

Penyimpanan biji dan mikropropagasi anggrek pensil (*Papilionanthe hookeriana*) di Kebun Raya Bogor

Seed storage and micropropagation of pencil orchid (*Papilionanthe hookeriana*) in Bogor Botanic Gardens

ELIZABETH HANDINI

Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya (Kebun Raya Bogor), Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jl. Ir. H. Juanda 13, Bogor 16122, Jawa Barat, Indonesia. Tel./fax.: +62-251-8322187. ✉email: lizahandini@gmail.com

Manuskrip diterima: 3 September 2018. Revisi disetujui: 15 November 2018.

Abstrak. Handini E. 2018. *Penyimpanan biji dan mikropropagasi anggrek pensil (Papilionanthe hookeriana) di Kebun Raya Bogor. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 5: 7-12.* *Papilionanthe hookeriana* sebagai Ratu Anggrek ditemukan di Bengkulu dan Bangka Belitung berpotensi sebagai tanaman hias. Anggrek ini berdaun terete dan hidup alami di habitat perairan atau semi perairan. Penyimpanan biji pada -20°C dan uji viabilitas biji anggrek ditujukan untuk memperpanjang masa simpan biji dan menjaga ketersediaan bibit anggrek. Perbanyakan anggrek ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan biji. Biji dari buah yang pecah setelah disimpan dalam desikator selama lima sampai tujuh hari, sebagian diletakkan di freezer dalam suhu -20 °C. Biji anggrek disterilisasi menggunakan *Clorox* 10% dan 5%, selanjutnya dibilas air steril tiga kali. Uji viabilitas ini dilakukan di empat media yaitu KC, VWS, HS dan KCA. Regenerasi PLBs Anggrek Pensil menggunakan media T1 dan VWS pada subkultur I, sedangkan subkultur II menggunakan media VT5, KC dan ½ P. Uji viabilitas biji pada masa simpan 26 bulan menunjukkan prosentase kecambah berbeda nyata antara media HS 18,03 %, dan KCA 9,49%. Sedangkan prosentase kecambah di media VWS 14,4% tidak berbeda nyata dengan KC 11,02%. Penurunan prosentase kecambah terjadi pada uji viabilitas biji masa simpan 31 bulan. Hasil regenerasi PLBs menunjukkan planlet mampu tumbuh dengan pada media dasar VW, KC maupun MS hingga siap aklimatisasi. Sampai saat ini anggrek yang teraklimatisasi masih ada yang bertahan hidup di Kebun Raya-LIPI (Kebun Raya Bogor).

Kata kunci: Biji, Orchidaceae, *Papilionanthe hookeriana*, regenerasi, uji viabilitas

Abstract. Handini E. 2018. *Seed storage and micropropagation of pencil orchid (Papilionanthe hookeriana) in Bogor Botanic Gardens. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 5: 7-12.* *Papilionanthe hookeriana* as “Queen of Orchid” is found in Bengkulu and Bangka Belitung as potential ornamental plants. This orchid has terete leaves and lives naturally in aquatic or semi-aquatic habitats. Seed storage at -20°C and orchid seed viability testing is intended to extend the shelf life of seeds and maintain the availability of orchid seeds. Propagation of these orchids is carried out *in vitro* using seeds. Seeds from broken fruit after being stored in a desiccator for five to seven days, some are placed in the freezer at -20 °C. Orchid seeds are sterilized using 10% and 5% *Clorox*, then rinsed with sterile water three times. This viability test was carried out in four media, namely KC, VWS, HS, and KCA. Regeneration of Pencil Orchid PLBs using T1 and VWS media in subculture I, while subculture II used VT5, KC and ½ P. Seed viability tests at a shelf life of 26 months showed the percentage of sprouts was significantly different between HS 18, 03% and KCA 9,49%. While the percentage of sprouts in VWS 14,4% was not significantly different from KC 11,02%. Decrease in the percentage of sprouts occurs in the seed viability test the shelf life of 31 months. The results of PLBs regeneration showed that the plantlets were able to grow with VW, KC and MS base media until they were ready for acclimatization. Until now, acclimatized orchids are still alive at the LIPI Botanical Garden (a.k.a Bogor Botanic Gardens).

Keywords: Orchidaceae, *Papilionanthe hookeriana*, regeneration, seed, viability tests

Singkatan: KC: modifikasi Knudson'C, VWS: Vacin and Went Semai, HS: Hyponex Semai, KCA: modifikasi KC, T1: modifikasi Hyponex, VT5: modifikasi Vacin and Went, ½ P: modifikasi MS/Murashige and Skoog, PLBs: *Protocorm Like Bodies*

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang banyak digemari oleh masyarakat. Salah satu anggrek yang mempunyai pesona adalah *Papilionanthe hookeriana* (Rchb.f.) Schltr. dikenal sebagai anggrek rawa dan mendapat *First Class Certificate* sehingga dinobatkan sebagai Ratu Anggrek karena kecantikan bunganya oleh

kerajaan Inggris pada th 1882. Anggrek pensil ini biasa hidup liar di Danau Dendam Tak Sudah (DDTS), dan mulai habis karena eksploitasi manusia (Roilan 2016). Danau tersebut terletak di beberapa kecamatan, yaitu Kecamatan Teluk Sagara, Kecamatan Selebar, dan Kecamatan Talang Empat, Kabupaten Bengkulu Tengah, Bengkulu, atau sekitar 6 km dari Kota Bengkulu (Firmansyah 2013).



Gambar 1. Anggrek *Papilionanthe hookeriana* (Hasan 2016)

Di Pulau Sumatera, anggrek ini ditemukan di Bengkulu dan Bangka Belitung. Di provinsi Bengkulu, anggrek tersebut ditemukan di Cagar Alam Dusun Besar (CADB) terdaftar Keputusan No. 602 / Kpts-II / 1992 oleh Menteri Kehutanan yang ditetapkan sebagai kawasan konservasi anggrek. Namun, spesies ini terancam jurang kepunahan karena degradasi habitat, pencurian dan perambahan. BKSDA mengalami kesulitan untuk menemukan anggrek ini di habitatnya. Pada akhir tahun 2002, hanya satu tanaman ditemukan yang digunakan sebagai sumber untuk propagasi. Pada tahun 2005, ditemukan 36 tanaman lainnya di provinsi Bengkulu. BKSDA telah melakukan perbanyakan dengan cara vegetatif pada th 2007-2008. BKSDA mampu menyebarkan 365 tanaman hingga tahun 2008 dan kemudian mereka tanam di luar habitat aslinya (Romeida et al. 2016).

Papilionanthe hookeriana berpotensi sebagai induk untuk persilangan karena memiliki warna bunga yang menarik dengan warna petal putih semburat keunguan, bibir ungu bergaris dan bercorak putih, keping sisi berwarna ungu. Tipe pembungaan: tandan, yang tumbuh di sisi batang dengan jumlah tangkai bunga 1-3 kuntum dengan lama mekar 3-5 hari (Hasan 2016). Anggrek pensil ini mempunyai daun berbentuk *terete* dan hidup secara alami di habitat perairan atau semi perairan yang bukan merupakan kebiasaan anggrek hidup di air (Irawati 2009).

Propagasi mempunyai peranan penting dalam konservasi spesies anggrek yang terancam, untuk memperbanyak jumlah benih yang akan direintroduksi guna memperbesar ukuran populasi. Teknik kultur biji secara asimbiotik sudah sering digunakan dalam program perbanyakan anggrek. Kultur asimbiotik mengadopsi dari sifat anggrek secara biologis. Keberhasilan perkecambahan anggrek di alam tergantung dari keberadaan mikoriza. Biji anggrek yang sangat kecil dan tidak mempunyai cadangan makanan (endosperm) membutuhkan mikoriza untuk menyediakan makanan sampai tahap dewasa. Fungsi mikoriza adalah mensuplai nutrisi seperti sumber karbon, vitamin, dan nutrisi yang dibutuhkan lainnya. Pada kultur asimbiotik, peranan mikoriza diganti dengan media kultur.

Media yang berisi nutrisi seperti KC (Knudson C; Knudson 1946), VW (Vacin and Went 1949) digunakan untuk mendukung perkecambahan biji anggrek (Nurfadilah 2016).

Kegiatan Konservasi *Papilionanthe hookeriana* di Kebun Raya-LIPI meliputi penyimpanan biji dan perbanyakan secara *in vitro*. Tujuan dari penyimpanan biji adalah untuk memperpanjang masa simpan biji dan menjaga ketersediaan benih anggrek ini. Sedangkan kegiatan perbanyakan secara *in vitro* dilakukan untuk dapat menghasilkan bibit anggrek pensil dalam jumlah yang banyak sehingga ketersediaan di alam akan terjaga.

BAHAN DAN METODE

Tahap semai dan penyimpanan biji

Perbanyakan anggrek *P. hookeriana* di Kebun Raya-LIPI dilakukan secara *in vitro* di Laboratorium Kultur Jaringan, dengan menyemai biji dari buah utuh dan buah pecah yang dikirim dari Bangka tahun 2012. Tahap penyemaian diawali dengan sterilisasi eksplan (bahan tanam). Sterilisasi buah utuh dilakukan dengan cara: mencuci buah dengan detergen kemudian dibilas dengan air yang mengalir. Buah kemudian dibawa ke *Laminair Air Flow* (LAF) untuk dicelupkan dalam alkohol 96% dan dilewatkan ke api (diflambir). Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali. Selanjutnya buah dibelah dengan pisau (*scalpel*) dan biji ditabur dalam media semai secara aseptik.

Biji dari buah yang pecah sebagian disimpan di lemari pendingin dalam suhu -20 °C dan sebagian lagi langsung disemai. Perlakuan biji sebelum penyimpanan yaitu dikurangi kadar airnya dengan cara menyimpan dalam desikator selama 5-7 hari. Biji anggrek sebelum disemai disterilisasi dengan menggunakan Clorox 10% dan 5%, selanjutnya dibilas air steril 3x (Puspitaningtyas dan Handini 2014). Penyemaian pada uji viabilitas ini dilakukan di empat media semai yaitu KC (per liter media terdiri dari unsur makro dan mikro KC ditambah dengan air kelapa 150 ml, ekstrak toge 150 mg, gula 20 g, agar 8 g, dan arang aktif 1 g, VWS (per liter media terdiri dari unsur makro dan mikro VW, ditambah air kelapa 150 ml, ekstrak toge 100 g, ekstrak tomat 100 g, NAA 10 mg, gula 20 g, arang aktif 1 g), HS (per liter media terdiri dari pupuk Hyponex 25: 5: 20 sebanyak 0.5 g, peptone 2 g, kentang 40 g dan KCA (per liter media modifikasi KC terdiri dari unsur mikro: H₃BO₃ 0.056 mg, MoO₃ 0.016 mg, ZnSO₄ 0.331 mg, dan CuSO₄ 0.624 mg (Seaton dan Ramsay 2005)). Biji yang berhasil tumbuh dan berkecambah setelah 1 bulan tanam pada kedua media tersebut kemudian dihitung prosentase kecambahnya (jumlah kecambah dibagi 100). Penghitungan persentase kecambah dilakukan setiap 100 biji. Jumlah biji berkecambah dibagi total biji dari satu kali ulangan dikali 100 (Hossain dan Dey 2013). Setiap perlakuan media diulang tiga kali. Uji viabilitas *P. hookeriana* dilakukan pada umur simpan 26 bulan dan 31 bulan. Rancangan percobaan dilakukan secara acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan media semai dan tiga ulangan. Analisis sidik ragam menggunakan SAS dan uji Duncan jika hasil antar perlakuan media menunjukkan beda nyata ($P < 0.05$).

Tahap regenerasi PLBs

Kecambah (PLBs) anggrek kemudian dilakukan subkultur I pada media VWS dan T1 (modifikasi Hyponex 25: 5: 20 dengan kandungan per liter media sebanyak 1 g, peptone 2 g, pisang 20 g. Subkultur II dilakukan pada planlet dari hasil subkultur I setelah mencapai tinggi \pm 2 cm ke media pembesaran yaitu VT5 (modifikasi VW, per liter media ditambah dengan pisang 100 g dan NAA 5 mg), KC (seperti yang dipakai pada media semai dan subkultur I) dan $\frac{1}{2}$ P (per liter media mengandung makro dan mikro MS $\frac{1}{2}$ resep ditambah pisang 100 g). Media subkultur II ini digunakan sampai bibit siap aklimatisasi (yaitu tinggi tanaman \pm 15 cm dengan akar yang sudah cukup besar).

Tahap aklimatisasi planlet

Pra aklimatisasi dilakukan dengan menyimpan botol kultur di dalam rumah kaca dalam tiga perlakuan lama waktu simpan yaitu: 2 minggu, 12 minggu dan 24 minggu. Aklimatisasi dilakukan dengan cara mencuci bibit kultur dengan air yang mengalir. Selanjutnya bibit diredam dalam bakterisida yang mengandung streptomisin dan fungisida yang mengandung benomil masing-masing sebanyak 1 g per liter. Planlet ditiriskan dan diikat pada potongan batang pakis dan diletakkan dalam selokan kecil yang setiap hari diairi.

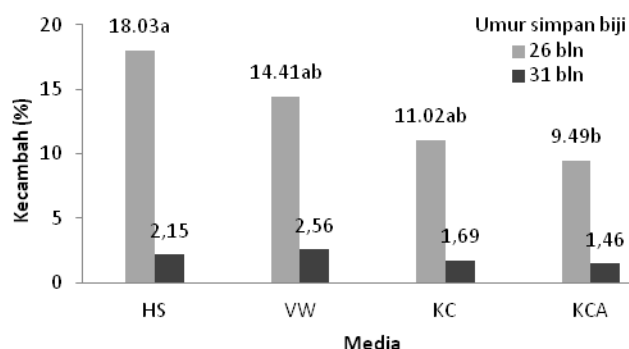
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap semai dan penyimpanan biji

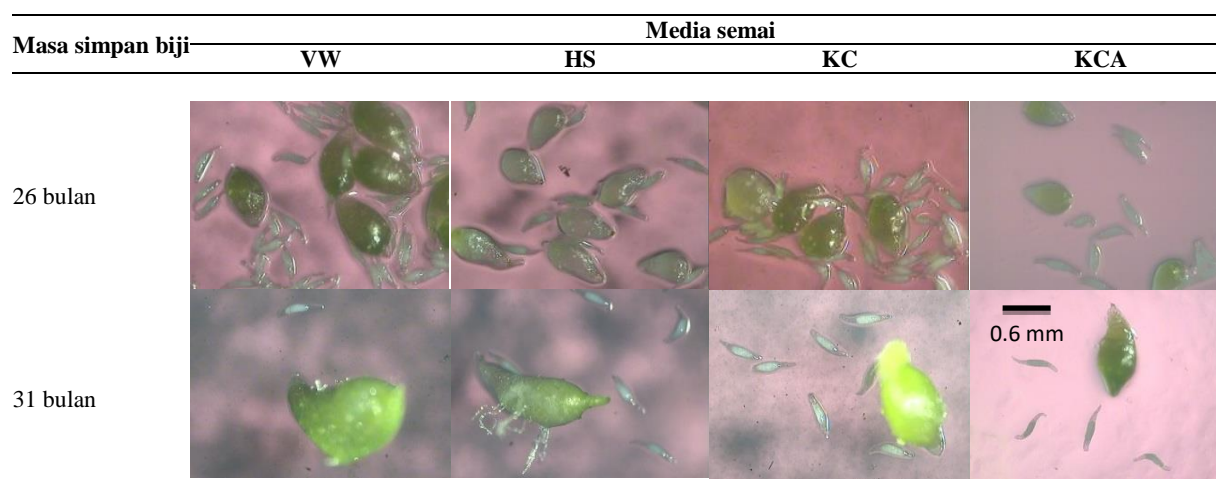
Sterilisasi biji pada tahap semai dari buah anggrek *P. hookeriana* yang dikirimkan ke Kebun Raya pada tahun 2012 yang utuh gagal disubkultur karena terkontaminasi, demikian juga biji dari buah pecah yang saat itu segera ditanam juga mengalami kontaminasi. Hal ini mungkin terjadi karena selama perjalanan buah anggrek tersebut terkontaminasi jamur dan bakteri. Sterilisasi pada buah utuh sebenarnya lebih mudah dilakukan dari pada sterilisasi biji, namun jika terjadi luka pada buah dan tidak terlihat oleh mata, maka pilihan untuk sterilisasi buah utuh adalah

tidak tepat. Kemungkinan kontaminan yang berupa bakteri maupun jamur dapat masuk melalui luka tersebut. Sementara sterilisasi biji juga memiliki resiko biji terbuang selama proses pencucian tersebut.

Analisis sidik ragam yang diikuti dengan uji Duncan pada hasil uji viabilitas biji anggrek *P. hookeriana* yang disimpan selama 26 bulan menunjukkan prosentase kecambah paling banyak di media semai HS yaitu 18,03 % dan berbeda nyata dengan prosentase kecambah di media KCA 9,49%. Hasil prosentase kecambah di media VW 14,4% tidak berbeda nyata dengan KC 11,02%. Penurunan prosentase kecambah terjadi secara drastis pada uji viabilitas biji anggrek dengan masa simpan biji 31 bulan di empat media semai yang dicobakan. Hasil uji kecambah pada umur simpan 31 bulan di media KCA 1,46% paling sedikit menumbuhkan kecambah disusul KC 1,89%, HS 2,15%, dan VW 2,56% (Gambar 2). Namun demikian hasil analisis sidik ragam menunjukkan tidak adanya beda nyata antar perlakuan dengan nilai $P > 0.05$. Dari hasil uji kecambah, masa simpan biji *Papilionanthe hookeriana* pada lemari pendingin -20 °C diperkirakan hanya mampu mencapai sekitar 31 bln dengan media semai terbaik adalah HS.



Gambar 2. Persentase kecambah *Papilionanthe hookeriana* pada umur simpan biji 26 dan 31 bulan di keempat media perlakuan yaitu HS (Hyponex Semai), VW (Vacin and Went), KC (Knudson'C) dan KCA (Modifikasi KC (Seaton dan Ramsay 2005))



Gambar 3. Hasil uji viabilitas anggrek *Papilionanthe hookeriana* di empat media semai yaitu HS (Hyponex Semai), VW (Vacin and Went), KC (Knudson'C) dan KCA (Modifikasi KC (Seaton dan Ramsay 2005)). Pengamatan mikroskop dengan perbesaran 40x

Keragaan PLBs pada ke empat media semai menunjukkan efek yang berbeda-beda meskipun secara kuantitatif jumlah PLBs yang tumbuh tidak berbeda nyata (Gambar 3). Kecambah yang tumbuh pada media HS lebih cepat berakar sedangkan ukuran dan warna hijau pada kecambah di media VWS dan KC tidak jauh berbeda. PLBs pada media semai KCA terlihat paling lambat pertumbuhannya, karena media tersebut hanya terdiri dari unsur makro dan mikro, tanpa menggunakan bahan organik, sehingga kebutuhan zat pengatur tumbuh (ZPT) seperti sitokinin dan auksin untuk menginduksi berkecambahnya biji hanya mengandalkan hormon endogen.

Tahap regenerasi

Pada tahap regenerasi, subkultur I ditujukan agar kecambah selain di jarangkan juga diinduksi daun dan akar sehingga terbentuk planlet. Media VWS masih dapat dipakai sebagai media subkultur I. Hal ini terlihat dari keragaan bibit hasil subkultur I di media VWS mampu menumbuhkan daun dan akar serta tunas baru sehingga terlihat rapat (Gambar 4). Kandungan ekstrak taube, tomat dan air kelapa dalam media VWS mendukung perkembangan PLBs hingga menjadi planlet. Menurut Prihantini et al. (2007) ekstrak taube mengandung vitamin (tiamin, riboflamin, piridoksin, asam pantotenat, folasin, vitamin C dan vitamin K yang mendukung pertumbuhan PLBs. Sedangkan ekstrak tomat pada media VWS mengandung vitamin C, glikoalkaloid, dan karotenoid (karoten dan likopen). Likopen merupakan antioksidan yang baik (Nurbaiti 2016). Bibit yang dikulturkan di media T1 mengalami pertumbuhan daun dan akar namun tunas baru tidak tumbuh. Ekstrak pisang dalam media T1 mengandung vitamin A, B1 (tiamin), riboflamin (B2), piridoksin (B6) dan asam askorbat (C) serta mengandung gula (sebagai sumber energi) (Setiawati et al. 2016).

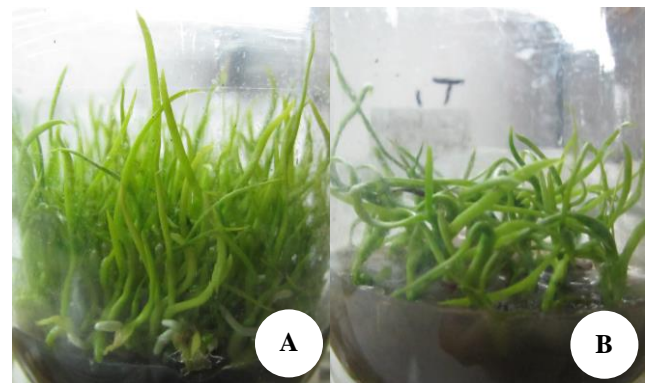
Subkultur II pada tahap pembesaran menggunakan media $\frac{1}{2}$ P, VT5 dan KC bertujuan untuk menjarangkan dan membesarkan planlet sampai siap aklimatisasi. Hasil subkultur pada ketiga media tersebut menunjukkan pertumbuhan daun dan akar yang cukup baik sehingga dapat digunakan hingga bibit siap aklimatisasi (Gambar 5). Komposisi pisang 100 g per liter pada media $\frac{1}{2}$ P dan VT5 membantu dalam pertumbuhan bibit. Kandungan pisang lima kali lebih besar dari media T1 menjadi sumber energi untuk tahap pembesaran bibit. Air kelapa dan ekstrak taube pada media KC juga masih mampu mendukung perkembangan bibit hingga siap aklimatisasi. Selain nutrisi dan kondisi lingkungan, diketahui juga bahwa penambahan bahan organik seperti air kelapa, pisang, kentang dan arang aktif secara sendirian maupun kombinasi dalam media dibutuhkan untuk mendukung perkembangan dan pertumbuhan pada beberapa spesies anggrek dan eksplan (Tawaro et al. 2008).

Tahap aklimatisasi

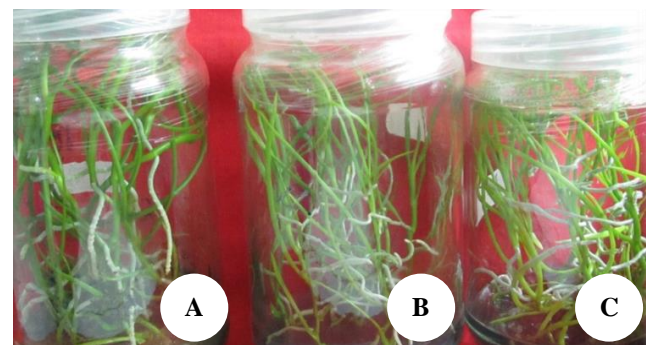
Perlakuan pra aklimatisasi dengan menyimpan botol kultur di dalam rumah kaca selama 2 minggu sebelum tanam (MST) menghasilkan persentase hidup tertinggi yaitu 97.78%, sedangkan penyimpanan selama 12 dan 24

MST terjadi penurunan persentase hidup yaitu 77.22% dan 87.18%. Dengan demikian pra aklimatisasi cukup dilakukan dalam 2 MST. Aklimatisasi dilakukan di media pakis dan diletakkan diselokan kecil karena tanaman anggrek ini merupakan anggrek rawa sehingga membutuhkan air yang cukup banyak sehingga medianya basah terus menerus. Jika terjadi kekeringan di selokan maka tanaman akan mengalami kekeringan dan mati. Kondisi cukup air pada media menyebabkan pertumbuhan yang baik untuk akar maupun daun (Gambar 6).

Tahap aklimatisasi merupakan tahap yang sangat rentan terhadap kegagalan hidup planlet. Pada tahap ini terjadi adaptasi pada planlet yang berasal dari kondisi *in vitro* (dalam botol dengan kelembaban tinggi) pindah ke kondisi *ex vitro* (keluar botol dengan kelembaban rendah). Sampai saat ini umur anggrek yang teraklimatisasi memasuki tahun ketiga dan ada yang baru satu tahun. Meskipun belum berbunga namun masih ada beberapa tanaman yang masih hidup di Kebun Raya-LIPI. Anggrek Pensil yang masih berumur satu tahun masih terlihat segar di batang pakis yang diletakkan dalam pot dan diberi alas bak plastik. Sementara Anggrek Pensil yang sudah tiga tahun di batang pakis dalam pot dan diletakkan dipinggir kolam terlihat kurus dan batang utamanya mengering namun masih tumbuh cabang baru (Gambar 7).



Gambar 4. A. Keragaan planlet *Papilionanthe hookeriana* hasil subkultur I pada media Vacin and Went umur 19 bulan. B. Pada media T1 (modifikasi Hyponex) pada umur 14 bulan



Gambar 5. A. Keragaan bibit *Papilionanthe hookeriana* hasil subkultur II pada media VT5 umur 8 bulan, B. pada media KC umur 3 bulan, dan C. pada media $\frac{1}{2}$ P umur 7 bulan



Gambar 6. Keragaan bibit *Papilionanthe hookeriana*. A. Bibit diaklimatisasi di batang pakis, B. Pertumbuhan akar dan daun setelah 3 bulan tanam, C. Bibit setelah 5 bulan tanam



Gambar 7. Keragaan tanaman anggrek *Papilionanthe hookeriana*. A. Bibit umur 1 tahun setelah aklimatisasi, B. Bibit umur tiga tahun setelah aklimatisasi

Diskusi

Konservasi anggrek di Kebun Raya-LIPI Bogor telah berlangsung cukup lama, namun upaya memperpanjang masa simpan biji anggrek baru dimulai 10 tahun yang terakhir. Penyimpanan biji dilakukan ketika stok biji berlimpah, sehingga pada waktu tidak ada panen buah, masih ada stok biji untuk perbanyak jenis anggrek tersebut. Biji anggrek yang bersifat ortodok memerlukan proses pengeringan biji hingga mencapai kadar air 5% dan penyimpanan di suhu dingin-20°C. Biji anggrek dapat kehilangan viabilitasnya jika disimpan pada suhu kamar. Secara umum viabilitas biji dapat diperpanjang dengan menurunkan kadar air, suhu maupun oksigen dalam ruang penyimpanan (Puspitaningtyas dan Handini 2014). Penyimpanan dengan teknik kriopreservasi mungkin dapat memperpanjang masa simpan biji. Perlakuan biji di tahap

sterilisasi dengan scarifikasi menggunakan *hypochlorite* mampu meningkatkan perkecambahan. Perkecambahan secara asimbiotik dari biji dalam botol steril, diawali oleh Knudson dan diketahui keberhasilannya pada kebanyakan spesies. Beberapa modifikasi dari media dasar Knudson dan beberapa media kultur jaringan yang disusun telah disesuaikan untuk digunakan pada anggrek. Hasil uji kecambah biji anggrek *P. hookeriana* menunjukkan kesesuaian empat macam media semai. Perkecambahan secara asimbiotik mempunyai banyak keuntungan, termasuk kemampuan untuk memproduksi bibit yang sehat pada frekuensi dan jumlah yang lebih tinggi dari pada yang dicapai di alam, sehingga ideal untuk digunakan dalam mengembangkan anggrek secara komersial dan untuk regenerasi yang cepat dari bank benih (Nadarajan et al. 2011).

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa penyimpanan biji anggrek *P. hookeriana* pada lemari pendingin-20°C mampu memperpanjang masa simpan biji hingga 2 tahun 7 b dengan media semai terbaik adalah HS. Tahap regenerasi PLBs, dengan mensubkultur PLBs pada media VWS maupun T1 dapat dilakukan hingga menjadi planlet. Pembesaran planlet dari hasil subkultur I dapat dilakukan pada media VT5, KC, maupun ½ P hingga siap aklimatisasi. Kemampuan bibit anggrek ini untuk tumbuh pada media dasar VW, KC maupun MS menunjukkan bahwa anggrek ini bukan tipe anggrek yang mensyaratkan media yang spesifik untuk tumbuh dan berkembang. Pra aklimatisasi dengan menyimpan botol kultur di ruang aklimatisasi cukup dilakukan selama 2 MST. Kondisi lingkungan aklimatisasi anggrek ini dilakukan sedekat mungkin meniru kebutuhan kelembaban yang tinggi seperti dihabitatnya di rawa. Kondisi agroklimat yang belum sesuai dengan habitatnya menjadikan anggrek ini belum optimal dalam pertumbuhannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Vitri Garvita, Sutini, Irma Handayani, Suratmi, dan Sudarso yang telah membantu dalam penelitian *Papilionanthe hookeriana* ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Firmansyah. 2013. Danau Dendam Tak Sudah, Benteng Warga Bengkulu. Kompas.com-06/10/2013, 14.00 WIB
- Nadarajan J, Wood S, Marks TR, Seaton PT, Prichard HW. 2011. Nutritional requirements for *in vitro* seed germination of 12 terrestrial, lithophytic and epiphytic orchids. *J Trop For Sci* 23 (2): 204-212.
- Nurbaiti R. 2016. Studi Pengecambahan Biji Dan Pertumbuhan Seedling Anggrek *Dendrobium* Hibrida *in Vitro*: Pengaruh Media Dasar, Ekstrak Tomat dan Arang aktif. [Skripsi]. Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Nurfadilah S. 2016. The effect of culture media and activated charcoal on asymbiotic seed germination and seedling development of a threatened orchid *Dendrobium taurilinum* J.J. Smith *in vitro*. *Berita Biologi* 15 (1): 49-57.
- Hasan H. 2016. Berita Resmi PVT Pendaftaran Varietas Lokal. No. Publikasi: 27/BR/PVL/102016, Anggrek Pensil (*Papilionanthe hookeriana*).
- Hossain MM, Dey R. 2013. Multiple regeneration pathways in *Spathoglottis plicata* Blume – A study *in vitro*. *South African J Bot* 85: 56-62.
- Irawati. 2009. Self and cross inoculation of *Papilionanthe hookeriana* and *Taeniophyllum obtusum* orchid mycorrhiza. *Buletin Kebun Raya Indonesia* 12 (1): 11-18.
- Prihantini NB, Damayanti D, Yuniati R. 2007. Pengaruh konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus* Isolat Subang. *Makara Sains* 11 (1): 1-9.
- Puspitaningtyas DM, Handini E. 2014. Penyimpanan biji anggrek *Coelogyne* spp. untuk konservasi *ex situ*. *Buletin Kebun Raya* 17 (2): 101-112.
- Roilan. 2016. Anggrek Pensil (*Papilionanthe hookeriana*) asli Bengkulu sebagai spesies baru. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 10 (2): 204-210.
- Romeida A, Ganefianti DW, Rustikawati. 2016. Embryogenic Callus Induction of Pencil Orchid (*Papilionanthe hookeriana* Rchb.F.) Through *in Vitro* Culture. *Intl J Adv Sci Eng Inform Technol* 6 (2): 196-200.
- Seaton P, Ramsay M. 2005. Growing Orchids from Seed. Royal Botanic Garden. Kew, Kew, UK.
- Setiawati T, Nurzaman M, Rosmiati ES, Pitaloka GG. 2016. Pertumbuhan tunas anggrek *Dendrobium* sp. menggunakan kombinasi Benzyl Amino Purin (BAP) dengan ekstrak bahan organik pada Media Vacin and Went (VW). *Jurnal Pro-Life* 3 (3): 143-152.
- Tawaro S, Suraninpong P, Chanprame S. 2008. Germination and regeneration of *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. on a medium supplemented with some organic sources. *Walailak J Sci Tech* 5 (2): 125-135.