

Optimasi Penggunaan Air Kelapa Sebagai Substitusi Sitokinin Pada Media *In Vitro* Protokorm Anggrek *Vanda* sp.

Mustika Tuwo^{1*}, Elis Tambaru¹, Aliah Muslimah¹, Ghy Zwela Agra All May Ghita¹

¹*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar 90245, Indonesia*

**Email: mustikatuwo@unhas.ac.id; mustikatuwo@gmail.com*

Abstrak

*Produksi anggrek terus mengalami peningkatan yang stabil. Kondisi ini menciptakan peluang ekspor yang lebih luas ke pasar internasional, yang dapat dimaksimalkan melalui pengembangan agribisnis benih hortikultura menggunakan teknik perbanyakan bibit dengan teknologi kultur in vitro. Keberhasilan teknik ini sangat bergantung pada penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT). Namun, ZPT sintetis sering kali mahal dan sulit didapat. Oleh karena itu, diperlukan alternatif yang efektif dan ramah lingkungan untuk mendukung pertumbuhan eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan konsentrasi optimal air kelapa sebagai ZPT substitusi. Eksplan protokorm anggrek *Vanda* sp. dikulturkan dalam media Murashige and Skoog (MS) dengan penambahan air kelapa konsentrasi 5%; 10%; 15%; 20%; dan 25%. Pengamatan dilakukan selama delapan minggu. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah jumlah tunas dan daun. Penambahan air kelapa terbukti meningkatkan jumlah tunas dan daun dibandingkan dengan kontrol. Jumlah tunas tertinggi dicapai pada konsentrasi 20%, dengan rata-rata 28.2 tunas, sementara jumlah daun terbanyak diperoleh pada konsentrasi 25%, dengan rata-rata 32.6 daun. Perlakuan air kelapa konsentrasi 20% hingga 25% dapat direkomendasikan sebagai pilihan optimal untuk meningkatkan efisiensi propagasi anggrek *Vanda* sp. secara in vitro.*

Kata kunci: *Bahan alami, mikropropagasi, protocorm, ZPT alternatif*

PENDAHULUAN

Anggrek adalah salah satu tanaman hias yang paling populer di dunia, terutama karena keindahan dan keunikan bunganya. Di antara berbagai jenis anggrek, *Vanda* sp. menonjol sebagai salah satu spesies yang banyak diminati oleh para kolektor dan penggemar tanaman hias karena bentuk, warna, dan aroma bunganya yang memikat, menjadikannya memiliki nilai ekonomi yang tinggi di pasar tanaman hias. Namun, budidaya anggrek, termasuk *Vanda* sp., sering kali menghadapi tantangan, terutama dalam hal perbanyakan bibit yang efektif dan efisien (Setiaji *et al.*, 2021). Perbanyakan *Vanda* sp. secara konvensional melalui biji atau stek memiliki beberapa keterbatasan,

termasuk rendahnya tingkat keberhasilan dan waktu yang lama untuk mencapai pertumbuhan yang optimal. Oleh karena itu, teknologi kultur *in vitro* menjadi alternatif yang sangat potensial untuk memperbanyak anggrek secara massal. Kultur *in vitro* memungkinkan memperbanyak bibit dalam skala besar dengan mempertahankan karakteristik genetik yang diinginkan, serta menghasilkan tanaman bebas dari patogen (Hartati *et al.*, 2019). Namun, salah satu faktor kunci dalam keberhasilan kultur *in vitro* adalah penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT), khususnya sitokinin, yang berperan penting dalam proses pembelahan sel dan pertumbuhan tunas. Sitokinin sintetik seperti kinetin dan benzylaminopurine (BAP) sering digunakan dalam media kultur, tetapi ketersediaannya terbatas dan harganya yang relatif mahal menjadi kendala (Setiaji, *et al.*, 2021).

Sebagai alternatif, penggunaan bahan alami yang mudah didapat dan ramah lingkungan seperti air kelapa mendapat perhatian dalam beberapa penelitian. Air kelapa diketahui mengandung zat pengatur tumbuh alami sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa air kelapa memiliki potensi besar dalam mendukung pertumbuhan berbagai jenis tanaman, termasuk anggrek, ketika digunakan dalam media kultur *in vitro* (Latunra *et al.*, 2021; Tuwo, *et al.*, 2021a; Tuwo *et al.*, 2021b; Tuwo & Indrianto, 2023). Meskipun demikian, konsentrasi optimal air kelapa untuk substitusi sitokinin dalam kultur jaringan *Vanda* sp. belum ditentukan secara pasti. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan penggunaan air kelapa sebagai substitusi sitokinin pada media *in vitro* protokorm *Vanda* sp. Konsentrasi optimal diharapkan dapat meningkatkan efisiensi dan keberhasilan memperbanyak anggrek melalui kultur *in vitro*, sekaligus menawarkan solusi yang lebih ekonomis dan ramah lingkungan dibandingkan dengan penggunaan sitokinin sintetik.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar pada bulan Februari-April 2024.

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan adalah protokorm anggrek *Vanda* sp. yang berumur 3 bulan diperoleh dari Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Air kelapa dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, media dasar *Murashige and Skoog* (MS), bioagar 7 g/L, sukrosa 30 g/L, NaOH 1 N, HCl 1 N, alkohol 90% dan akuades. Setiap perlakuan diulang lima kali.

Pembuatan Medium dan Penanaman Protokorm

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Untuk membuat 1 liter media, 4,43 g/L media MS ditimbang, kemudian ditambahkan sukrosa sebanyak 30 g/L, serta air kelapa. Setelah itu, ditambahkan air steril hingga volume mencapai 1 liter dan diaduk hingga merata. pH media diukur hingga mencapai 5,8; jika kurang dari 5,8, ditambahkan NaOH, sedangkan jika lebih dari 5,8, ditambahkan HCl. Setelah itu, bioagar sebanyak 7 g/L ditambahkan lalu media dihomogenkan. Media dituang ke dalam botol dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15-17,5 psi selama \pm 30 menit.

Protokorm ditanam dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Setiap botol kultur diisi dengan dua protokorm. Pemeliharaan kultur dilakukan dengan menempatkan botol pada rak kultur suhu \pm 26°C. Rak kultur diberi penerangan dengan intensitas cahaya 1000 – 4000 lux.

Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan setiap minggu selama delapan minggu. Parameter pertumbuhan yang diamati:

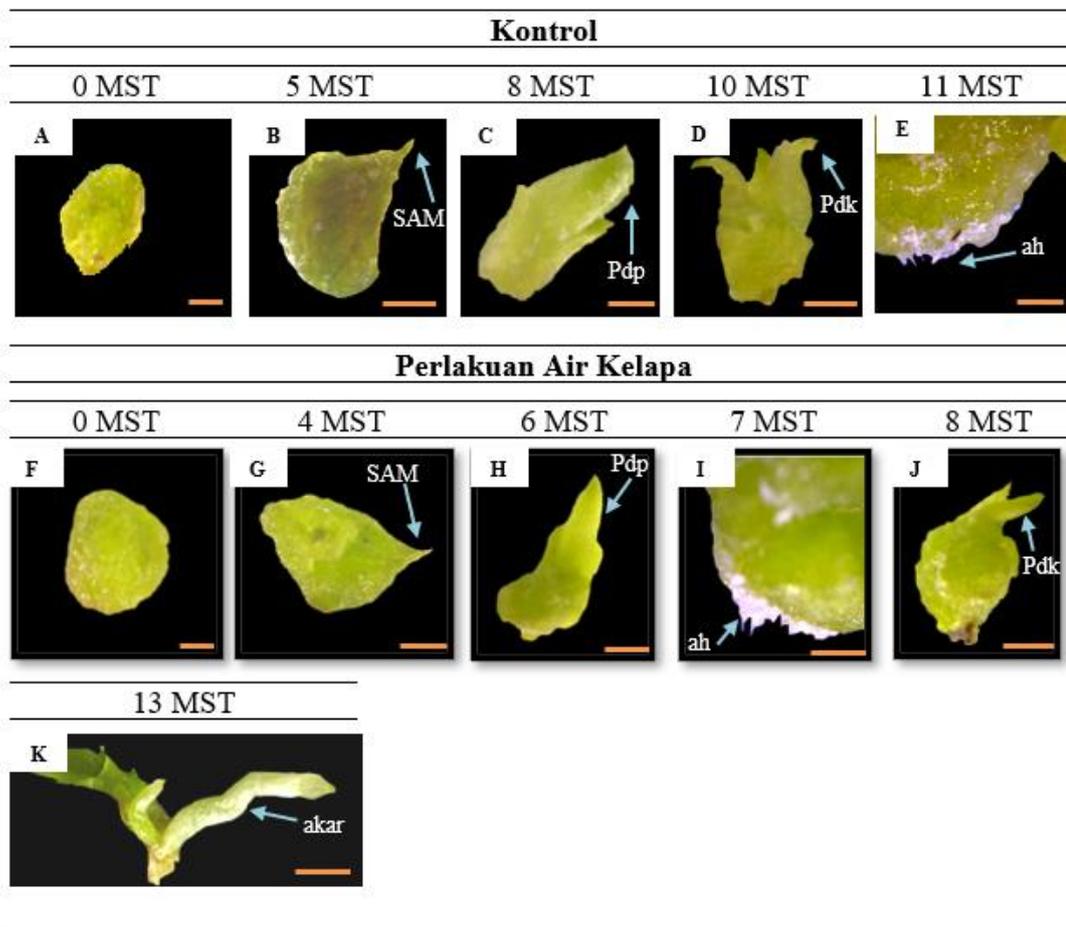
1. Jumlah tunas, dihitung berdasarkan jumlah total tunas yang terbentuk.
2. Jumlah daun, dihitung berdasarkan jumlah total daun pada setiap protokorm yang terbentuk.

Setelah 8 minggu dalam kultur, data mengenai jumlah tunas dan jumlah daun pada setiap eksplan dicatat. Nilai rata-rata dihitung menggunakan software (Microsoft Office Excel Worksheet).

HASIL DAN PEMBAHASAN

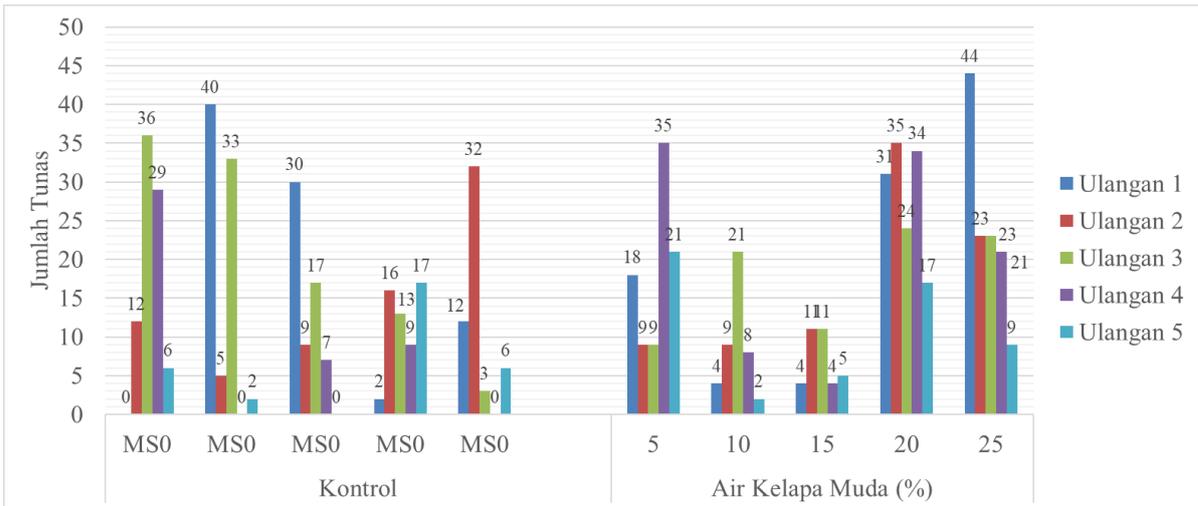
Protokorm memiliki toleransi yang baik terhadap perlakuan air kelapa dengan konsentrasi antara 5% hingga 25%, yang ditunjukkan oleh tingkat kelangsungan hidup di atas 90%. Persentase kelangsungan hidup protokorm setelah diberi perlakuan dipengaruhi oleh jenis perlakuan dan konsentrasi yang diterapkan. Perlakuan dengan air kelapa menunjukkan tingkat kelangsungan hidup di atas 70%. Ini menandakan bahwa konsentrasi yang diberikan masih berada dalam kisaran optimal untuk pertumbuhan protokorm. Jika konsentrasi yang diberikan melebihi batas optimal, hal ini dapat mengganggu proses metabolisme dan menurunkan laju pertumbuhan. Pertumbuhan protokorm dipengaruhi oleh keseimbangan antara zat pengatur tumbuh (ZPT) endogen dan eksogen. Jika konsentrasi ZPT eksogen yang diberikan melebihi kebutuhan tanaman, hal itu dapat menghambat pertumbuhan (Supriyanto & Yulianto, 2022). Keberhasilan hidup protokorm juga sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang steril. Kontaminasi oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur dapat ditandai dengan munculnya koloni berwarna putih atau krem pada permukaan media. Wati *et al.*, (2020) menjelaskan bahwa kontaminasi bakteri dapat dikenali melalui koloni berwarna kuning kecokelatan, eksplan yang berlendir dan basah, karena bakteri langsung menyerang jaringan tanaman. Kontaminasi oleh jamur ditandai dengan munculnya koloni putih di sekitar eksplan, serta adanya hifa dengan garis-garis seperti benang berwarna putih hingga abu-abu yang membuat eksplan tampak kering (Tuwo *et al.*, 2022).

Protokorm anggrek *Vanda* sp. yang berumur 3 bulan berada pada fase 2 (protokorm yang membesar, berbentuk bulat atau oval, dan tidak memiliki testa) ditanam pada media kontrol dan media dengan perlakuan. Protokorm yang berusia 3 bulan (fase 2) ditanam pada media kontrol (Gambar 1A), membentuk *Shoot Apical Meristem* (SAM) (fase 3) pada 5 minggu setelah tanam (MST) (Gambar 1B), diikuti oleh pembentukan primordia daun pertama (fase 4) pada 8 MST (Gambar 1C), kemudian terbentuk primordia daun kedua (fase 5) pada 10 MST (Gambar 1D), dan muncul *absorbing hair* pada 11 MST (Gambar 1E). SAM dan *absorbing hair* adalah indikator untuk menilai kecepatan pertumbuhan protokorm. SAM merupakan struktur awal yang membentuk daun, sedangkan *absorbing hair* adalah struktur seperti rambut yang berfungsi menyerap nutrisi dari lingkungan sekitarnya. Protokorm kemudian akan berdiferensiasi menjadi organ hingga terbentuk inisiasi daun dan akar, yang akhirnya akan berkembang menjadi individu baru yang sempurna. Pada media perlakuan dengan air kelapa, pertumbuhan protokorm anggrek *Vanda* sp. menunjukkan pembentukan fase 3 yaitu terbentuknya SAM pada 4 minggu setelah tanam (MST) (gG1G), disusul dengan pembentukan primordia daun pertama (fase 4) pada 6 MST (Gambar 1H), dan munculnya *absorbing hair* pada 7 MST (Gambar 1I). Kemudian, terbentuk primordia daun kedua (fase 5) pada 8 MST (Gambar 1J), dan munculnya akar pada 13 MST (Gambar 1K) (Tuwo *et al.*, 2021a).



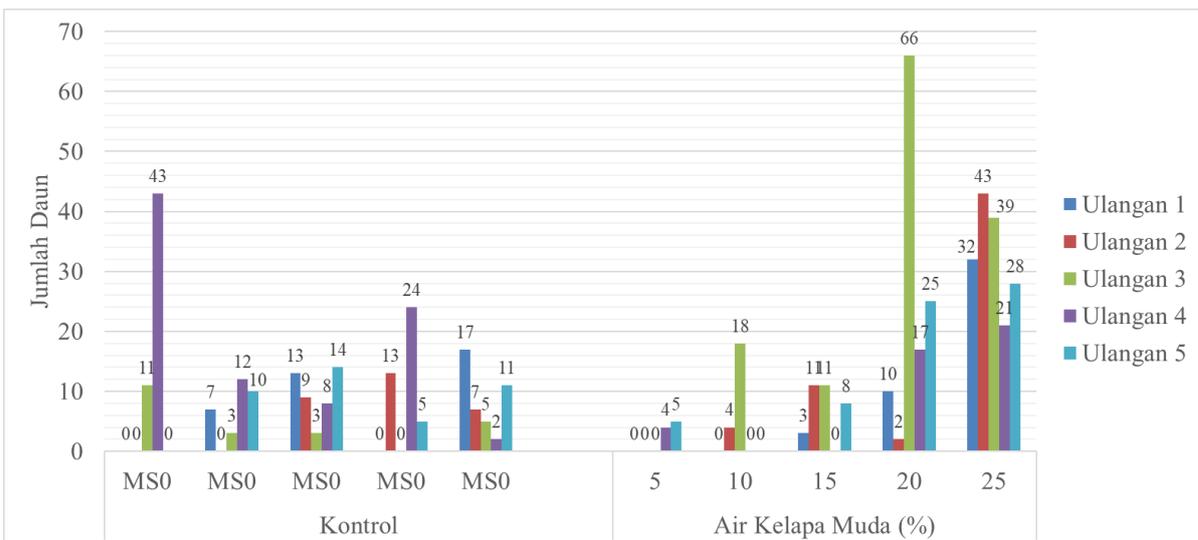
Gambar 1. Tahapan pertumbuhan protokorm anggrek *Vanda* sp. pada perlakuan kontrol dan air kelapa muda. (Skala 0,1 cm). SAM = *Shoot Apical Meristem*; pdp = primordia daun pertama; ah = *absorbing hair*; pdk = primordia daun kedua. MST = Minggu Setelah Tanam.

Perlakuan air kelapa pada media *in vitro* memiliki pengaruh signifikan terhadap percepatan perkembangan protokorm anggrek *Vanda* sp. Perlakuan ini mempercepat munculnya *Shoot Apical Meristem* (SAM), pembentukan primordia daun (pdp), serta pertumbuhan *absorbing hair* (ah) dibandingkan dengan media kontrol. Percepatan pembentukan struktur awal (Gambar 1) memungkinkan protokorm untuk memasuki tahap pertumbuhan vegetatif (tunas dan daun) lebih cepat, yang kemudian diikuti oleh peningkatan signifikan dalam jumlah tunas dan daun seperti yang terlihat pada grafik (Gambar 2 dan 3). Pada perlakuan kontrol, jumlah tunas yang terbentuk rata-rata adalah 16.6 tunas. Perlakuan dengan air kelapa menunjukkan peningkatan yang bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi 20% air kelapa menghasilkan jumlah tunas tertinggi dengan rata-rata 28.2 tunas, yang menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan kontrol. Konsentrasi 25% air kelapa menghasilkan rata-rata 24 tunas, sedikit lebih rendah dari konsentrasi 20%, tetapi tetap lebih tinggi dibandingkan kontrol. Konsentrasi 5% air kelapa menghasilkan rata-rata 18 tunas, sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol. Konsentrasi 10% dan 15% air kelapa masing-masing menghasilkan rata-rata 8.8 tunas dan 7 tunas, yang lebih rendah dibandingkan kontrol.



Gambar 2. Pengaruh Air Kelapa Terhadap Jumlah Tunas Protokorm Anggrek *Vanda sp.*

Pada perlakuan kontrol, jumlah daun yang terbentuk rata-rata adalah 10.8 daun. Perlakuan dengan air kelapa konsentrasi 25% menghasilkan jumlah daun tertinggi dengan rata-rata 32.6 daun, menunjukkan peningkatan yang sangat signifikan dibandingkan kontrol. Konsentrasi 20% menghasilkan rata-rata 24 daun, yang juga menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan kontrol. Konsentrasi 15%, 10%, dan 5% masing-masing menghasilkan rata-rata 6.6 daun, 4.4 daun, dan 1.8 daun, yang semuanya lebih rendah dibandingkan kontrol. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa air kelapa memiliki efek positif terhadap peningkatan jumlah tunas dan daun pada kultur *in vitro* protokorm anggrek *Vanda sp.*, terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 20% dan 25%. Konsentrasi 20% dan 25% terbukti menjadi yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah tunas dan daun, mengindikasikan bahwa pada konsentrasi ini, air kelapa mampu menyediakan zat pengatur tumbuh alami yang cukup untuk mendukung pertumbuhan vegetatif yang optimal.



Gambar 3. Pengaruh Air Kelapa Terhadap Jumlah Daun Protokorm Anggrek *Vanda sp.*

Media yang mengandung air kelapa memiliki zat pengatur tumbuh (ZPT) yang mampu mempercepat pertumbuhan protokorm. Air kelapa kaya akan ZPT golongan sitokinin seperti kinetin (273.62 mg/L) dan zeatin (290.47 mg/L), serta mengandung auksin dan giberelin. Sitokinin berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel, sementara auksin berperan dalam pemanjangan sel di area meristem ujung, dan giberelin mendorong peningkatan tinggi tanaman. Selain itu, air kelapa mengandung nitrogen (N) sebanyak 43.00 mg/L yang dapat merangsang pertumbuhan daun dan tunas (Abdullah, dkk., 2024; Muharyati *et al.*, 2024). Kandungan nitrogen yang memadai dapat mempercepat perkembangan tanaman, terutama pada daun (Ariyanti, dkk., 2020). Penggunaan air kelapa sebagai suplemen pada media pertumbuhan juga diketahui dapat meningkatkan jumlah daun hingga 4-5 helai. Selain itu, kalsium (Ca) sebanyak 24.67 mg/L dalam air kelapa berperan dalam pembentukan bulu akar dan pemanjangan akar (Pratama & Nilahayati, 2018), sementara fosfor (P) sebesar 13.17 mg/L berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan penyuburan akar (Darlina, dkk., 2016; Saepudin, dkk., 2020). Perlakuan air kelapa konsentrasi 20% hingga 25% dapat direkomendasikan sebagai pilihan optimal untuk meningkatkan efisiensi perbanyakan anggrek *Vanda* sp. melalui kultur jaringan.

KESIMPULAN

Perlakuan air kelapa dapat digunakan sebagai substitusi zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur *in vitro* anggrek *Vanda* sp., dengan konsentrasi optimal 20% dan 25%. Pada konsentrasi tersebut, air kelapa terbukti meningkatkan jumlah tunas dan daun secara signifikan dibandingkan dengan kontrol, menjadikannya alternatif yang efektif dan ramah lingkungan untuk mendukung propagasi *in vitro* anggrek *Vanda* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Universitas Hasanuddin Tahun Anggaran 2024 melalui Skim Penelitian Dosen Pemula Unhas (PDP) dengan No. 00310/UN4.22/PT.01.03/2024. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Lestari, C., dan Numba, S., 2024. *Pengaruh Air Kelapa Muda Terhadap Pertumbuhan Kalus Secara In Vitro Dua Varietas Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.)*. Jurnal Agrotek. 8(1): 1-8.
- Ariyanti, M., Maxiselly, Y., dan Soleh, M. A., 2020. *Pengaruh Aplikasi Air Kelapa Sebagai Zat Pengatur Tumbuh Alami Terhadap Pertumbuhan Kina (Cinchona ledgeriana Moens) Setelah Pembentukan Batang Di Daerah Marjinal*. Jurnal Agrosintesa. 3(1): 12-23.
- Darlina, Hasanuddin, dan Rahmatan, H., 2016. *Pengaruh Penyiraman Air Kelapa Cocos nucifera L. Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Lada Piper nigrum L.* Jurnal Ilmiah Mahasiswa Biologi. 1(1): 20-28.
- Hartati, S., Yunus, A., Cahyono, O., dan Setyawan B. A., 2019. *Penerapan Teknik Pemupukan Pada Aklimatisasi Anggrek Hasil Persilangan Vanda di Kecamatan Matesih Kabupaten Karanganyar*. Journal of Community Empowering and Services. 3(2): 63-70.
- Latunra, A.A., Tuwo, M., and Rezky, M., 2021. *In Vitro Propagation of Vanda tricolor Lindl. var. suavis Protocorm on Media Containing Liquid Organic Fertilizer as A Substitute for MS Media*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 886(1). 012006. DOI: 10.1088/1755-1315/886/1/012006.

- Muharyati, Y., Setiyadi, M. W., Khatimah, A., and Ardiansyah, A. 2024. *Propagation of the Vanda helvola Orchid In Vitro*. Jurnal Pijar Mipa. 19(3): 488–492. DOI: <https://doi.org/10.29303/jpm.v19i3.6600>.
- Pratama, J., dan Nilahayati. 2018. *Modifikasi Media MS dengan Penambahan Air Kelapa Untuk Subkultur I Anggrek Cymbidium*. Jurnal Agrium. 15(2): 96-109.
- Saepudin, A., Yulianto, Y., dan Aeni, R.N., 2020. *Pertumbuhan Eksplan In Vitro Anggrek Hibrida Dendrobium Pada Beberapa Media Dasar dan Konsentrasi Air Kelapa*. Media Pertanian. 5(2): 97-115. DOI: <https://doi.org/10.37058/mp.v5i2.2451>.
- Setiaji, A., Annisa, R.R.R., Santoso, A. D., Kinasih, A., and Riyadi, A.D.R., 2021. *Factors Affecting Mass Propagation of Vanda Orchid in Vitro*. Cell Biology & Development. 5(2): 51-62. DOI: 10.13057/cellbioldev/t050201.
- Setiaji, A., Annisa, R.R.R., Santoso, A. D., Kinasih, A., and Riyadi, A.D.R., 2021. *In Vitro Propagation Of Vanda Orchid: A Review*. Comunicata Scientiae Horticultural Journal. 12: 1-8. DOI: 10.14295/CS.v12.3427.
- Supriyanto, E.A., dan Yulianto, W., 2022. *Pengaruh Konsentrasi ZPT Auksin dan Panjang Entres Terhadap Pertumbuhan Bibit Tanaman Alpukat (Persea americana L.)*. Innofarm: Jurnal Inovasi Pertanian. 24(1): 75-86.
- Tuwo, M., Latunra, A.I., and Ana, E.T., 2021. *Micropropagation of Vanda tricolor Lindl. var. suavis with Various Concentrations of Organic Growth Supplements*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 886 (1), 012004. DOI: 10.1088/1755-1315/886/1/012004.
- Tuwo, M., Baharuddin, Latunra, A.I., Masniawati, A., and Kuswinanti, T., 2021. *Effect of Organic Growth Supplements on In Vitro Shoot Regeneration of Banana cv. Barangan Musa acuminata Colla*. Metamorfoza: Journal of Biological Sciences 8(1): 124-130.
- Tuwo, M., Dewi, A.N., Appa, Y.G.D., Ramdani, R.I., and Salsabila, A., 2022. *Effect of Surface Sterilization Methods on Seed Culture of JC Citruslimonia Osbeck*. Agrotrop: Journal on Agriculture Science, 12(2): 219-229. DOI: <https://doi.org/10.24843/AJoAS.2022.v12.i02.p04>.
- Tuwo, M., Indrianto, A., 2023. *In Vitro Seed Germination of Indonesian Native Orchid Vanda Hybrid*. AIP Conference Proceedings 2596 (1). DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0120686>.
- Wati, T., Astarini, I. A., Pharmawati, M., dan Hendriyani, E., 2020. *Perbanyakan Begonia bimaensis Undaharta & Ardaka Dengan Teknik Kultur Jaringan*. Journal of Biological Sciences.7(1): 112-122.