Pengaruh Pupuk Lengkap dan Kitosan terhadap Pertumbuhan Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida secara *In Vitro*

Halida Adistya Putri[1]; Dewi Sukma[2]
[1]Program Studi Teknologi Produksi Tanaman Perkebunan
Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi – Bekasi
[2]Program Studi Agronomi dan Hortikultura
Institut Pertanian Bogor – Bogor
Email Penulis Korespondensi: [1]halida.adistya@cwe.ac.id

Abstrak

Kesuksesan kegiatan kultur jaringan sangat ditentukan oleh pemilihan media yang digunakan.Media dasar Murashige dan Skoog (MS) merupakan salah satu media dasar kultur jaringan yang banyak digunakan untuk kultur jaringan anggrek serta terbuat dari bahan-bahan kimia murni yang harganya relatif mahal. Pupuk lengkap yang umum dipakai sebagai pengganti media dasar MS adalah pupuk lengkap yang relatif lebih murah dan praktis. Selain penggunaan media dasar yang sesuai, penambahan bahan organik tertentu juga dapat memacu pertumbuhan, perkembangan dan ketahanan tanaman terhadap penyakit, diantaranya adalah kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pupuk lengkap dan kitosan terhadap pertumbuhan PLBs anggrek *Phalaenopsis* hibrida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi media dasar pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) dapat digunakan sebagai media dasar alternatif untuk *Phalaenopsis*, karena media tersebut menghasilkan pertambahan jumlah daun, PLBs dan planlet lebih tinggi dibandingkan media dasar MS1/2. Penambahan kitosan 5 ppm tidak dapat meningkatkan pertumbuhan clump PLBs.

Kata Kunci:

Anggrek hibrida, Kitosan, *Phalaenopsis*, Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20).

Abstract

Tissue culture succes is affected by medium composition. Murashige and Skoog (MS) basic medium composition is a medium tissue culture made from pure chemical substances which relatively expensive. Complete fertilizer commonly used as a replacement for MS basic medium is a complete fertilizer, which is relatively inexpensive and practical. Besides use suitable of basic medium composition, the addition of certain organic compound can also increase growth, development and resistance to disease of plant, such as chitosan. The research aims were to study the effect of complete fertilizer and chitosan on growth of PLBs and planlet Phalaenopsis Orchid Hybrids. The results showed that the basic medium composition complete fertilizer (N: P: K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) can be used as an alternative basal medium, because it can be increased the number of leaves , PLBs and plantlets higher than MS1/2 medium. Chitosan 5 ppm could not increased PLBs clump growth.

Keywords:

Orchid hybrid, Chitosan, Phalaenopsis, Complete fertilizer (N:P:K = 20:20:20).

Copyright © 2021

Pendahuluan

Anggrek merupakan tanaman yang memiliki famili terbesar, dimana sekitar 20 000 - 35 000 spesies dari lima sub famili yang tersebar di seluruh dunia (Dixon *et al.,* 2003). Indonesia mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang sangat pesat dalam bidang hortikultura, terutama tanaman hias yaitu salah satunya adalah anggrek, oleh karena itu hibridisasi atau persilangan anggrek untuk menghasilkan anggrek hibrida terus ditingkatkan untuk memenuhi kebutuhan dan selera pasar serta informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek di Indonesia juga sudah dilakukan (Hidayat & Pancoro, 2008). Anggrek *Phalenopsis* hibrida sangat banyak diminati oleh konsumen karena bunganyayang besar dan bunganya dapat bertahan lama.

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman anggrek yang sudah banyak dilakukan oleh para pemulia anggrek dan terbukti menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dan relatif singkat (Aktar *et al.,* 2008; Kauth *et al.,* 2008; An *et al.,* 2021; Setiaji *et al.,* 2021). Kesuksesan kegiatan kultur jaringan sangat ditentukan oleh pemilihan media yang digunakan. Media kultur mengandung hara makro dan mikro yang dibutuhkan oleh tanaman. Kebutuhan tiap tanaman berbeda pada hal komposisi dan jumlah hara yang diperlukan (Santoso dan Nursandi 2003). Salah satu media dasar yang biasa digunakan pada kultur jaringan anggrek adalah media MS (Murashige dan Skoog) dengan setengah konsentrasi atau biasa disebut dengan media MS1/2. Media dasar MS1/2 merupakanmedia yang terbuat dari bahan- bahan kimia murni yang harganya relatif mahal. Penggunaan media alternatif yang harganya terjangkau sangat diperlukan sebagai pengganti media dasar (media MS1/2). Salah satu media alternatif adalah media yang terbuat dari media pupuk lengkap yang mengandung hara makro dan mikro serta dapat memacu pertumbuhan anggrek. Pupuk lengkap yang umum dipakai sebagai pengganti media dasar MS adalah pupuk lengkap yang relatif lebih murah dan praktis. Media MS 1/2 , Hyponex dan Hyponex + air kelapa 150 ml L-1 dapat menghasilkan planlet sebesar 100 % yang berasal dari protocorm like bodies (PLBs) di minggu ke-16 pada populasi hibrida anggrek *Phalaenopsis* (Andini 2013). Penelitian ini menggunakan media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) yang diharapkan dapat digunakan sebagai media alternatif selain media dasar MS.

Selain penggunaan media dasar yang sesuai, bahan organik tertentu juga dapat memacu pertumbuhan, perkembangan dan ketahanan tanaman terhadap penyakit, diantaranya adalah kitosan. Penggunaan kitosan bagi tanaman dapat berfungsi sebagai anti bakteri dan anti cendawan. Kitosan dapat berikatan dengan protein dengan membran sel diantaranya dengan glutamat yang merupakan komponen membran sel, sehingga berpotensi untuk mencegah bakteri pada tanaman (Suptijah 2006). Uthairatankij *et al.* (2007) menyatakan bahwa kitosan dapat digunakan untuk memacu pertumbuhan anggrek khususnya pada tanaman muda dalam kultur jaringan. Penambahan kitosan 5 ppm dan air kelapa 15% pada media MS1/2 menghasilkan persentase planlet hidup tertinggi pada

Phalaenopsis amabilis (Raynalta 2013). Pertumbuhan anggrek dalam kultur jaringan sangat bergantung pada komposisi media kultur yang digunakan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komposisi media dasar yang sesuai dan pengaruh kitosan untuk pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis* hibrida yang telah dihasilkan.

Metodologi

Kegiatan penelitian ini dilaksanankan di laboratorium kultur jaringan tanaman. Penelitian ini dilaksanakan delapan minggu dengan bahan komposisi media yang digunakan pada penelitian ini adalah media MS1/2, pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20), kitosan, air kelapa, pisang ambon, kentang , arang aktif, gula, agar-agar dan aquades. Bahan tanam yang akan digunakan adalah hasil persilangan dengan kode penyilangan E13 (V3 x PA). Alat yang akan digunakan dalam pembuatan media dan penanaman planlet adalah *Laminar Air Flow Cabinet (LAFC)*, autoklaf, botol kultur berukuran volume 300 ml, timbangan analitik, gelas ukur, pipet, pH meter dan *magnetic stir*.

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitukomposisi media tumbuh. Bahan tanam yang digunakan adalah *clump PLBs* dengan kode penyilangan E13. Media perlakuan terdiri dari MS1/2, Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2g L^{-1}), MS1/2 + kitosan 5 ppm dan Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) + kitosan 5 ppm. Percobaan ini dilakukan dengan tiga ulangan, setiap ulangan terdiri dari lima botol dengan setiap botol terdiri dari tiga *clump PLBs*. Jumlah satuan percobaan adalah 12 satuan percobaan dan jumlah satuan pengamatan 180 *clump PLBs* dengan jumlah botol sebanyak 60 botol. Data dianalisis dengan analisis statistik pada taraf 5%. Apabila hasil uji-F nyata maka uji lanjut yang digunakan adalah Uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* dengan α 5%. Model Rancangan Acak Lengkap:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan pada perlakuan media ke-i ulangan ke-j
μ = Rataan umum
τ_i = Pengaruh perlakuan komposisi media tumbuh
ε_{ij} = Galat percobaan

Peubah pengamatan yang diamati setiap perlakuan adalah:

1. Jumlah *clump PLBs* yang hidup
   Jumlah *clump PLBs* yang hidup dilakukan dengan menghitung jumlah *clump PLBs* yang hidup pada akhir *passage* yaitu 8 MST.
2. Pertambahan jumlah daun
   Pengamatan pertambahan jumlah daun dilakukan dalam selang waktu dua minggu selama 1 *passage*. Pertambahan jumlah daun dihitung dengan cara menghitung jumlah daun yang terbentuk sempurna (saat berada dalam media *in vitro*) dalam satu botol, dimana setiap botol berisi 3 *clump PLBs*.
3. Pertambahan jumlah akar

Pengamatan pertambahan jumlah akar dilakukan dalam selang waktu dua minggu selama 1 *passage*. Pertambahan jumlah akar dihitung dengan cara menghitung jumlahakar yang terbentuk sempurna (saat berada dalam media *in vitro*) dalam satu botol, dimana setiap botol berisi 3 *clump PLBs.*

4. Pertambahan jumlah *PLBs*
   Pengamatan pertambahan jumlah *PLBs* dilakukan selama 1 *passage* dengan menghitung pertambahan jumlah *PLBs* yang hidup selama 1 MST - 8 MST, dalam selang waktu dua minggu.

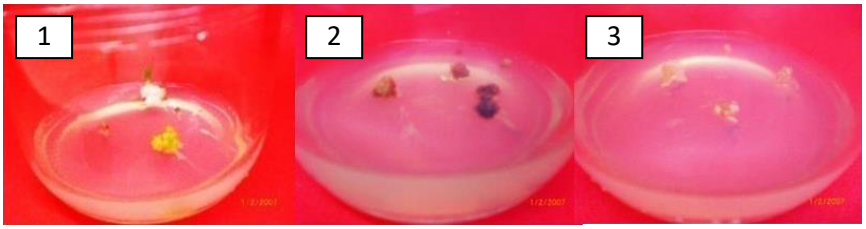
5. Pertambahan jumlah planlet
   Pengamatan jumlah planlet dalam selang waktu dua minggu selama 1 *passage*. Pertambahan jumlah planlet dihitung dengan cara menghitung jumlah planlet yang hidup pada saat berada dalam media *in vitro*.

6. Pertambahan diameter *clump PLBs*
   Pengamatan pertambahan diameter *clump PLBs* dilakukan selama 1 *passage* dengan menghitung pertambahan rata-rata diameter *clump PLBs* yang hidup selama 1 MST - 8 MST, dalam selang waktu dua minggu. Rata-rata diameter *clump PLBs* diperoleh dari 3 *clump PLBs* dalam setiap botol.

Hasil dan Pembahasan

Persentase *Clump PLBs* yang Hidup

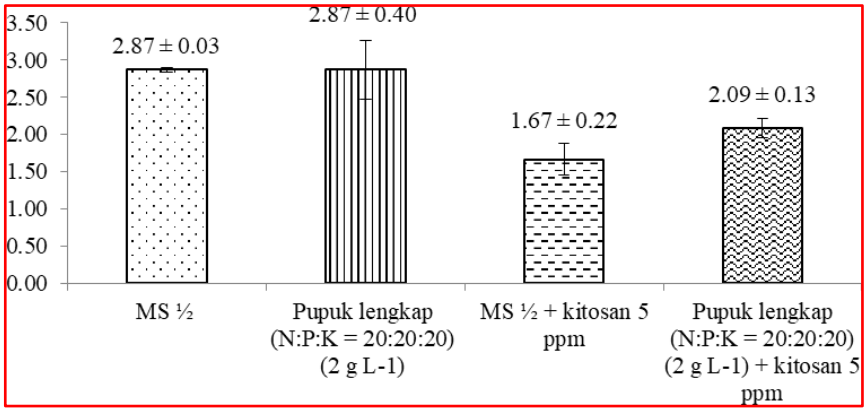
Persentase kontaminasi pada percobaan ini sebesar 4,76%. Kontaminasi disebabkan oleh cendawan (Gambar 1). Kontaminasi diduga disebabkan oleh kondisi ruang kultur yang kurang steril dan pencucian botol yang kurang sempurna. Menurut Yusnita (2012), kontaminasi mikroorganisme dari satu botol kultur mudah menular ke botol kultur lain pada saat pemindahan tanaman ke media baru atau subkultur.



Gambar 1 (A) Kontaminasi yang disebabkan oleh cendawan; (B) Gejala pencoklatan pada *clump PLBs* pada 4 MST; dan (C) *Clump PLBs* tampak berwarna putih pada 4 MST

Perubahan warna pada *clump PLBs* dalam berbagai komposisi media perlakuan berbeda-beda, yakni warna hijau, kuning, cokelat dan bahkan ada yang tampak berwarna putih. Gejala pencokelatan atau berwarna putih pada *clump PLBs* terjadi pada saat 4 MST (Gambar 1). Gejala pencoklatan diduga terjadi adanya senyawa fenol yang teroksidasi pada perlukaan saat pemisahan *clump PLBs* yang akan dimasukkan ke media perlakuan (Raynalta 2013). Menurut Ling *et al.* (2007) *PLBs* sangat sensitif terhadap perlukaan secara fisik, karena dapat mengarah pada terjadinya oksidasi fenol dan pencoklatan jaringan. Media yang

menggunakan penambahan kitosan 5 ppm banyak menunjukkan gejala pencoklatan dan berwarna putih pada *clump PLBs*, perubahan warna tersebut menyebabkan kematian pada *clump PLBs*. Hasil penelitian Dewanty (2011) menunjukkan bahwa perlakuan kitosan berpengaruh terhadap jumlah dan warna *PLBs* anggrek *Phalaenopsis* sp L., pada konsentrasi kitosan 15 ppm jumlah dan warna *PLBs* relatif lebih baik dibandingkan perlakuan 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm.



Gambar 2 Rata-rata Jumlah *Clump PLBs* Populasi Hibrida *Phalaenopsis* E13 yang Hidup pada Berbagai Komposisi Media Pertumbuhan

Rata-rata jumlah *clump PLBs* yang hidup tertinggi (Gambar 2) terdapat pada perlakuan media dasar tanpa penambahan kitosan yaitu MS 1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) yakni sebesar 2.87, sedangkan rata-rata jumlah *clump PLBs* yang hidup terendah terdapat pada perlakuan media dasar dengan penambahan kitosan yaitu MS1/2 + kitosan 5 ppm yakni sebesar 1.67. Berdasarkan nilai standar error yang diperoleh MS 1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) dengan penambahan kitosan 5 ppm berbeda nyata dengan media tanpa penambahan kitosan 5 ppm. Penambahan kitosan sebesar 5 ppm dapat menurunkan rata-rata jumlah *clump PLBs* yang hidup baik pada media MS 1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}).

Pertambahan Jumlah Daun

Pertambahan jumlah daun dihitung ketika daun mulai muncul pada *PLBs*. Perlakuan komposisi media hanya berpengaruh nyata pada 2 MST, sedangkan pada 4 hingga 8 MST perlakuan komposisi media tidak berpengaruh nyata terhadap pertambahan jumlah daun(Tabel 1). Hasil analisis statistik menunjukkan hanya media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) yang menghasilkan pertambahan jumlah daun tertinggi yakni 1.22 daun saat 2 MST (Tabel 1). Media selain pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) belum menunjukkan pertambahan jumlah daun saat 2 MST, perlakuan media yang lain baru menunjukkan pertambahan jumlah daun saat 4 MST.

Pertambahan Jumlah Akar

Akar mulai terbentuk pada saat 4 MST pada media MS1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K =20:20:20) (2 g L^{-1}), sedangkan kedua media dasar tersebut dengan penambahan kitosan 5 ppm baru terbentuk akar ketika 6 MST (Tabel 2).

Tabel 1 Rata-Rata Pertambahan Jumlah Daun per Botol Kultur (3 *Clump PLBs*) pada PerlakuanBerbagai Komposisi Media Menggunakan Eksplan *Clump PLBs* Populasi Hibrida *Phalaenopsis E13*

Perlakuan[a]	Rata-rata pertambahan jumlah daun			
	MST			
	2	4	6	8
MS ½	0,00b	3,36	1,42	3,83
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})	1,22a	3,36	1,19	2,72
MS ½ + kitosan 5 ppm	0,00b	0,83	1,28	0,72
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) +kitosan 5 ppm	0,00b	0,13	0,11	0,91
Uji F	*	tn	tn	tn
KK (%)	$1,31^{T}$	$7,00^{T}$	$3,00^{T}$	$5,68^{T}$

[a]Semua perlakuan komposisi media ditambahkan air kelapa 15%, tn = tidak berbeda nyata pada taraf 5 %, (*) = berbeda nyata pada taraf 5%, T = hasil transformasi log (x+10), KK = Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam. Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada *Probability* (P<5%).

Tabel 2 Rata-Rata Pertambahan Jumlah Akar per Botol Kultur (3 *Clump PLBs*) pada Perlakuan Berbagai Komposisi Media Menggunakan Eksplan *Clump PLBs* Populasi Hibrida *Phalaenopsis* E13

Perlakuan[a]	Rata-rata pertambahan jumlah akar			
	MST			
	2	4	6	8
MS ½	0,00	1,11	1,42	0,53
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})	0,00	1,56	1,58	1,08
MS ½ + kitosan 5 ppm	0,00	0,00	0,83	0,83
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) +kitosan 5 ppm	0,00	0,00	0,13	0,00
Uji F	-	tn	tn	tn
KK (%)	-	5,17T	3,61T	2,79T

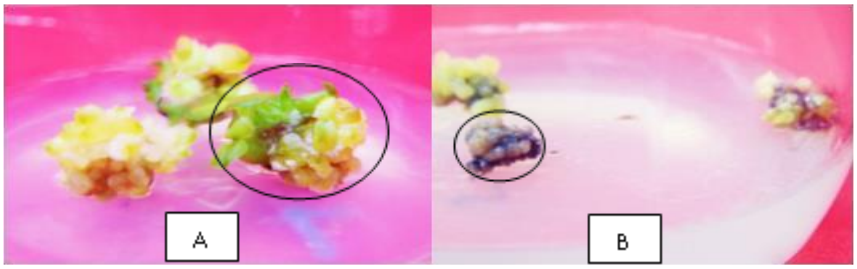
[a] Semua perlakuan komposisi media ditambahkan air kelapa 15%, tn = tidak berbeda nyatapada taraf 5 %, T = hasil transformasi log (x+10), KK = Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam.

Semua perlakuan komposisi media yang digunakan membentuk akar dari *PLBs* yang hidup. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berbagai komposisi media tidakberpengaruh nyata terhadap pertambahan jumlah akar saat 4 hingga 8 MST (Tabel 2). Semu perlakuan media menghasilkan pertambahan akar dengan rata-rata pertambahan akar berkisar 0,53-1,58.

Pertambahan Jumlah *PLBs*

Protocorm Like Bodies (*PLBs)* merupakan protokorm sekunder yang terbentuk dari protokorm awal hasil perkecambahan biji anggrek (Gambar 3). *PLBs* akan banyak membentuk planlet apabila komposisi media yang diberikan sesuai untuk regenerasi *PLBs* menjadi planlet. *PLBs* pada media yang ditambahkan kitosan 5 ppm sebagian besar mengalami fenolik (Gambar 3) dan toksik akibat penambahan konsentrasi kitosan yangterlalu tinggi sehingga tidak sesuai dengan pertumbuhan *PLBs*, namun ada beberapa *PLBs* yang berwarna kuning. Hal ini menunjukkan tetap adanya pertumbuhan pada beberapa *PLBs*

dengan penambahan kitosan. Menurut Nge *et al.* (2006) protokorm pada media yang ditambahkan 5 dan 10 ppm *fungal chitosan* tidak membentuk planlet selama 12 MST. Pencokelatan (*browning*) menyebabkan tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan, tanda adanya kemunduran fisiologis pada eksplan dan dapat menyebabkankematian pada eksplan (Yuliarti 2010).



Gambar 3 (A) Keragaan *clump Protocorm Like Bodies* (*PLBs*); (B) Beberapa *PLBs* yang berwarna coklat saat 6 MST

Tabel 3 Rata-Rata Pertambahan Jumlah PLBs per Botol Kultur (3 *Clump PLBs*) pada PerlakuanBerbagai Komposisi Media Menggunakan Eksplan Clump *PLBs* Populasi Hibrida *Phalaenopsis* E13

Perlakuan[a]	Rata-rata pertambahan jumlah akar			
	MST			
	2	4	6	8
MS ½	1,06ab	2,53	1,00b	1,47
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})	1,14a	2,70	2,89a	1,33
MS ½ + kitosan 5 ppm	0,17bc	0,67	1,11b	2,11
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) +kitosan 5 ppm	0,00c	0,07	0,11b	0,98
Uji F	*	tn	*	tn
KK (%)	1,95T	5,90T	3,08T	5,44T

[a]Semua perlakuan komposisi media ditambahkan air kelapa 15%, tn = tidak berbeda nyatapada taraf 5 %, (*) = berbeda nyata pada taraf 5%, T = hasil transformasi log (x+10), KK =Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam. Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada *Probability* (P<5%).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan media berpengaruh nyata pada saat 2 MST dan 6 MST (Tabel 3) terhadap pertambahan jumlah *PLBs*. Media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) berpengaruh nyata dapat meningkatkan jumlah *PLBs* tertinggi sebesar 1.14, namun tidak berbeda nyata dengan media MS1/2 saat 2 MST. Perlakuan media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) dengan penambahan kitosan 5 ppm tidakmengalami pertambahan jumlah *PLBs* saat 2 MST. Perlakuan komposisi media juga berpengaruh nyata saat 6 MST, media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) menghasilkan pertambahan jumlah *PLBs* tertinggi saat 6 MST (Tabel 3). Media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) tanpa penambahan kitosan 5 ppm menunjukkan pertambahan jumlah *PLBs* tertinggi dibandingkan komposisi media lainnya.

Pertambahan Jumlah Planlet

Planlet berasal dari *PLBs* yang membentuk daun dan akar yang sempurna. Media MS1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) mulai membentuk planlet pada saat 4 MST, sedangkan media dengan penambahan kitosan 5 ppm mulai terbentuk planlet pada saat 6 MST.

Gambar 4 Planlet pada Media Pupuk Lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})

Tabel 4 Rata-rata Pertambahan Jumlah Planlet per Botol Kultur (3 *clump PLBs*) pada Perlakuan Berbagai Komposisi Media Menggunakan Eksplan *Clump PLBs* Populasi Hhibrida *Phalaenopsis E13*

Perlakuan[a]	Rata-rata pertambahan jumlah akar			
	MST			
	2	4	6	8
MS ½	0,00	1,11	0,89	0,61ab
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})	0,00	0,22	2,78	1,20a
MS ½ + kitosan 5 ppm	0,00	0,00	0,83	0,67ab
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) +kitosan 5 ppm	0,00	0,00	0,07	0,00b
Uji F	-	tn	tn	*
KK (%)	-	2,17T	4,18T	1,67T

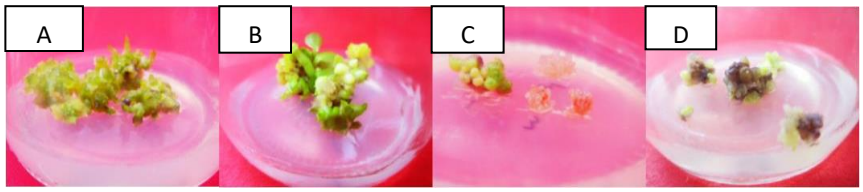
[a] Semua perlakuan komposisi media ditambahkan air kelapa 15%, tn = tidak berbeda nyatapada taraf 5 %, (*) = berbeda nyata pada taraf 5%, T = hasil transformasi log (x+10), KK = Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam. Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada *Probability* (P<5%).

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan komposisi media berpengaruh nyata terhadap pertambahan jumlah planlet saat 8 MST (Tabel 4). Media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) berpengaruh nyata menghasilkan pertambahan jumlah planlet tertinggi dibandingkan perlakuan komposisi media lainnya, namun tidak berbeda nyata dengan media MS1/2 dan pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) + kitosan 5 ppm saat 8 MST pada pertambahan jumlah planlet. Hasil penelitian Park *et al.* (2001), komposisi formulasi media Hyponex (1 g L^{-1} 6.5N- 4.5P – 19N + 1 g L^{-1} 20N-20P – 20K + 2 g L^{-1} peptone +0.05% arang aktif + 30 g L^{-1} gula) menghasilkan planlet yang berasal dari *PLBs* dalam 6 minggu.

Pertambahan Diameter *Clump PLBs*

Pertambahan diameter *clump PLBs* menunjukkan adanya pertumbuhan *PLBs* pada perlakuan media yang diberikan. Hasil analisis statistik

menujukkan bahwa media berpengaruh nyata terhadap pertambahan diameter *clump PLBs* pada 2, 6 dan 8 MST (Tabel 5). Perlakuan komposisi media dasar tanpa penambahan kitosan 5 ppm menunjukkan rata- rata pertambahan diameter lebih tinggi dibandingkan dengan media perlakuan lainnya saat 2, 6 dan 8 MST.



Gambar 5 (A) *Clump PLBs* pada Media MS1/2; (B) C*lump PLBs* pada Media Pupuk Lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}); (C) *Clump PLBs* pada Media MS1/2 + Kitosan 5 ppm; dan (D) *Clump PLBs* pada Media Pupuk Lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) + Kitosan 5 ppm.

Tabel 5 Rata-rata Pertambahan Diameter Clump PLBs per botol Kultur (3 *Clump PLBs*) pada Perlakuan Berbagai Komposisi Media Menggunakan Eksplan *Clump PLBs* Populasi Hibrida *Phalaenopsis* E13

Perlakuan[a]	Rata-rata pertambahan jumlah akar			
	MST			
	2	4	6	8
MS ½	0,13a	0,01	0,25a	0,20a
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1})	0,06ab	0,10	0,17ab	0,19a
MS ½ + kitosan 5 ppm	0,03b	0,03	0,01c	0,02b
Pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) +kitosan 5 ppm	0,04b	0,05	0,07bc	0,04b
Uji F	*	tn	*	*
KK (%)	0,29T	0,41T	0,41T	0,30T

[a]Semua perlakuan komposisi media ditambahkan air kelapa 15%, tn = tidak berbeda nyatapada taraf 5 %, (*) = berbeda nyata pada taraf 5%, T = hasil transformasi log (x+10), KK =Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam. Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada *Probability* (P<5%).

Berdasarkan analisis statistik, perlakuan komposisi media MS1/2 dan media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) berpengaruh nyata dapat meningkatkan pertambahan diameter *clump PLBs* pada 2, 6 dan 8 MST, sedangkan dengan penambahan kitosan 5 ppm pada kedua media tersebut tidak menunjukkan pengaruh lebih baik terhadap pertambahan diameter *clump PLBs* (Gambar 5). Penambahan kitosan 5 ppm pada media dasar MS1/2 dan maupun pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) menghambat pertumbuhan *clump PLBs*, hal tersebut diduga karena kitosan 5 ppm yang diberikan terlalu tinggi sehingga menghambat pertumbuhan *clump PLBs*. Menurut Dewanty (2011), kitosan dalam konsentrasi tertentudapat merangsang pertumbuhan dan perbanyakan *PLBs*, namun apabila kitosan ditambahkan melebihi konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan anggrek.

Simpulan

Media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik pada beberapa parameter pengamatan

seperti jumlah daun dan planlet serta diameter *clump PLBs* dibandingkan media MS1/2 pada *Phalaenopsis* hibrida, hal ini menunjukkan media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk media dasar pada kultur jaringan anggrek *Phalaenopsis* hibrida. Penambahan kitosan 5 ppm pada media pupuk lengkap (N:P:K = 20:20:20) (2 g L^{-1}) maupun MS1/2 menyebabkan pertumbuhan *clump PLBs* menjadi terhambat, ditemukan banyaknya *clump PLBs* yang berwarna kecokelatan dan tidak menunjukkan pertumbuhan, sehingga mengalami kematian.

Daftar Pustaka

Aktar S, Nasiruddin KM, Hossain. 2008. Effects of different media and organic additives interaction on in vitro regeneration of *Dendrobium* orchid. *Journal of Agriculture & Rural Development.* 6(1): 69-74.

An J, Kim PB, Park HB, Kim S, Park HJ, Lee CW, Lee BD, Kim NY, Hwang JE. 2021. Effects of different growth media on in vitro seedling development of an endangered orchid species *Sedirea japonica*. *Plants.*10,1193.

Andiani Y. 2008. *Usaha Pembibitan Anggrek dalam Botol (Teknik In Vitro)*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.

Dewanty R. 2011. Aplikasi penggunaan *chitosan* terhadap pembentukan *Protocorm Like Body* (*PLB*) pada anggrek *Phalaenopsis* sp L. [skripsi]. Jember: Universitas Jember.

Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ (eds) 2003. Orchid Conservation. pp. 1–24. © Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah.

Hidayat T, Pancoro A. 2008. Kajian filogenetika molekuler dan perannanya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek. *Jurnal AgroBiogen.*4(1):35-40.

Kauth PJ, Dutra D, Johnson TR, Stewart SL, Kane ME, Vendrame W. 2008. *Techniques and Applications of In Vitro Orchid Seed Germina*tion. Global Science Books : USA.

Ling ACK, Yap CP, Mohd. Shaib J, Vilasini P. 2007. Induction and morphogenesis of *Phalaenopsis* callus. *J. Trop. Agric and Fd. Sc*. 35(1): 147-152.

Raynalta E. 2013. Pengaruh komposisi media dalam pertumbuhan *protocorm like bodies*, planlet, dan aklimitasi *Phalaenopsis amabilis* [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Santoso U, Nursandi F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.

Setiaji A, Annisa RRR, Santoso AD, Kinasih A, Riyadi ADR. 2021. Factors affecting mass propagation of *Vanda* orchid in vitro. *Cell Bilogy & Development.* 5(2):51-62.

Suptijah P. 2006. Deskripsi karakteristik fungsional dan aplikasi kitin kitosan. Di dalam: Santoso J, Trilaksani W, Nurhayati T, Suseno SH, editor. *Prospek Produksi dan Aplikasi Kitin-Kitosan sebagai Bahan Alami dalam Membangun Kesehatan Masyarakat dan Menjamin Keamanan Produk. Seminar Nasional Kitin-Kitosan 2006.*2006 Maret 16; Bogor, Indonesia. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. 14-24.

Uthairatanakij A, Teixeira JA, Obsuwan K. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechbology.* 1(1):1-5.

Yuliarti N. 2010. *Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher.