

Respons Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* (Teijsm. & Binn.) J.J.Sm. Secara *In Vitro* pada Beberapa Komposisi Media

In Vitro Response of Protocorm *Grammatophyllum stapeliiflorum* (Teijsm. & Binn.) J.J.Sm. Orchid in Growth on Several Media Composition

Ranny Wirmasari, Mayta Novaliza Isda*

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

*Koresponden: maytaisda@yahoo.com

Abstract

Family Orchidaceae has about 800 genera which are already difficult to find and almost extinct, including the orchid genus *Grammatophyllum*. A species of rare orchids, *Grammatophyllum stapeliiflorum*, is hard to find in original habitat. The addition of Growmore, BAP and 15% coconut water is expected to increase the growth and development of the *G. stapeliiflorum* orchid protocorms. This study use a Completely Randomized Design, consisting of 6 treatments (control, 1 and 3 mg/l BAP, 1 and 3 g/l Growmore, and 150 ml/l coconut water) in MS media with 5 replicates with observation for 4 weeks after planting. The results showed did not differ markedly in the number of protocorms, number of shoots and number of browning protocorms, but differ markedly in the parameter protocorm color based on DMRT test. Treatment of 3 mg/l BAP gives the best results on the number of shoots 2,60 protocorms and number of browning protocorms at the least amount 0,80 protocorms. The number of protocorms most widely on the treatment of 1 g/l Growmore 14,40 protocorms. Protocorms color is best found in 3 g/l Growmore with green color. This research managed to multiply the number of protocorms and induces protocorms shoots from *Grammatophyllum stapeliiflorum* orchid.

Keywords : Protocorm, BAP, Growmore, coconut water

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara hutan tropis dengan keanekaragaman hayati yang cukup tinggi. Anggrek merupakan salah satu tanaman wilayah tropis dengan keunikan bentuk daun dan bunga yang menarik. Menurut Isda dan Fatonah (2014), di Indonesia terdapat lebih dari 5000 jenis anggrek dan memiliki sekitar 800 genus yang beberapa diantaranya sudah sulit ditemukan dan hampir punah, diantaranya adalah genus *Grammatophyllum*. Anggrek ini banyak diperuntukkan terutama sebagai tanaman hias.

Salah satu spesies anggrek *Grammatophyllum* yang mulai langka dan sulit ditemukan di habitat aslinya adalah *Grammatophyllum stapeliiflorum*. Anggrek ini sudah sulit ditemukan terutama di wilayah Riau akibat berhadapan dengan ancaman perburuan liar dan kerusakan habitat besar-besaran (Isda dan Fatonah 2014). Perlunya pengendalian agar perburuan liar terhadap anggrek dapat dikendalikan, maka langkah-langkah budidaya secara vegetatif maupun generatif harus segera dilakukan. Perbanyakan secara konvensional sangat sulit untuk memenuhi kebutuhan bibit yang sangat banyak dengan

waktu relatif cepat. Salah satu teknik pilihan menjanjikan untuk pemenuhan kebutuhan bibit tanaman anggrek adalah dengan teknik kultur *in vitro*.

Teknik kultur *in vitro* akan dapat berhasil apabila syarat-syarat yang diperlukan meliputi eksplan, jenis media dan zat pengatur tumbuh. Penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media kultur *in vitro* dilakukan untuk dapat meningkatkan dan mempercepat perbanyakan dan pertumbuhan berbagai tanaman. Menurut Markal *et al* (2015), bahwa jenis media dalam kultur *in vitro* adalah salah satu faktor yang paling menentukan dalam keberhasilan perbanyakan kultur *in vitro*. Media tanam harus berisi semua zat yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan dan perkembangan eksplan, termasuk anggrek. Menurut Parthibhan *et al.* (2015), pada berbagai jenis anggrek, regenerasi tunas ataupun *protocorm likes bodies* (PLBs) dan perkembangan plantlet secara *in vitro* membutuhkan tambahan zat pengatur tumbuh dan senyawa organik tambahan lainnya secara eksogen.

Penelitian yang dilakukan oleh Bakar *et al.* (2016), diketahui bahwa penambahan 3 ppm BAP pada media MS terhadap protokorm anggrek *Dendrobium* sp. setelah 4 bulan pengamatan menunjukkan hasil yang paling baik terhadap tinggi tunas dan jumlah daun yang dihasilkan. Penelitian yang dilakukan Markal *et al.* (2015) pada anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BL menunjukkan bahwa penambahan 1 mg/l BAP pada media MS secara tunggal memberikan hasil terbaik pada persentase pembentukan tunas (100%), waktu pembentukan tunas (13,67 hst), jumlah tunas (3,33 buah) dan jumlah daun (5,33 helai). Selain itu usaha untuk meningkatkan produksi anggrek dengan teknik kultur *in vitro* dapat dilakukan dengan modifikasi media, salah satunya yaitu dengan

penambahan pupuk daun sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan anggrek tersebut. Penambahan pupuk daun sebagai suplemen tambahan dalam media kultur anggrek sudah dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Inkiriwang *et al.* (2016) menggunakan pupuk daun Growmore sebagai pengganti MS. Penggunaan 3 g/l Growmore didapatkan hasil yang berpengaruh nyata pada persentase eksplan bertunas (4,25%) dan jumlah tunas (0,98) dibandingkan dengan menggunakan media MS pada eksplan tanaman anggrek *Dendrobium*. Penambahan pupuk daun Growmore dapat meningkatkan pertumbuhan eksplan anggrek.

Penggunaan air kelapa sebagai senyawa organik dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman yang diperbanyak melalui teknik kultur *in vitro*. Kandungan berbagai zat dalam air kelapa dapat memacu pembelahan sel tanaman. Perlakuan penambahan air kelapa pada media MS juga telah dilaporkan oleh Pratama (2018), penambahan air kelapa pada media MS berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman anggrek *Cymbidium* secara *in vitro* pada persentase tumbuh tunas, jumlah tunas, jumlah akar, dan tinggi tunas. Upaya perbanyakan tanaman anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* secara *in vitro* yang efektif dan efisien perlu dilakukan dalam program konservasi anggrek langka ini. Penambahan BAP, Growmore dan 15% air kelapa diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh beberapa komposisi media terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum*.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 hingga Februari 2019. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Terpadu, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* yang berumur 8 (delapan) bulan didapat dari Laboratorium Biologi Terpadu, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan (Kontrol, 1 mg/l BAP, 3 mg/l BAP, 1 g/l Growmore, 3 g/l Growmore, dan 150 ml/l air kelapa) dengan 5 kali ulangan, sehingga diperoleh 30 unit percobaan.

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi alat, pembuatan media kultur, persiapan dan penanaman eksplan, dan pemeliharaan botol kultur. Penanaman eksplan dilakukan di dalam ruang laminar dengan 7 (tujuh) eksplan protokorm yang ditanam pada setiap unit percobaan. Pemeliharaan botol kultur dilakukan dengan menjaga ruang inkubasi selalu steril dan bersih. Pemeliharaan ruang inkubasi dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% setiap 2 hari sekali. Suhu ruangan diatur pada 23-25 °C dan diberi penyinaran menggunakan lampu selama 24 jam setiap hari.

Parameter pada penelitian ini adalah jumlah protokorm, jumlah tunas, jumlah protokorm *browning* dan warna protokorm setelah satu bulan (4 MST). Data dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA pada program SPSS versi 17, apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.

Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hasil dari penelitian tentang pengaruh penambahan BAP, pupuk daun Growmore, maupun air kelapa pada media MS yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa pemberian senyawa tambahan pada media pertumbuhan protokorm anggrek meningkatkan jumlah protokorm, jumlah tunas yang terbentuk, jumlah protokorm *browning* dan warna dari protokorm anggrek *G. stapeliiflorum*. Berdasarkan uji lanjut DMRT, perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata terhadap jumlah protokorm dan warna protokorm dan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk dan jumlah protokorm *browning*.

Jumlah protokorm yang terbentuk paling banyak pada perlakuan penambahan 1 g/l pupuk daun Growmore dengan rerata jumlah protokorm yang terbentuk adalah 14,40. Jumlah protokorm yang terbentuk paling sedikit pada perlakuan kontrol dengan rerata jumlah protokorm yang terbentuk adalah 5,40. Jumlah protokorm yang terbentuk berpengaruh nyata dibandingkan dengan kontrol namun nilainya tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Selain perlakuan kontrol perlakuan 150 ml/l air kelapa (P4) memberikan hasil terendah kedua terhadap rerata jumlah protokorm setelah kontrol, yaitu 10,80 buah.

Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan Nainggolan (2016), bahwa penambahan 100, 200, dan 300 ml/l air kelapa pada media MS meningkatkan pertumbuhan jumlah dan bobot total protokorm anggrek *Dendrobium*

Hibrida. Konsentrasi 200 ml/l air kelapa adalah konsentrasi terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan jumlah protokorm dan bobot total protokorm.

Menurut Jariyah (2017), penambahan 100 ml/l air kelapa memberikan pengaruh yang lebih baik dalam meningkatkan jumlah pertumbuhan

tunas (7,1 tunas), pertumbuhan protokorm (5,6 buah), jumlah daun (29,5 helai), tinggi tunas (1,4 cm), total jumlah tunas (18,8 buah) dan total jumlah protokorm (17,5 buah) anggrek hasil silangan F1 *Oncidium linda isler x Odorais princess Yh tween star* (0127).

Tabel 1. Jumlah Protokorm, Jumlah Tunas Terbentuk, Jumlah Protokorm *Browning* dan Warna Protokorm pada 4 MST

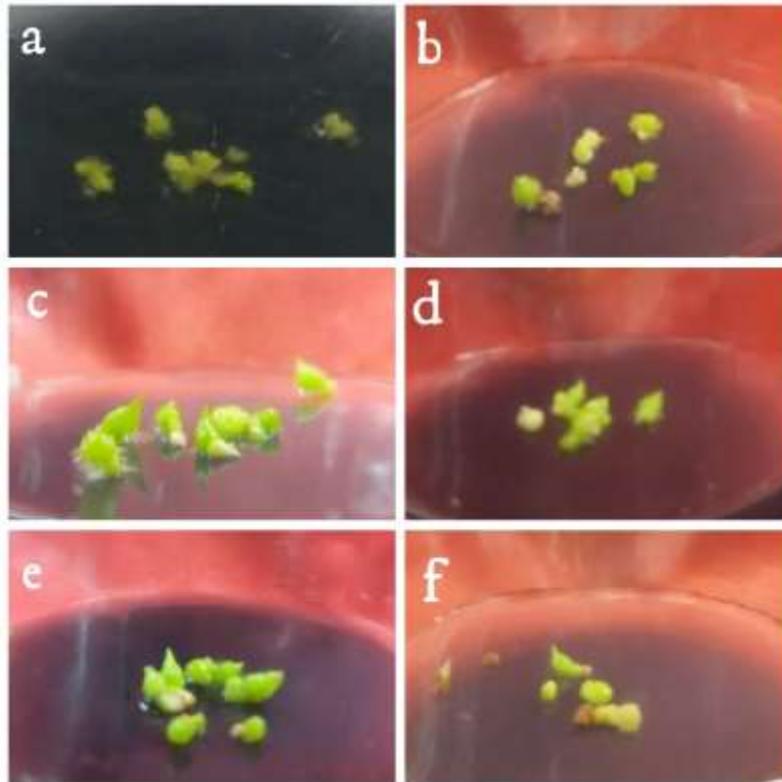
Kode Perlakuan	Perlakuan	Jumlah Protokorm	Jumlah Tunas Terbentuk	Jumlah Protokorm <i>Browning</i>	Warna Protokorm*
P0	Kontrol	5,40 ^a	0,40	1,80	2,60 ^c
P1	1 mg/l BAP	13,40 ^b	1,00	1,20	1,60 ^{ab}
P2	3 mg/l BAP	13,40 ^b	2,60	0,80	1,40 ^{ab}
P3	1 g/l Growmore	14,40 ^b	1,20	1,80	1,40 ^{ab}
P4	3 g/l Growmore	12,40 ^b	1,80	1,20	1,00 ^a
P5	150 ml/l air kelapa	10,80 ^b	1,40	3,40	2,20 ^{bc}

*Warna protokorm 1= Hijau, 2=Hijau muda, 3= Hijau sangat muda

Keterangan : Angka yang diikuti huruf y ang sama menunjukkan tidak berpengaruh nyata berdasarkan Uji DMRT pada taraf $\alpha=5\%$

Hasil yang berbeda tersebut dimungkinkan terjadi disebabkan perbedaan jenis anggrek yang dijadikan eksplan dalam penelitian. Air kelapa sering dijadikan suplemen tambahan dalam mikropropagasi atau kultur *in vitro*. Penggunaan air kelapa tersebut berkaitan dengan kandungan dan komposisi yang unik dari gula, mineral,

vitamin, asam amino dan hormon yang terdapat di dalam air kelapa. Auksin, 1,3-Diphenylurea, dan sitokinin merupakan fitohormon yang terkandung di dalam air kelapa (Jean *et al.* 2009). Prokorm anggrek yang diberi perlakuan pada 4 MST dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Eksplan protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* setelah 4 MST. a. P0 (Kontrol), b. P1 (1mg/l BAP), c. P2 (3 mg/l BAP), d. P3 (1 g/l Growmore), e. P4 (3 gr/l Growmore), f. P5 (150 ml/l Air Kelapa).

Pupuk daun Growmore merupakan pupuk daun yang mengandung senyawa makro maupun mikro yang mampu menutrisi tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut. Pupuk daun Growmore ini berupa kristal berwarna biru yang mengandung Kandungan nutrisi makro dan mikro pada pupuk daun Growmore adalah : Nitrogen (N) 20%, Ammoniacal Nitrogen 3,9%, Nitrate Nitrogen 5,7% Urea Nitrogen Amoniak 10,4%, Fosfat tersedia (P₂O₅) 20%, Kalium terlarut (K₂O) 20%, Kalsium (Ca) 0,05%, Magnesium (Mg) 0,10%, Sulfur (S) 0,20%, Boron (B) 0,02%, Tembaga (Cu) 0,05%, Besi (Fe) 0,10%, Mangan (Mn) 0,05%, Molibdenum (Mo) 0,0005%, Zinc (Zn) 0,05%, dan bahan inert 39,00%. Kandungan N,P, dan K serta unsur mikro lainnya yang terdapat pada pupuk daun Growmore ini membantu eksplan

protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* tumbuh dan memperbanyak diri.

Kandungan senyawa yang mengandung N organik yang ditambahkan ke dalam media kultur merupakan unsur hara makro yang berperan penting dalam proses inisiasi sel embrionik. Media MS yang mengandung N organik lebih tinggi dibandingkan media Bac memiliki respon yang lebih baik dalam menginduksi sel embrionik nenas Smooth Cayenne (Tambunan 2012). Penambahan sitokinin ke dalam media juga mampu meningkatkan jumlah protokorm yang terbentuk. Aryati (2015) mengatakan sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang paling banyak digunakan dalam perbanyakan atau produksi protokorm tanaman anggrek.

Kandungan bahan mikro maupun makro yang terdapat pada media MS belum dapat mencukupi kebutuhan bagi

protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* terlihat dari tidak mempunya protokorm beregenerasi pada media MS tersebut. Pertumbuhan dan perkembangan protokorm anggrek *G. stapeliiflorum* membutuhkan tambahan senyawa makro maupun mikro selain yang terdapat pada media MS.

Jumlah tunas yang terbentuk tidak berpengaruh nyata terhadap seluruh perlakuan. Jumlah tunas terbentuk yang paling tinggi terdapat pada perlakuan P2 yaitu penambahan 3 mg/l BAP dengan rerata jumlah tunas terbentuk adalah 2,60. Jumlah tunas terbentuk yang paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol dengan rerata jumlah tunas terbentuk adalah 0,40. Hasil yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan penelitian Parthibhan *et al.* (2015), penambahan 3 mg/l BAP pada media $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan rata-rata jumlah tunas sebanyak 0,80 pada *Dendrobium aqueum*. Menurut Bakar *et al.* (2016), perlakuan penambahan 3 ppm BAP pada media MS berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman yaitu 1,676 cm dan jumlah daun yaitu 9,81 daun terhadap protokorm anggrek *Dendrobium* sp. yang diukur setelah umur 4 bulan.

BAP memiliki peranan dalam menghasilkan plantlet dari bentuk PLBs dan sangat efektif dalam meningkatkan jumlah tunas serta pembentukan akar. Pembentukan tunas akan terjadi apabila rasio sitokinin dalam eksplan lebih tinggi dibandingkan auksin. Apabila sitokinin dalam media berada pada jumlah yang terbatas maka pembelahan sel akan terhambat, sebaliknya apabila jumlah sitokinin yang tersedia dalam media dalam jumlah yang cukup maka pembelahan sel akan lebih cepat dan menginduksi pembentukan tunas lebih cepat (Markal *et al.* 2015).

Perlakuan kontrol yang memberikan hasil terendah menunjukkan unsur hara yang terdapat pada media dasar

MS belum dapat menginduksi pembentukan tunas dengan baik. Isda *et al.* (2016), mengatakan bahwa penambahan BAP mampu meningkatkan jumlah tunas diduga karena hormon endogen yang terdapat pada eksplan tidak cukup untuk menginduksi pembentukan tunas secara maksimal.

Pada Tabel 1 dapat dilihat jumlah protokorm *browning* memiliki nilai yang tidak berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan. Jumlah protokorm *browning* yang paling sedikit terdapat pada perlakuan 3 mg/l BAP (P2) dengan rerata jumlah protokorm *browning* 0,80. Jumlah protokorm *browning* yang paling banyak terdapat pada perlakuan dengan penambahan 150 ml/l air kelapa (P5) dengan rerata jumlah protokorm yang *browning* 3,40 buah.

Tingginya tingkat *browning* atau pencoklatan protokorm pada media yang ditambahkan air kelapa ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan Tuhuteru *et al.* (2012), dimana penambahan 100 ml/l air kelapa pada media MS menghasilkan pertumbuhan dan perkembangan tunas dan bobot basah plantlet yang tertinggi terhadap eksplan anggrek *Dendrobium anosmum*.

Air kelapa pada tingkat konsentrasi tertentu dapat menginisiasi pembentukan tunas. Air kelapa sendiri mengandung unsur hara mikro, makro, vitamin, sukrosa serta hormon sitokinin dan auksin. Penambahan arang aktif ke dalam media perlakuan juga diberikan dengan tujuan untuk mengurangi pencoklatan akibat racun atau senyawa inhibitor yang disekresikan oleh plantlet ke media (Tuhuteru *et al.* 2012). Pencoklatan pada eksplan dapat tetap terjadi dikarenakan senyawa fenol yang dihasilkan eksplan saat terjadi pelukaan pada eksplan menyebabkan eksplan mengalami pencoklatan dan mati.

Warna protokorm memiliki nilai yang berpengaruh nyata. Warna protokorm yang paling baik adalah yang memiliki nilai

yang paling rendah yaitu pada perlakuan P4 penambahan 3 g/l Growmore dengan nilai 1,00. Warna protokorm yang paling baik adalah yang memiliki nilai tertinggi yaitu pada perlakuan kontrol sebesar 2,60. Warna protokorm pada penelitian ini dibedakan menjadi 3 tingkatan dimana tingkatan pertama berwarna hijau, hijau muda dan hijau sangat muda.

Warna hijau yang terdapat pada protokorm disebabkan adanya kandungan klorofil. Klorofil merupakan pigmen yang berperan dalam fotosintesis sebagai penyerap cahaya berupa pigmen yang berwarna hijau (Kartiman *et al.* 2018). Semakin hijau protokorm yang dihasilkan menandakan banyaknya jumlah klorofil pada eksplan. Nilai yang semakin rendah menunjukkan warna protokorm. Warna hijau tersebut diartikan sebagai banyak jumlah klorofil yang terdapat pada protokorm. Penambahan 3 g/l pupuk daun growmore memiliki nilai tertinggi dari warna hijau pada protokorm dan nilainya tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 mg/l BAP (P1), 3 mg/l BAP (P2), 1 g/l Growmore (P3), dan 3 g/l Growmore (P5).

Menurut Wicaksono *et al.* (2017), hormon sitokinin dapat meningkatkan jumlah klorofil karena dapat menstimulasi sintesis klorofil, selain itu faktor lain seperti cahaya, gula, karbohidrat, suhu, air, serta unsur-unsur hara seperti N, Mg DAN Fe juga dapat mempengaruhi kadar klorofil pada eksplan dan meningkatkan warna hijau pada eksplan protokorm. Pengaruh yang ditimbulkan akibat penambahan zat pengatur tumbuh, pupuk daun, dan air kelapa pada penelitian ini diperiksa setelah 4 minggu setelah tanam pada media. Pengaruh yang ditimbulkan merupakan respon awal yang ditunjukkan oleh eksplan protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum*.

Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu: pertama, perlakuan penambahan ZPT, pupuk daun, dan air kelapa secara tunggal pada media MS berpengaruh nyata terhadap jumlah protokorm dan warna protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum*. Jumlah protokorm paling banyak terdapat pada perlakuan 1 g/l pupuk daun Growmore. Warna protokorm yang paling baik pada perlakuan 3 g/l Growmore. Kedua, perlakuan penambahan ZPT, pupuk daun, dan air kelapa secara tunggal pada media MS tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas terbentuk dan jumlah protokorm *browning* pada eksplan protokorm anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum*. Jumlah tunas terbentuk paling banyak terdapat pada perlakuan 3 mg/l BAP. Jumlah protokorm *browning* paling banyak terdapat pada perlakuan penambahan 150 ml/l air kelapa.

Daftar Pustaka

- Aryati, D. R. 2015. Inisiasi, Proliferasi, dan Pembesaran *Protocorm Like Bodies* Anggrek *Dendrobium* Klon 22/25 [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bakar, M, J. Mandang, D. Kojoh, S. Demmasabu. 2016. Penggunaan BAP dan Kinetin pada Induksi Tunas dari *Protocorm* Anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) pada Kultur *In Vitro*. *Cocos*. 7(4): 1-6.
- Inkiriwang, A. E. B, J. Mandang, S. Runtunuwu. 2016. Substitusi Media Murashige dan Skoog/MS dengan Air Kelapa dan Pupuk Daun Majemuk pada Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* secara *In Vitro*. *Jurnal Bioslogos*. 6(1): 15-19.
- Isda, M. N, dan S. Fatonah. 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.
- Isda, M. N, S. Fatonah, dan L. N. Sari. 2016. Pembentukan Tunas dari Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Asal Bengkulu dengan Penambahan BAP dan Madu secara *In Vitro*. *Al-Kauniah: Journal of Biology*. 9(2): 119-124.
- Jariyah, A. 2017. Pengaruh Kombinasi Jenis Media dan Zat Organik Kompleks terhadap Pertumbuhan Tunas Hasil Silangan F1 Anggrek *Oncidium spp* [Skripsi]. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jean, W. H. Y, L. Ge, Y. F. Ng, dan S.W. Tan. 2009. The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules*. 14: 5144-5164.
- Kartiman, R, D. Sukma, S. I. Aisyah, dan A. Purwito. 2018. Multiplikasi *In Vitro* Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 5(1): 75-87.
- Markal, A, M. N. Isda, dan S. Fatonah. 2015. Perbanyakan Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BL. melalui Induksi Tunas secara *In Vitro* dengan Penambahan BAP dan NAA. *JOM FMIPA*. 2(1): 108-114.
- Nainggolan, Y. S. 2016. Proliferasi *Protocorm Like Bodies* (PLBs) Anggrek *Dendrobium* Hibrida *In Vitro* sebagai Respons terhadap Pepton dan Air Kelapa dalam Media MS [Skripsi]. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Parthibhan, S, M. V. Rao, dan T. S. Kumar. 2015. *In Vitro* Regeneration of Protocorms in *Dendrobium aequum* Lindley – an Imperiled Orchid. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 30(33): 1-7.
- Pratama, J. 2018. Modifikasi Media MS dengan Penambahan Air Kelapa untuk Subkultur I Anggrek *Cymbidium*. *Jurnal Agrium*. 15(2): 91-109.
- Raynalta, E. dan D. Sukma. 2013. Pengaruh Komposisi Media dalam Perbanyakan *Protocorm Like Bodies*, Pertumbuhan Plantlet, dan Aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*. *J. Hort Indonesia*. 4(3): 131-139.
- Soetopo, L. 2017. Perbanyakan *In Vitro* dengan Eksplan *Protocorm Like Body* dari Biji pada *Dendrobium* Spesies dan *Doritaenopsis* Hibrida. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Peripi Komda*, Jawa Timur, hlm 209-215.
- Tambunan, I. R. 2012. Pengembangan Metode Organogenesis dan Embriogenesis Somatik pada Nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) serta Deteksi Dini untuk Mereduksi Keragaman Somaklonal [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tuhuteru, S, M. L. Hehanussa, dan S.H.T. Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *In Vitro* dengan beberapa Konsentrasi Air kelapa. *Agrologia*. 1(1): 1 – 12.
- Wicaksono, F. Y, A.F. Putri, Y. Yuwariah, Y. Maxiselly, dan T. Nurmala. 2017. Respons Tanaman Gandum Akibat Pemberian Sitokinin Berbagai Konsentrasi dan Waktu Aplikasi di Dataran Medium Jatiningor. *Jurnal Kultivasi*. 16(2): 349-35.