L⁻¹ dan 40 g L⁻¹. Hasil percobaan menunjukkan terjadi pengaruh interaksi pada pengamatan jumlah daun umur 12 MST dan bobot segar *protocorm*. Perlakuan air kelapa 50 mL L⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan jumlah daun yang paling baik dari perlakuan lainnya. Bobot segar *protocorm* menunjukkan hasil yang terbaik pada umur 12 MST pada konsentrasi air kelapa 100 mL L⁻¹ dengan tanpa sukrosa.

Kata kunci: Air kelapa · *In vitro* · *Protocorm* anggrek · Sukrosa

Effect of coconut water as organic cytokinin and sucrose on growth of orchid protocorm (*Phalaenopsis hybrid* MP 253 x F1 3363 (M)) *in vitro*

Abstract. Cytokinins and sucrose are needed to regenerate orchid protocorms. Coconut water contains cytokinin so that it has the potential to be used as organic cytokinin. This experiment aims to study the effect of coconut water and sucrose concentrations on the growth of orchid protocorms. This experiment was carried out at the Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, University Winaya Mukti Tanjungsari, Sumedang. The experiment was conducted from May to August 2019. The experimental design used a randomized block design with two factors and was repeated twice. The first factor was coconut water concentration, consisted by five levels: 0 mL L⁻¹, 50 mL L⁻¹, 100 mL L⁻¹, 150 mL L⁻¹, and 200 mL L⁻¹. The second factor was sucrose concentration, consisted by five levels: 0 mL L⁻¹, 10 g L⁻¹, 20 g L⁻¹, 30 g L⁻¹ and 40 g L⁻¹. The results of the experiment showed that there were the interaction effect of coconut water and sucrose concentrations on the number of leaves and fresh weight of protocorms. Treatment of 50 mL L⁻¹ coconut water treatment with no sucrose showed the best number of leaves, compared to other treatments. The best fresh weight of protocorm was given by treatment of coconut water 100 mL L⁻¹ without sucrose.

Keywords: Coconut water · *In vitro* · Orchid protocorm · Sucrose

Diterima : 26 Januari 2021, Disetujui : 10 April 2021, Dipublikasikan : 16 April 2021
doi: <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v20i1.29419>

Isyraq, M.¹ · L. Amalia² · I. Aisyah²

¹Mahasiswa, Fakultas Pertanian Universitas Winaya Mukti

²Dosen, Fakultas Pertanian Universitas Winaya Mukti

Korespondensi: israqmuhammad02@gmail.com

Pendahuluan

Tanaman anggrek dengan segala keunikannya telah menarik perhatian para botanis yang menyukai tanaman hias sejak dua abad yang lalu. Famili *orchidaceae* terdiri dari 800 genus dan tidak kurang dari 30.000 spesies, baik yang memiliki nilai komersil maupun anggrek-anggrek yang belum memiliki nilai komersil. Penelitian-penelitian yang intensif, terutama dalam budidaya, difokuskan pada beberapa jenis anggrek yang dewasa ini mempunyai nilai komersial seperti anggrek *Phalaenopsis* (Gunawan, 2008). Hal ini dapat dilihat melalui keberadaannya di tempat-tempat penting seperti istana, hotel berbintang, pesta besar, dan acara penting lainnya (Setiawan dan Setiawan, 2006). *Phalaenopsis* merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak diminati oleh masyarakat dan konsumen (Zasari *et al.*, 2015). Selain itu *Phalaenopsis* merupakan tanaman yang menguasai pasar anggrek dunia. Pesona anggrek ini berhasil merambah hingga seluruh Asia, Eropa, bahkan hingga Amerika (Angkasa, 2018).

Anggrek memiliki prospek yang cukup baik dalam dunia bisnis tanaman hias dikarenakan nilai jual yang tinggi dan menjanjikan keuntungan yang besar (Setiawati *et al.*, 2016). Permintaan pasar anggrek terus meningkat dapat dibuktikan bahwa Indonesia masih mengimpor tanaman anggrek dari luar negeri, secara keseluruhan rata-rata nilai impor anggrek selama periode tahun 2015-2019 mengalami peningkatan sebesar 69,06 % setiap tahun dan (BPS, 2019), pada tahun 2014 negara pengimpor anggrek berjumlah 8 negara yaitu Jepang, Singapura, Australia, Taiwan, Arab, Qatar, Malaysia dan Thailand, sedangkan pada tahun 2015 negara pengimpor anggrek hanya 4 negara, seperti Jepang, Singapura, Australia dan Taiwan (Badan Pusat Statistik, 2015).

Perbanyakan *in vitro* pada anggrek lazim dilakukan untuk memperbanyak tanaman dalam jumlah yang banyak dan waktu yang singkat. Perbanyakan *protocorm*, yaitu bagian tanaman yang belum terjadi deferensiasi menjadi akar, batang, ataupun daun, dilakukan agar menghasilkan anggrek dengan banyak dan cepat (Abbas, 2011). Sitokinin merupakan salah satu Zat Pengatur Tumbuh yang memiliki peran dalam pembelahan sel yang dibutuhkan untuk perbanyakan *protocorm*

(Abidin, 1982). Air kelapa didominasi oleh sitokinin, sehingga dapat dijadikan sitokinin organik untuk meregenerasi *protocorm* anggrek (Latham, 1967). Konsentrasi sukrosa dalam medium cair juga memiliki peran penting dalam regenerasi *protocorm* (Masnoddin *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu penelitian mengenai pengaruh air kelapa sebagai sitokinin organik dan sukrosa dalam perbanyakan *in vitro* anggrek dari *protocorm*.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan dengan metode percobaan yang dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Winaya Mukti, Desa Gunungmanik, Kecamatan Tanjungsari, Kabupaten Sumedang, Provinsi Jawa Barat pada bulan Mei 2019 sampai dengan bulan Agustus 2019.

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah *protocorm* anggrek *Phalaenopsis* (MP 253 × F1 3363 (M)) hasil dari penyemaian biji yang telah berumur satu tahun, media Murashige dan Skoog (MS), aquadest, air kelapa muda (dari jenis kelapa hijau), sukrosa (gula pasir berwarna putih yang berasal dari sari tebu), PVP (*Poli Venol Piroolidon*) sebagai penyerap senyawa *venol* dan sebagai pencegah *browning*, PPM (*Plant Preservative Mixture*) sebagai penghambat tumbuh dan berkembangnya jamur dan bakteri, formalin bubuk, alkohol 70%, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, pH indikator, *clorox*, sabun pencuci piring, kapas, *tissue*, plastik, karet gelang, dan kertas label.

Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah botol kaca transparan, tutup botol dari karet, *beaker glass*, *petridish*, corong kaca, spatula, pinset, batang pengaduk, pisau, *scalpel*, sikat botol, sikat cuci, baki plastik, timbangan analitik, panci, kompor, *autoclave*, enkas, *shaker*, statif, termometer bola basah dan bola kering, *timer automatic*, lampu TL (*Tubular Lamp*) 18 Watt, milimeter blok, alat tulis, penggaris, *light meter* dan kamera.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL pola Faktorial) yang terdiri dari 2 faktor dan 2 ulangan, dimana setiap plot terdiri dari dua botol. Rancangan perlakuan terdiri dari 2 faktor, faktor pertama adalah konsentrasi air kelapa (A) dan faktor kedua adalah konsentrasi sukrosa (S). Faktor

pertama pada percobaan adalah konsentrasi air kelapa, yang terdiri dari tanpa air kelapa (0 mL L⁻¹), 50 ml L⁻¹, 100 ml L⁻¹, 150 ml L⁻¹ dan 200 ml L⁻¹. Faktor kedua yaitu konsentrasi sukrosa, terdiri dari tanpa sukrosa (0 g L⁻¹), 10 g L⁻¹, 20 g L⁻¹, 30 g L⁻¹ dan 40 g L⁻¹. Komposisi media utama yaitu ½ MS, PPM 0,5 ml L⁻¹, dan PVP 0,25 g L⁻¹. Pengamatan utama dilakukan pada jumlah *protocorm*; jumlah daun; jumlah akar; berat segar, ukuran, dan fase *protocorm*; dan jumlah planlet terbentuk. Pengamatan penunjang dilakukan pada iklim mikro; warna *protocorm*; persentase kematian *protocorm*; dan tingkat kontaminasi.

Hasil dan Pembahasan

Pengamatan penunjang. Pengamatan penunjang merupakan pendukung data dari hasil pengamatan utama yang meliputi suhu, kelembaban, cahaya, warna *protocorm*, jumlah *protocorm* mati, dan tingkat kontaminasi

Rata-rata suhu, kelembaban dan cahaya ruangan. Rata-rata suhu ruangan yaitu 25°C sementara rata-rata kelembaban dalam satu hari yaitu 86,54 %. Suhu ruangan berada dalam kisaran suhu optimal pertumbuhan *protocorm*. Kelembaban mempengaruhi tingkat keberhasilan dalam budidaya anggrek secara *in vitro*. Budidaya *in vitro* dikenal memiliki kelembaban udara yang lebih rendah di sekitar planlet (Sasongko *et al.*, 2016).

Total keseluruhan intensitas cahaya dalam satu hari, yaitu 3191,862 FC. Cahaya sangat penting bagi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman pada kultur *in vitro* (Zulkarnain, 2014). Kinetin dan sitokinin yang terlibat dalam pembentukan klorofil dalam kalus akan bekerja apabila terdapat cahaya (Sari *et al.*, 2018).

Warna *protocorm*. Warna *protocorm* bervariasi dimana variasi ini memunculkan sembilan warna, diantaranya hijau, hijau kekuningan, hijau putih, hijau kecoklatan, hijau kehitaman, putih transparan, coklat, coklat putih dan coklat kehitaman. Warna *protocorm* menunjukkan bahwa tingkat atau kandungan klorofil terkandung pada *protocorm* untuk warna *protocorm* yang paling baik yaitu pada perlakuan a₂s₀ dengan air kelapa 100 ml L⁻¹ dan tanpa sukrosa dimana *protocorm* berwarna hijau. Penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2018), menunjukkan bahwa pada kombinasi 2,4 D dan kinetin pada media MS menyebabkan

pembentukan kalus pada tanaman sarang semut dimana warna kalus di semua perawatan berkisar dari kuning dan hijau kekuningan. Variasi warna yang dihasilkan karena terdapat berbagai jenis regulator pertumbuhan. Salah satunya kombinasi antara auksin dan sitokinin menghasilkan warna kalus yang lebih hijau, warna kalus ini disebabkan adanya sitokinin yang berfungsi untuk mempromosikan pembentukan klorofil.

Persentase kematian *protocorm*. Jumlah *protocorm* mati yaitu *protocorm* tidak tumbuh dan berkembang dengan ciri *protocorm* berubah warna dari yang warnanya hijau berubah menjadi kuning pucat dan pada akhirnya berwarna putih hingga bening. Hal ini menandakan bahwa terjadi peristiwa plasmolisis dimana zat hijau (klorofil) pada *protocorm* pecah. Pada kalus yang berwarna kuning disebabkan oleh proses degradasi klorofil, kekurangan kinetin, dan konsentrasi kinetin yang rendah. Selain itu, kinetin berperan dalam pembentukan klorofil, yang menyebabkan warna hijau muncul (Sari *et al.*, 2018). Menurut Jung *et al.* (2013), konsentrasi sukrosa yang tinggi akan memicu penurunan perkembangan dan akan mengalami stress akibat tekanan osmotik. Hasil hidrolisis sukrosa pada konsentrasi yang lebih tinggi akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan. *Protocorm* mati dihitung pada akhir pengamatan yaitu pada 12 MST.

Tabel 1. Jumlah dan persentase *protocorm* mati.

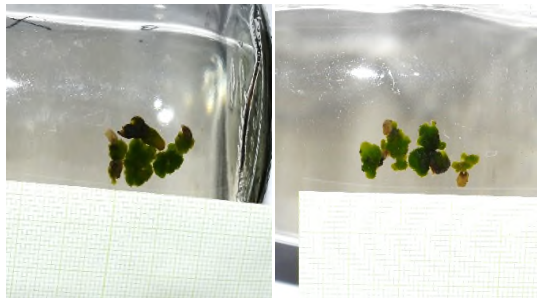
No	Keterangan	Jumlah	Persentase (%)
1	<i>Protocorm</i> mati Ulangan I	80 <i>protocorm</i>	53
2	<i>Protocorm</i> mati Ulangan II	45 <i>protocorm</i>	30
3	<i>Protocorm</i> hidup Ulangan I	71 <i>protocorm</i>	47
4	<i>Protocorm</i> hidup Ulangan II	105 <i>protocorm</i>	70

Tingkat kontaminasi. Tingkat kontaminasi terjadi akibat jamur, jamur dapat menginfeksi dari celah retakan pada botol. Jumlah yang terkontaminasi yaitu 1 botol dengan presentasi kontaminasi 1%.

Pengamatan utama

Jumlah *protocorm*. Hasil analisis pengamatan jumlah *protocorm* pada umur 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 minggu setelah tanam (MST) menunjukkan bahwa tidak ada *protocorm* yang melakukan multiplikasi atau melakukan

penggandaan, diduga karena pengaruh waktu penelitian yang kurang panjang. Pada perlakuan a_{2S_0} menunjukkan bahwa *protocorm* baru akan melakukan multiplikasi, dimana *protocorm* sudah mulai memasuki tahap multiplikasi (Gambar 1).



Gambar 1. Perlakuan a_{2S_0} umur 12 MST, kiri: Ulangan I, kanan: Ulangan II.

Jumlah daun. Pada pengamatan jumlah daun, terdapat pengaruh interaksi antara air kelapa dan sukrosa pada umur 4 MST (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 2, umur 4 MST menunjukkan adanya interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun. Pada umur 4 MST, perlakuan air kelapa 100 ml L⁻¹ tanpa sukrosa menunjukkan jumlah daun yang paling baik daripada perlakuan lainnya. Arditti dan Ernst (1993) menyatakan bahwa PLB menghasilkan tunas pada media bebas gula.

Berdasarkan Tabel 3, jumlah daun pada umur 6 MST dipengaruhi oleh adanya pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa. Perlakuan air kelapa 50 mL L⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan jumlah daun yang paling banyak daripada perlakuan lainnya. Menurut (Baque *et al.*, 2011) 50 ml L⁻¹ air kelapa pada media meningkatkan pertumbuhan tunas. Menurut Tuhuteru *et al.* (2012), waktu tercepat munculnya kuncup daun pada tanaman angrek dengan konsentrasi air kelapa 50 mL L⁻¹.

Berdasarkan Tabel 4, pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun terjadi pada umur 12 MST. Perlakuan air kelapa 50 mL L⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan jumlah daun yang paling baik daripada perlakuan lainnya. Menurut Harahap (2014), menunjukkan bahwa dalam perlakuan MS dan *growmore* medium, tampak bahwa jumlah daun meningkat dengan memberikan dosis rendah air kelapa (5% pada media MS dan 10% pada media *growmore*).

Media dengan konsentrasi air kelapa 50 ml L⁻¹ merupakan media optimum dalam menghasilkan jumlah daun tertinggi (Tuhuteru *et al.*, 2012).

Perlakuan tidak mempengaruhi jumlah daun yang terbentuk pada umur 2 MST, sedangkan pada umur 8 dan 10 MST konsentrasi air kelapa 100 dan 150 mL L⁻¹ menunjukkan lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Tabel 5). Pada pengamatan jumlah daun umur 2, 8, dan 10 MST, perlakuan sukrosa menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata dibandingkan kontrol. Hal ini diduga pada umur 2, 8, dan 10 MST, sukrosa tidak diperlukan. *Protocorm like bodies* (PLB) dalam media yang bebas dari pasokan sukrosa menunjukkan pembentukan daun primordia (Julkiflee *et al.*, 2014).

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun pada umur 2, 8 dan 10 MST.

Perlakuan	Jumlah Daun					
	2 MST		8 MST		10 MST	
Air Kelapa (A)						
a_0 (Tanpa Air Kelapa)	0,20	a	0,00	a	0,00	a
a_1 (50 ml L ⁻¹)	0,10	a	0,30	ab	0,30	ab
a_2 (100 mL L ⁻¹)	0,20	a	0,60	b	0,30	ab
a_3 (150 ml L ⁻¹)	0,00	a	0,40	ab	0,60	b
a_4 (200 ml L ⁻¹)	0,00	a	0,35	ab	0,25	ab
Sukrosa (S)						
s_0 (Tanpa Sukrosa)	0,20	a	0,80	b	0,50	a
s_1 (10 g L ⁻¹)	0,10	a	0,35	ab	0,45	a
s_2 (20 g L ⁻¹)	0,10	a	0,30	ab	0,30	a
s_3 (30 g L ⁻¹)	0,00	a	0,00	a	0,00	a
s_4 (40 g L ⁻¹)	0,10	a	0,20	ab	0,20	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Jumlah akar. Hasil pengamatan jumlah akar umur 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 MST, menunjukkan bahwa tidak terbentuknya akar, maka pada pengamatan ini tidak dilakukan analisis secara statistik. Jumlah akar setelah dilakukannya pengamatan menunjukkan bahwa akar tidak muncul, ini disebabkan tingkat kandungan sitokinin yang tinggi dan auksin yang rendah sehingga menghambat terjadinya pertumbuhan akar (Abbas, 2011).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun pada umur 4 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s ₀ (Tanpa Sukrosa)	s ₁ (10 g L ⁻¹)	s ₂ (20 g L ⁻¹)	s ₃ (30 g L ⁻¹)	s ₄ (40 g L ⁻¹)					
a ₀ (Tanpa Air Kelapa)	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₁ (50 ml L ⁻¹)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
a ₂ (100 ml L ⁻¹)	1,00	ab	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₃ (150 ml L ⁻¹)	1,00	ab	1,00	b	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₄ (200 ml L ⁻¹)	0,00	a	1,00	b	0,00	a	0,00	a	0,50	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun pada umur 6 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s ₀ (Tanpa Sukrosa)	s ₁ (10 g L ⁻¹)	s ₂ (20 g L ⁻¹)	s ₃ (30 g L ⁻¹)	s ₄ (40 g L ⁻¹)					
a ₀ (Tanpa Air Kelapa)	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₁ (50 ml L ⁻¹)	2,50	d	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₂ (100 ml L ⁻¹)	1,50	cd	1,00	b	0,00	a	0,00	a	0,00	a
a ₃ (150 ml L ⁻¹)	0,50	ab	1,50	b	0,00	a	0,00	a	0,50	ab
a ₄ (200 ml L ⁻¹)	1,00	bc	0,00	a	0,00	a	0,00	a	1,00	b

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap jumlah daun pada umur 12 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s ₀ (Tanpa Sukrosa)	s ₁ (10 g L ⁻¹)	s ₂ (20 g L ⁻¹)	s ₃ (30 g L ⁻¹)	s ₄ (40 g L ⁻¹)					
a ₀ (Tanpa Air Kelapa)	0,00	a	0,00	a	0,00	a	0,00	A	0,00	a
a ₁ (50 ml L ⁻¹)	2,00	b	0,00	a	0,00	a	0,00	A	0,00	a
a ₂ (100 ml L ⁻¹)	0,00	a	0,50	a	1,00	a	0,00	A	0,50	a
a ₃ (150 ml L ⁻¹)	1,00	ab	0,00	a	0,00	a	0,00	A	1,00	a
a ₄ (200 ml L ⁻¹)	0,50	ab	0,00	a	0,00	a	0,00	A	0,00	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Ukuran protocorm. Berdasarkan Tabel 6, menunjukkan bahwa tidak terjadi pengaruh interaksi antara perlakuan air kelapa dan sukrosa terhadap ukuran *protocorm* 4, 8, 10, dan 12 MST. Pada perlakuan air kelapa, ukuran *protocorm* umur 4 MST tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan, sedangkan pada umur 8, 10 dan 12

MST dengan taraf air kelapa 50 mL⁻¹ menunjukkan ukuran *protocorm* yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol, namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi yang lain. Perlakuan tanpa sukrosa menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan perlakuan berbagai konsentrasi sukrosa. Hal ini menunjukkan bahwa pada rentang waktu 8, 10, dan 12 MST, sukrosa tidak diperlukan. Ini disebabkan tanpa adanya penambahan perlakuan sukrosa, tidak terjadinya penghambatan dalam bertambah besarnya ukuran *protocorm*.

Tabel 6. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap ukuran protocorm (mm) pada umur 4, 8, 10 dan 12 MST.

Perlakuan	Ukuran <i>Protocorm</i> (mm)							
	4 MST		8 MST		10 MST		12 MST	
Air Kelapa (A)								
a ₀ (Tanpa Air Kelapa)	4,87	a	3,89	a	3,83	a	3,98	a
a ₁ (50 ml L ⁻¹)	5,06	a	5,35	b	5,58	b	5,55	b
a ₂ (100 ml L ⁻¹)	5,20	a	5,79	b	5,65	b	6,04	b
a ₃ (150 ml L ⁻¹)	5,02	a	5,08	b	5,52	b	5,79	b
a ₄ (200 ml L ⁻¹)	4,53	a	4,72	b	4,76	b	4,92	b
Sukrosa (S)								
s ₀ (Tanpa Sukrosa)	5,07	a	5,21	a	5,33	a	5,63	a
s ₁ (10 g L ⁻¹)	4,63	a	4,42	a	4,48	a	4,78	a
s ₂ (20 g L ⁻¹)	5,14	a	5,15	a	5,34	a	5,61	a
s ₃ (30 g L ⁻¹)	4,91	a	5,04	a	4,84	a	5,14	a
s ₄ (40 g L ⁻¹)	4,91	a	5,01	a	5,36	a	5,10	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Berdasarkan Tabel 7, ukuran *protocorm* pada umur 2 MST dipengaruhi pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa. Perlakuan air kelapa 100 mL⁻¹ dengan sukrosa 40 g L⁻¹ menunjukkan yang terbaik pada ukuran *protocorm* umur 2 MST.

Tabel 7. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap ukuran protocorm pada umur 2 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s ₀ (Tanpa Sukrosa)	s ₁ (10 g L ⁻¹)	s ₂ (20 g L ⁻¹)	s ₃ (30 g L ⁻¹)	s ₄ (40 g L ⁻¹)					
a ₀ (Tanpa Air Kelapa)	5,00	a	4,53	a	5,75	a	5,13	a	4,00	a
a ₁ (50 ml L ⁻¹)	4,25	a	4,78	a	4,79	a	3,67	a	3,96	a
a ₂ (100 ml L ⁻¹)	4,92	a	4,08	a	5,05	a	4,47	a	6,50	b
a ₃ (150 ml L ⁻¹)	5,17	a	4,80	a	4,92	a	5,00	a	4,27	a
a ₄ (200 ml L ⁻¹)	4,79	a	4,65	a	5,13	a	4,58	a	5,35	ab

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Menurut Arditti dan Ernst (1993), 10% air kelapa dan 0,5 ppm 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D) memberikan pertumbuhan kalus

yang terbaik pada media yang mengandung glukosa tetapi bebas dari auksin dan garam media yang mengandung 10% air kelapa. Regenerasi wujud terjadi pada larutan media yang mengandung sukrosa, 10% air kelapa, serta tidak adanya auksin. Karbohidrat berfungsi sebagai sumber energi dalam medium, sementara air kelapa dan sukrosa juga bertindak untuk melengkapi tekanan osmotikum dalam kultur sel tanaman dan perkembangan *protocorm* secara signifikan (Huh *et al.*, 2016). *Protocorm* sebagai hasil *in vitro* memiliki kemampuan untuk berfotosintesis yang rendah, sehingga membutuhkan tambahan gula untuk tumbuh (Sasongko *et al.*, 2016).

Tabel 8. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap ukuran *protocorm* pada umur 6 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s_0 (Tanpa Sukrosa)	s_1 (10 g L ⁻¹)	s_2 (20 g L ⁻¹)	s_3 (30 g L ⁻¹)	s_4 (40 g L ⁻¹)					
a_0 (Tanpa Air Kelapa)	5,13	a	4,40	a	5,00	a	5,25	a	4,17	a
a_1 (50 ml L ⁻¹)	5,27	a	5,75	a	5,29	a	5,58	a	5,33	ab
a_2 (100 ml L ⁻¹)	5,88	a	5,42	a	5,22	a	5,20	a	6,50	b
a_3 (150 ml L ⁻¹)	5,83	a	5,37	a	5,50	a	5,40	a	4,17	a
a_4 (200 ml L ⁻¹)	5,21	a	4,65	a	5,42	a	4,50	a	5,40	ab

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5 %.

Berdasarkan Tabel 8, ukuran *protocorm* pada umur 6 MST dipengaruhi interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa. Perlakuan air kelapa 150 mL⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan ukuran *protocorm* yang baik pula. Menurut Mondal *et al.* (2012), ketika air kelapa ditambahkan dalam medium, terjadi peningkatan yang signifikan dalam eksplan yang menunjukkan regenerasi tunas sebanyak 75 % pada penggunaan air kelapa sebanyak 100 mL⁻¹ dan 74 % pada penggunaan air kelapa sebanyak 150 mL⁻¹.

Bobot segar *protocorm*. Hasil analisis statistik bobot segar *protocorm* pada 12 MST tersaji pada Tabel 9.

Berdasarkan Tabel 9, bobot segar *protocorm* pada umur 12 MST dipengaruhi adanya interaksi antara konsentrasi air kelapa dan sukrosa. Perlakuan air kelapa 100 mL⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan hasil yang terbaik pada bobot segar *protocorm* umur 12 MST, namun tidak berbeda nyata dengan 50, 150, dan 200 mL

air kelapa tanpa sukrosa. Pada perlakuan sukrosa 10 g L⁻¹, semua konsentrasi air kelapa tidak berbeda nyata.

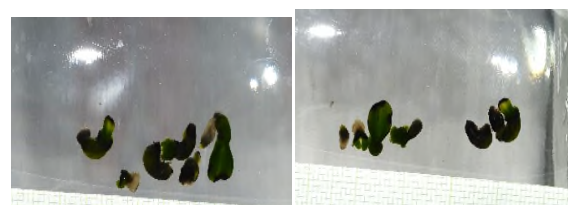
Tabel 9. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terhadap bobot segar *protocorm* pada umur 12 MST.

Air Kelapa	Sukrosa									
	s_0 (Tanpa Sukrosa)	s_1 (10 g L ⁻¹)	s_2 (20 g L ⁻¹)	s_3 (30 g L ⁻¹)	s_4 (40 g L ⁻¹)					
a_0 (Tanpa Air Kelapa)	0,009	a	0,011	a	0,017	a	0,019	a	0,009	a
a_1 (50 ml L ⁻¹)	0,033	b	0,037	b	0,015	a	0,018	a	0,020	a
a_2 (100 ml L ⁻¹)	0,066	b	0,019	ab	0,027	a	0,023	a	0,020	a
a_3 (150 ml L ⁻¹)	0,035	b	0,034	b	0,028	a	0,020	a	0,018	a
a_4 (200 ml L ⁻¹)	0,035	b	0,007	ab	0,020	a	0,022	a	0,023	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama (arah vertikal) dan huruf besar yang sama (arah horizontal) menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5 %.

Pada perlakuan a_2s_0 umur 12 MST (Gambar 1), menunjukkan bahwa ukuran *protocorm* yang cukup besar yang mana mempengaruhi hasil dari penimbangan bobot segar *protocorm* yaitu pada perlakuan air kelapa 100 mL⁻¹ dan tanpa sukrosa. Hal ini sejalan dengan pendapat Zasari *et al.* (2015), bahwa penambahan air kelapa 100 mL⁻¹ dalam media ½ MS menunjukkan hasil terbaik salah satunya bobot basah. *Protocorm like bodies* (PLB) menghasilkan tunas pada media yang terbebas dari gula (Ardittidan Ernst, 1993), serta pembentukan *protocorm* lebih cepat (Jung *et al.*, 2013). Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan air kelapa dengan konsentrasi 50 mL⁻¹ menunjukkan pertumbuhan *protocorm* yang baik menurut Romeida *et al.* (2018).

Fase *protocorm*. Fase *protocorm* bermacam-macam mulai dari fase oktan, globular, awal hati, hati, torpedo bahkan ada pula yang mencapai dewasa, yaitu pada perlakuan a_1s_0 ulangan 2, bahwa *protocorm* sudah menunjukkan adanya daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Zulkarnain (2014).



Gambar 2. Perlakuan a_1s_0 , kiri umur: 10 MST, kanan Umur: 12 MST.

Jumlah planlet terbentuk. Planlet merupakan tanaman dewasa dimana bagian tanaman sudah tidak berbentuk *protocorm* atau

bagian tanaman yang belum dapat dideferensiasi mana bagian akar, daun dan batang. Pada penelitian ini *protocorm* umur 12 MST tidak menunjukkan adanya perubahan dari *protocorm* kearah planlet atau tanaman sempurna yang memiliki akar, batang, namun ada beberapa perlakuan yang memunculkan daun. Pada penelitian ini tidak ada yang menunjukkan perubahan secara signifikan dimana *protocorm* mengalami fase organogenesis atau tanaman sempurna, dari bentuk *protocorm* hingga menjadi planlet atau tanaman yang memiliki kondisi tubuh yang lengkap seperti akar, batang dan daun Zulkarnain (2014). Hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan mengenai pengaruh konsentrasi air kelapa dan sukrosa terjadi interaksi pada pengamatan jumlah daun umur 12 MST pada perlakuan air kelapa 50 mL⁻¹ dengan tanpa sukrosa menunjukkan jumlah daun yang paling baik dari perlakuan lainnya. Bobot segar *protocorm* menunjukkan hasil yang terbaik pada umur 12 MST di pengaruhi adanya interaksi antara konsentrasi air kelapa 100mL⁻¹ dengan tanpa sukrosa.

Daftar Pustaka

Abbas, B. 2011. Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan. Alfabeta, Bandung.
Abidin, Z. 1982. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa, Bandung.
Angkasa, S. 2018. Cara Agar Anggrek Bulan Rajin Berbunga. Trubus Swadaya, Jakarta.
Arditti, J dan Ernst, R. 1993. Micropropagation of Orchids. Department of Developmental and Cell Biology. University of California, irvine California.
Badan, S.P. 2015. Statistik Tanaman Hias Statistics of Ornamental Plants Indonesia. Jakarta.
Baque, M.A., Y.-K. Shin, T. Elshmary, E.-J. Lee, and K.-Y. Paek. 2011. Effect of Light Quality, Sucrose and Coconut Water Concentration on The Micropropagation of Calanthe Hibrids ('Bukduseong' × 'Hyesung' and 'Chunkwang' × 'Hyesung').

Aust. J. Crop Sci. 5: 1247-1254.
Gunawan, L.. 2008. Budidaya Anggrek. Edisi Revi. Penebar Swadaya, Jakarta.
Huh, Y.S., J.K. Lee, S.Y. Nam, E.Y. Hong, K.Y. Paek, et al. 2016. Effects of altering medium strength and sucrose concentration on in vitro germination and seedling growth of *Cypripedium macranthos* Sw. J. Plant Biotechnol. 43(1): 132-137. doi: 10.5010/JPB.2016.43.1.132.
Julkiflee, A.L., J. Uddain, and S. Subramaniam. 2014. Efficient micropropagation of *Dendrobium sonia-28* for rapid PLBs proliferation. Emirates J. Food Agric. 26(6): 545-551. doi: 10.9755/ejfa.v26i6.18020.
Jung, W.P., S. Chin, C.Y. Lee, and F. Chen. 2013. Effect of sucrose concentration and seed maturity on in vitro germination of *Dendrobium nobile* hybrids. doi: 10.1007/s10725-013-9856-x.
Letham, D.S. 1967. Cytokinins from *Zea mays* (S. Contributions, editor). Canberra, Australia.
Masnoddin, M., R. Repin, and Z. Abd. 2016. Micropropagation of an endangered Borneo Orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* Callus using Temporary Immersion Bioreactor System. 34(2): 161-171. doi: 10.14456/thaidoa-agres.2016.12.
Mondal, S., M.K. Ahirwar, M.K. Singh, P. Singh, and R.P. Singh. 2012. Effect of coconut water and ascorbic acid on shoot regeneration in banana variety Dwarf Cavendish. ASIAN J. Hortic. 7(2): 416-419.
Romeida, A., Supanjani, and S.S. Sinaga. 2018. Low-Cost Media for in vitro Multiplication and Development of *Protocorm* Like Bodies (PLBs) of *Eulophia graminea* Orchid. Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol. 8: 78-84.
Salisbury, F.B., and C.. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan. Jilid Tiga. Perkembangan Tumbuhan dan Fisiologi Lingkungan (Edisi Keempat) (N. Sofia, editor). Bahasa Ind. ITB, Bandung.
Sari, Y.P., E. Kusumawatu, C. Saleh, W. Kus-tiawan, and S. Sukartingsih. 2018. Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. Nusant. Biosci. 10(3): 183-192. doi: 10.13057/nusbiosci/ n100309.
Sasongko, A.B., A. Fatumi, and A. Indrianto. 2016. The Growth Improvement of *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. In Vitro Plantlet using Photoautotrophic

- Micropropagation System. Indones. J. Biotechnol. 21(2): 109. doi: 10.22146/ijbiotech.27167.
- Setiawan, H. dan Setiawan, L. 2006. Merawat Phalaenopsis. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Setiawati, T., M. Nurzaman, E.S. Rosmiati, and G.G. Pitaloka. 2016. Pertumbuhan Tunas Anggrek Dendrobium sp. Menggunakan Kombinasi Benzyl Amino Purin (BAP) dengan Ekstrak Bahan Organik pada Media Vacin and Went (VW). J. Pro-Life 3(3): 143-152.
- Tuhuteru, S.M.L., S.H., Hehanussa, and Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek Dendrobium anosmum pada Media Kultur In Vitro Dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. Agrologia 1: 1-12.
- Zasari, M., Yusnita, and S. O. 2015. Pengaruh Pemberian Berbagai Jenis Adenda Dalam Media $\frac{1}{2}$ MS Terhadap Pertumbuhan Seedling Anggrek Phalaenopsis In Vitro. 8(1): 31-36.
- Zulkarnain. 2014. Kultur Jaringan Tanaman. 1st ed. PT Bumi Aksara, Jakarta.