

---

# PENYIMPANAN BIJI ANGGREK *Coelogyne* spp. UNTUK KONSERVASI *EX SITU*

## Orchid Seed Storage of *Coelogyne* spp. for *Ex Situ* Conservation

Dwi Murti Puspitaningtyas dan Elizabeth Handini

Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya–LIPI

Jl. Ir. H. Juanda 13, Bogor 16122, Jawa Barat, Indonesia

Email: [puspitakrb@yahoo.com](mailto:puspitakrb@yahoo.com)

---

### Abstract

*Coelogyne* is a native orchid to Indonesia which has a relatively large flower and attractive colors. *Coelogyne* seed storage needs to be done to conserve the diversity of the species. The experiment of orchid seeds storage on seven species of *Coelogyne* at temperature  $-20^{\circ}\text{C}$  have been carried out for four years at Center for Plant Conservation Botanic Gardens–Indonesian Institute of Sciences. The experimental design used completely randomized design, with media treatment as factors for each species of *Coelogyne*. Four kinds of media for seed germination test were KCA (Knudson C), KC (modified Knudson C), VW (modified Vacin and Went), and HS (modified Hyponex). Seed viability test was observed after the seeds were stored for 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 months. The results showed that the seed of *Coelogyne* able to germinate in four experimental media. *Coelogyne* seed viability declined in three months, six months, nine months, and so on depending on the *Coelogyne* species. Seeds of *Coelogyne* which can be stored for 1–2 years were *C. pandurata*, *C. asperata* and *C. rumphii* while the seeds can be stored for three years were *C. foerstermannii* and *C. pulverula*. Seeds of *C. rochussenii* and *C. celebensis* with a short life span should be sown immediately after harvesting, and then preserve them by *in vitro* culture or by synthetic seeds through encapsulation of *protocorm*.

**Keywords:** *Coelogyne*, media, seed, viability

### Abstrak

*Coelogyne* merupakan anggrek asli Indonesia yang mempunyai ukuran bunga relatif besar dan warna menarik. Penyimpanan biji *Coelogyne* perlu dilakukan untuk menjaga keragaman spesies tersebut. Percobaan penyimpanan biji pada tujuh spesies anggrek *Coelogyne* pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  telah dilakukan selama empat tahun di PKT KR–LIPI. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, dengan faktor media yang diperlakukan pada masing-masing spesies *Coelogyne*. Empat macam media kultur yang digunakan untuk menguji perkecambahan biji adalah KCA (Knudson C), KC (modifikasi Knudson C), VW (modifikasi Vacin and Went), dan HS (modifikasi Hyponex). Uji viabilitas biji diamati setelah biji disimpan selama 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji *Coelogyne* spp. mampu berkecambah di empat media percobaan. Viabilitas biji *Coelogyne* spp. menurun dalam waktu tiga bulan, enam bulan, sembilan bulan, dan seterusnya tergantung pada spesies *Coelogyne* tersebut. Biji *Coelogyne* yang dapat disimpan selama 1–2 tahun adalah *C. pandurata*, *C. asperata* dan *C. rumphii*, sedangkan biji yang dapat disimpan selama tiga tahun adalah biji *C. foerstermannii* dan *C. pulverula*. Biji *C. rochussenii* dan *C. celebensis* dengan masa hidup yang

singkat harus ditanam segera setelah panen, dan selanjutnya disimpan dalam bentuk kultur bibit *in vitro* atau biji sintetis melalui enkapsulasi *protocorm*.

**Kata kunci: biji, *Coelogyne*, media, viabilitas**

## PENDAHULUAN

Masyarakat dunia menaruh perhatian yang sangat besar terhadap masalah konservasi untuk menjaga tidak punahnya suatu jenis tumbuhan. Anggrek merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki keterancamannya sangat besar terhadap kepunahan. Menurut World Conservation Monitoring Centre, jenis tumbuhan yang terancam di Indonesia paling tinggi adalah anggrek, sebanyak 39% (WCMC, 1995). Hal ini disebabkan karena alih fungsi lahan hutan akan menyebabkan terganggunya keberadaan anggrek-anggrek epifit. Disamping itu, anggrek memiliki biji yang sangat kecil dan tidak memiliki endosperma sebagai cadangan makanan sehingga proses perkecambahannya di alam terhambat. Biji anggrek ringan, dengan berat 0,341–24  $\mu\text{g}$  dan berukuran 0.15–6 mm (Arditti dan Ghani, 2000). Satu buah anggrek mengandung 1.000-4.000.000 biji, tergantung ukuran buah dan biji untuk setiap jenis anggrek (Arditti, 1967). Perbanyakannya anggrek dengan biji banyak menghadapi tantangan, baik dari segi teknologi maupun budidayanya. Namun, biji mempunyai peran yang sangat penting sebagai bahan perbanyakannya untuk mempertahankan keragaman genetik dalam spesies tersebut. Penyimpanan biji merupakan salah satu cara konservasi untuk menjaga keragaman tersebut dan menghemat tempat. Biji dapat disimpan di bank biji dengan kondisi yang disesuaikan agar biji dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama.

Saat ini, anggrek relatif mudah diperbanyak dari biji (Seaton dan Ramsay, 2005). Memproduksi anggrek secara besar-besaran lebih sering dilakukan daripada membiarkannya tumbuh secara liar (Swartz dan Dixon, 2009). Penyediaan bahan benih lebih banyak dan tersedia secara luas akan secara tidak langsung dapat mengurangi tekanan terhadap populasi anggrek di alam. Satu buah anggrek yang masih hijau dapat menghasilkan ribuan

bibit yang baru. Namun, biji dari buah yang masih hijau memiliki kelemahan yaitu tidak dapat dikeringkan, sehingga tidak dapat disimpan lama di bank biji (Seaton dan Pritchard, 2003). Titik kematangan biji dicapai pada akhir pematangan kapsul yang berkaitan dengan penurunan kadar air dan telah terbukti sangat penting untuk keberhasilan penyimpanan biji hibrida *Phalaenopsis amabilis* Lindl. (Schwallier *et al.*, 2011)

Biji anggrek dianggap bersifat ortodoks, sehingga untuk memperpanjang umur masa simpan perlu dilakukan pengeringan sampai kadar air 5% dan penyimpanan beku ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) dan teknologi ini sudah banyak digunakan di bank biji (Seaton *et al.*, 2013). Biji-biji anggrek akan cepat kehilangan viabilitasnya jika disimpan pada suhu kamar ( $21-22^{\circ}\text{C}$ ) (Humphreys, 1960; Kano, 1965). Penyimpanan biji anggrek pada suhu beku ( $-18$  sampai  $-20^{\circ}\text{C}$ ) memberikan hasil yang terbaik terhadap persentase perkecambahan biji anggrek *Cymbidium finlaysonianum* dibanding penyimpanan biji pada suhu kamar ( $27^{\circ}\text{C}$ ) (Handini dan Puspitaningtyas, 2009). Secara umum viabilitas biji dapat diperpanjang periode simpannya dengan cara menurunkan kadar air biji, suhu maupun oksigen dalam ruang simpan.

Keberhasilan perkecambahan biji anggrek tergantung terutama pada viabilitas biji dan media yang digunakan untuk perkecambahan. Viabilitas biji merupakan suatu istilah yang digunakan untuk menilai kemampuan daya hidup biji yang disimpan. Ada dua metode yang digunakan untuk pengujian viabilitas biji, yaitu metode langsung dan tidak langsung (Singh, 1981). Perkecambahan biji-biji anggrek pada media buatan dan menghitung jumlah biji-biji yang berkecambah maupun yang tidak berkecambah merupakan metode pengujian viabilitas biji secara langsung (Singh, 1981; Van Waes dan Debergh, 1986). Biji dihitung berkecambah bila terjadi pembentukan *protocorm*, yaitu kumpulan

sel-sel yang terbentuk ketika embrio biji anggrek mulai berkecambah. Uji viabilitas dengan metode tidak langsung dilakukan dengan cara menguji aktivitas metabolisme biji dengan bantuan bahan-bahan kimia seperti garam Tetrazolium atau *Flourescein diacetate* (Pritchard, 1985).

Anggrek marga *Coelogyne* di dunia kurang lebih ada 200 jenis. *Coelogyne* tumbuh tersebar di sepanjang kawasan Asia Tropis, meliputi India, Indochina, Asia Tenggara dan Kepulauan Pasifik dengan pusat keragaman yang terbesar ada di Borneo (Serawak, Kalimantan, Sabah, Brunei), Sumatra dan Himalaya (Gravendeel, 2000). *Coelogyne* yang ada di Indonesia diperkirakan kurang dari 100 jenis (Gravendeel, pers.com.). *Coelogyne* mempunyai bunga yang berukuran relatif besar dengan bentuk dan warna yang menarik, sehingga perlu dijaga kelestariannya.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji berbagai jenis media yang sesuai untuk perkecambahan anggrek *Coelogyne* spp., mengetahui daya simpan biji anggrek *Coelogyne* spp. yang disimpan dalam *freezer* (-20°C) dan data tentang perilaku biji *Coelogyne* spp. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk strategi konservasi dimasa yang akan datang.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI. Pemanenan, penyimpanan dan pengamatan biji dilakukan mulai bulan November 2008 sampai Juni 2013.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji dari tujuh spesies anggrek *Coelogyne* spp. (*C. rochussenii* de Vriese, *C. pandurata* Lindl., *C. asperata* Lindl., *C. rumphii* Lindl., *C. foerstermannii* Rchb.f., *C. celebensis* J.J.Sm., *C. pulverula* Teijsm. & Binn.). Biji diambil dari buah yang sudah tua dan masak fisiologis serta sudah

mulai merekah kulit buahnya. Satu *seed lot* diperoleh dari satu buah dengan ribuan biji didalamnya yang digunakan sebagai bahan tanaman untuk uji media perkecambahan, sehingga kemasakan embrio dianggap seragam.

Biji dikeluarkan dari buah dengan menggunakan spatula, kemudian disaring untuk memisahkan biji dari serabut-serabut buah yang terbawa. Biji hasil ayakan ditampung di atas cawan petri atau gelas piala. Sebelum disimpan, biji anggrek dikeringkan terlebih dahulu dalam desikator selama lima hari, untuk mengurangi kadar airnya. Setelah itu, biji dimasukkan dalam botol mini kedap udara, kemudian botol mini dimasukkan dalam botol yang lebih besar ukurannya dan diberi satu bungkus *silica* gel untuk menjaga kelembaban ruangan di dalam botol simpan. Botol tersebut selanjutnya disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C. Uji viabilitas biji dilakukan pada periode tertentu.

Sterilisasi biji anggrek perlu dilakukan sebelum pengecambahan biji pada berbagai media. Metode sterilisasi biji anggrek adalah sebagai berikut:

1. Biji diambil secukupnya. Sampel biji kemudian dimasukkan dalam botol yang berisi aquadest steril yang ditambah 2–3 tetes larutan Tween 20, kemudian dikocok sebentar agar terlarut. Setelah itu botol divakum selama satu jam.
2. Proses selanjutnya dilakukan di dalam *laminar air flow*. Larutan Tween dibuang, kemudian biji direndam dengan Clorox 10% selama 10 menit. Setelah itu biji direndam dengan Clorox 5% selama lima menit, kemudian dibilas dengan air steril sampai tiga kali.
3. Pada bilasan yang ketiga, biji didistribusikan ke dalam media dengan cara disemprotkan dan diratakan. Air yang menggenang dihisap dengan pipet sehingga hanya tersisa biji di atas media semai.
4. Setelah penyemaian, cawan petri langsung ditutup dengan *plastic wrap* dan diberi label tentang informasi spesies, media, perlakuan penyimpanan dan tanggal penanaman.

5. Biji yang sudah mulai berkecambah dengan jumlah yang konstan dihitung persentase perkecambahannya sebagai parameter uji viabilitas biji. Pengamatan perkecambahan dilakukan di bawah mikroskop agar biji yang tidak berkecambah dapat terlihat dan terhitung.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor, yaitu empat jenis media yang diperlakukan pada masing-masing spesies *Coelogyne*. Empat macam media yang digunakan untuk menyemai biji anggrek *Coelogyne* spp., yaitu KCA (Knudson C murni), KC (modifikasi Knudson C dengan penambahan arang aktif 1 g/l, ekstrak taoge 150 g/l dan air kelapa 150 ml/l), VW (modifikasi Vacin dan Went dengan penambahan arang aktif 1 g/l, ekstrak taoge 100 g/l, tomat 100 g/l dan air kelapa 150 ml/l, dan HS (pupuk daun Hyponex dengan penambahan arang aktif 1 g/l, pepton 2 g/l dan kentang 40 g/l).

Uji viabilitas biji dilakukan pada penyimpanan nol bulan (tanpa penyimpanan) sebagai kontrol, penyimpanan satu, dua, tiga bulan, kemudian interval tiga bulan sekali yaitu enam bulan, sembilan bulan, dan 12 bulan, kemudian interval enam bulan yaitu 18 bulan dan 24 bulan, selanjutnya interval satu tahun yaitu 36 bulan, 48 bulan dan seterusnya hingga biji kehilangan daya kecambahnya. Metode pengujian viabilitas biji dilakukan secara langsung. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga ulangan untuk setiap perlakuan penyimpanan, setiap ulangan terdapat 100–200 biji. Persentase perkecambahan dihitung berdasarkan persentase jumlah biji yang berkecambah dari 100–200 biji yang disemai. Selain persentase perkecambahan, parameter yang diamati adalah morfologi biji sebelum dan setelah berkecambah.

Data yang dianalisis adalah persentase perkecambahan pada biji segar yang disemai, untuk mengetahui media terbaik bagi masing-masing spesies *Coelogyne*. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA, bila terdapat beda nyata

maka dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat respon media yang terbaik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Morfologi biji *Coelogyne* spp.

Bentuk dan ukuran biji anggrek marga *Coelogyne* beragam, umumnya berbentuk lonjong memanjang. Ukuran biji terbesar dimiliki oleh jenis *C. asperata* dan *C. pandurata*. Ukuran biji *C. asperata* panjang 2,2–3 mm dan lebar 0,2 mm, *C. pandurata* panjang 2–3 mm dan lebar 0,2 mm, *C. rochussenii* panjang 2–2,2 mm dan lebar 0,3–0,4 mm, *C. pulverula* panjang 1–1,5 mm dan lebar 0,1–0,2 mm, *C. foerstermannii* panjang 0,8–1 mm dan lebar 0,1–0,2 mm, *C. celebensis* panjang 0,3–0,5 mm dan lebar 0,1 mm, *C. rumphii* panjang 0,3–0,5 mm dan lebar 0,1 mm. Embrio terletak pada bagian tengah biji (Gambar 1). Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa biji *Coelogyne* tidak memiliki endosperm yang berfungsi sebagai tempat cadangan makanan yang diperlukan dalam proses perkecambahan biji. Biji *Coelogyne* memerlukan substrat yang dapat menginduksi proses perkecambahan dan mendukung pertumbuhannya untuk menjadi individu baru, sehingga diperlukan media perkecambahan dengan komposisi tertentu untuk mendukung proses tersebut.

### Uji Viabilitas terhadap waktu simpan

Kemampuan daya hidup biji anggrek sangat bervariasi tergantung keadaan biji pada saat dipanen dan kondisi penyimpanannya. Beberapa jenis anggrek mempunyai viabilitas biji kurang dari dua bulan (Hey, 1963) dan beberapa jenis viabilitas bijinya sampai sembilan bulan (Humphreys, 1960). Namun, biji beberapa jenis anggrek mungkin masih mampu tumbuh jika disimpan dalam jangka waktu lama (lebih dari 18 tahun) apabila penyimpanan dilakukan dalam keadaan kering dalam desikator dan pada suhu 0°C dalam lemari es (Kano, 1965).

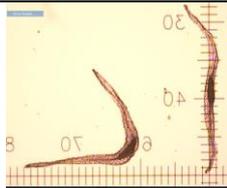
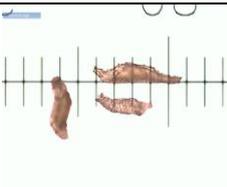
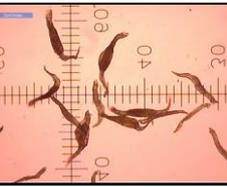
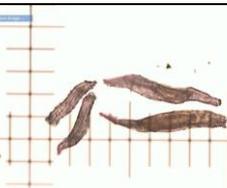
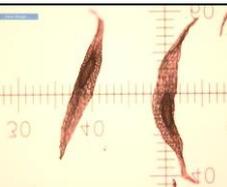
Jenis	Bunga	Biji (perbesaran 4x10; skala 1:10 mm)
<i>Coelogyne asperata</i>		
<i>Coelogyne celebensis</i>		
<i>Coelogyne foerstermannii</i>		
<i>Coelogyne pandurata</i>		
<i>Coelogyne pulverula</i>		
<i>Coelogyne rumphii</i>		
<i>Coelogyne rochussenii</i>		

Foto: DM. Puspitaningtyas

**Gambar 1.** Bentuk bunga dan biji marga *Coelogyne* spp. yang diuji daya simpan bijinya.

Hasil penyemaian menunjukkan bahwa biji *Coelogyne* dapat berkecambah dengan baik pada empat media yang dicoba dengan lama waktu perkecambahan yang berbeda-beda (Tabel 1, Gambar 2). Persentase perkecambahan biji segar anggrek *Coelogyne* pada empat media tidak menunjukkan beda nyata, kecuali pada *C. rumphii* dan *C. celebensis*. Media modifikasi Knudson C (KC) memberikan pengaruh yang terbaik untuk perkecambahan *C. rumphii* dan media modifikasi Hyponex memberikan respon yang terbaik untuk perkecambahan *C. celebensis*.

Biji yang baru dipanen dapat berkecambah membentuk *protocorm* dalam waktu kurang lebih

tiga minggu hingga dua bulan setelah disemai, tergantung pada jenis *Coelogyne* (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa media yang digunakan untuk menyemai biji *Coelogyne* mampu menginduksi perkecambahan biji. Berdasarkan kecepatan berkecambah maka *C. pulverula*, *C. rochussenii*, *C. foerstermannii* dan *C. pandurata* merupakan jenis yang paling cepat mereka dapat berkecambah dalam waktu tiga minggu hingga satu bulan setelah semai. *C. asperata* dan *C. rumphii* membutuhkan waktu 1–1,5 bulan setelah semai untuk berkecambah. Jenis yang paling lama berkecambah *C. celebensis*, yang membutuhkan waktu 2,5–3 bulan setelah semai (Gambar 2).

**Tabel 1.** Persentase Perkecambahan Biji *Coelogyne* spp. pada Empat Macam Media dengan Waktu Simpan yang Berbeda

Nama spesies <i>Coelogyne</i>	Media	Waktu Simpan Biji (Bulan)										
		0	1	2	3	6	9	12	18	24	36	48
<i>C. rochussenii</i>	VW	95,6a	94,9	92,1	86,0	13,7	0,0					
	KC	98,2a	96,3	94,7	93,9	8,0	0,0					
	KCA	98,1a	97,8	96,7	94,2	7,7	0,0					
	HS	97,0a	96,9	94,0	93,3	9,1	0,0					
<i>C. pandurata</i>	VW	98,2a	89,2	55,0	9,1	6,3	3,3	3,0	0,0			
	KC	99,1a	89,1	58,0	18,4	8,2	6,9	5,6	0,1			
	KCA	99,4a	81,0	63,8	14,0	7,7	6,8	2,0	0,0			
	HS	99,1a	86,7	51,8	5,1	3,0	1,6	0,4	0,0			
<i>C. asperata</i>	VW	45,6a	41,2	40,6	24,3	14,2	22,0	1,1	0,0	0,0		
	KC	53,3a	39,9	38,2	28,0	24,5	24,2	2,0	0,7	0,0		
	KCA	44,2a	44,0	43,2	35,4	33,1	24,6	1,9	0,2	0,0		
	HS	49,6a	45,6	36,0	34,2	26,7	22,9	1,3	0,7	0,0		
<i>C. rumphii</i>	VW	48,8b	20,3	8,3	5,2	0,8	0,0	0,6	0,0	0,0		
	KC	82,0a	32,6	17,2	11,1	1,6	1,3	0,9	0,8	0,3		
	KCA	65,7ab	48,2	24,2	6,9	2,8	1,0	0,7	0,1	0,0		
	HS	73,2ab	61,3	39,8	34,2	15,8	4,4	1,6	1,0	0,0		
<i>C. foerstermannii</i>	VW	82,0a	49,6	47,2	34,6	15,8	10,4	8,2	5,1	4,6	4,2	0,0
	KC	81,9a	54,0	54,0	43,0	20,0	14,8	13,8	10,4	9,6	6,0	1,2
	KCA	100a	81,6	48,2	44,3	39,1	31,2	16,8	16,0	5,7	4,2	0,0
	HS	86,9a	83,9	46,2	38,9	24,2	13,3	8,3	7,9	7,3	6,6	1,4
<i>C. celebensis</i>	VW	36,1ab	0,6	0,2	0,0	0,0						
	KC	37,9ab	1,2	0,4	0,2	0,0						
	KCA	24,0b	1,3	0,0	0,0	0,0						
	HS	51,4a	3,0	2,1	1,6	0,0						
<i>C. pulverula</i>	VW	66,4a	-	-	64,0	51,0	47,1	12,1	-	11,1	3,4	0,0
	KC	73,2a	-	-	67,0	50,3	43,3	14,8	-	11,4	1,4	0,0
	KCA	63,7a	-	-	59,9	53,0	38,7	24,0	-	12,3	2,8	0,0
	HS	74,0a	-	-	61,4	55,8	46,3	24,9	-	12,6	1,9	0,0

Keterangan = Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom waktu simpan biji 0 bulan tidak menunjukkan beda nyata pada taraf 5% ( $P < 0,05$ ). VW = modifikasi Vacin dan Went, KC = modifikasi Knudson C, KCA = Knudson C murni, HS = modifikasi Hiponex.

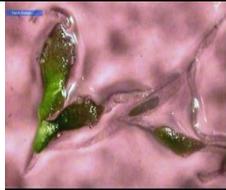
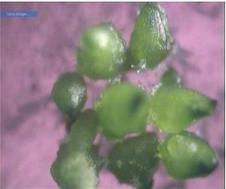
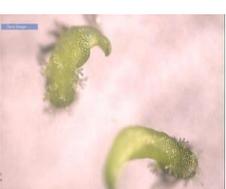
Jenis dan awal kecambah	Media Perkecambahan Biji Anggrek			
	HS	KC	KCA	VW
<i>Coelogyne asperata</i> Lindl. (1 bst)				
<i>Coelogyne celebensis</i> J.J.Sm. (2,5 bst)				
<i>Coelogyne foerstermannii</i> Rchb.f. (3 mst)				
<i>Coelogyne pandurata</i> Lindl. (3 mst)				
<i>Coelogyne pulverula</i> Teijsm. & Binn. (3 mst)				
<i>Coelogyne rumphii</i> Lindl. (1 bst)				
<i>Coelogyne rochussenii</i> de Vriese (3 mst)				

Foto: DM. Puspitingtyas

**Gambar 2.** *Protocorm Coelogyne* spp. hasil perkecambahan biji segar pada media semai yang berbeda (HS=modifikasi Hiponex, KC= modifikasi Knudson C, KCA= Knudson C murni, VW=modifikasi Vacin dan Went), bst=bulan setelah tanam, mst=minggu setelah tanam

Viabilitas biji *Coelogyne* mengalami penurunan setelah disimpan. Hal ini ditandai dengan penurunan persentase perkecambahan pada biji yang diuji (Tabel 1). Rentang waktu periode simpan tidak sama untuk setiap jenis *Coelogyne*. Biji *C. pandurata*, *C. asperata* dan *C. rumphii* memiliki periode simpan satu hingga dua tahun. Sementara itu *C. foerstermannii* dan *C. pulverula* memiliki periode simpan hingga tiga tahun. Namun, *C. rochussenii* dan *C. celebensis* memiliki periode simpan yang pendek, kurang dari satu tahun. Strategi konservasi untuk jenis-jenis biji yang periode simpannya pendek adalah melalui penyimpanan dalam bentuk bibit kultur *in vitro* atau dibuat biji sintesis melalui enkapsulasi *protocorm*.

Persentase perkecambahan biji segar *C. celebensis* pada empat media rendah, 51,4% pada media HS dan 24% pada media KCA. Persentase perkecambahan biji *C. celebensis* menurun sampai dibawah 5% setelah penyimpanan 1–3 bulan (Tabel 1). Persentase perkecambahan biji segar *C. rumphii* pada empat media cukup tinggi, 81,9% pada media KC dan terendah 48,7% pada media VW. Selain di media HS, rata-rata persentase perkecambahan *C. rumphii* menurun setelah tiga bulan penyimpanan menjadi sekitar 5–11%, selanjutnya menurun dibawah 5% setelah enam bulan penyimpanan dan kehilangan daya kecambahnya setelah dua tahun masa simpan (Tabel 1). Hal ini diduga disebabkan oleh kualitas biji *C. celebensis* dan *C. rumphii* yang digunakan kurang baik karena penampilan biji kurang bagus atau kurang jelas keadaan embrionya seperti yang terlihat di bawah mikroskop (Gambar 1).

Persentase perkecambahan biji segar *C. rochussenii* pada empat media cukup tinggi, rata-rata diatas 95%. Viabilitas biji *C. rochussenii* menurun drastis dalam kurun waktu enam bulan setelah penyimpanan menjadi sekitar 7–14% persentase perkecambahannya. Setelah penyimpanan sembilan bulan, biji *C. rochussenii* sudah tidak ada lagi yang berkecambah pada semua media yang dicoba (Tabel 1).

Biji *C. foerstermannii* menurun persentase perkecambahannya secara gradual dari 82-100%

menjadi 8–16% setelah disimpan selama 12 bulan. Biji-biji tersebut masih mampu berkecambah dengan persentase perkecambahan sekitar 4–10% setelah disimpan selama 2–3 tahun (Tabel 1). Daya kecambahnya mulai hilang pada masa simpan empat tahun dan *protocorm* yang dihasilkan semakin kecil dan lambat tumbuh.

Persentase perkecambahan biji segar *C. pandurata* sebesar 98-99%, kemudian menurun menjadi 1–7% setelah disimpan 9 bulan. Persentase perkecambahan biji *C. pandurata* terus menurun hingga 0% dengan semakin lamanya waktu penyimpanan (Tabel 1).

Persentase perkecambahan biji segar *C. asperata* tidak terlalu tinggi, yaitu sekitar 45–53%. Setelah disimpan selama 12 bulan, persentase perkecambahan mencapai titik rendah di bawah 5%, dan pada masa simpan 18 bulan dapat dikatakan bijinya sudah tidak mampu berkecambah lagi di empat media yang dicoba (Tabel 1).

Persentase perkecambahan biji segar *C. pulverula* juga tidak terlalu tinggi, yaitu sekitar 63–74%. Setelah disimpan selama 36 bulan (3 tahun), persentase perkecambahan menurun secara gradual hingga mencapai titik rendah di bawah 5% (Tabel 1).

Selain persentase perkecambahan, bentuk pertumbuhan biji memberikan respon yang berbeda pada empat media yang digunakan. Setiap jenis akan terlihat bagus pertumbuhannya di media yang berbeda (Gambar 2). Beberapa media dapat digunakan untuk perkecambahan biji anggrek, antara lain media VW (Vacin dan Went, 1949; Butcher dan Marlow, 1989) dan KC (Knudson, 1946). Penambahan bahan organik pada media VW dapat membantu meningkatkan pertumbuhan tunas maupun akar (Untari dan Puspitaningtyas, 2006).

Biji yang berkecambah pada media VW memiliki *rhizoid* yang lebih padat dan pendek namun tidak normal dibandingkan biji yang berkecambah pada media HS dan KC. Hal ini disebabkan karena pada modifikasi media VW ditambahkan auksin (NAA) 10 ppm, yang berfungsi merangsang perakaran. Menurut Pierik (1987), penambahan

auksin (NAA) pada konsentrasi yang rendah pada media akan mendorong pembentukan akar adventif. Konsentrasi 10 ppm NAA, kemungkinan terlalu tinggi untuk marga *Coelogyne* sehingga menyebabkan akar tumbuh abnormal.

Media KC modifikasi dan KC murni (KCA) menghasilkan *protocorm* dengan warna hijau cerah. Penambahan bahan organik seperti air kelapa dapat membantu pertumbuhan *protocorm* lebih baik dan cepat dari segi ukuran maupun jumlah *rhizoid* yang terbentuk. Hal ini karena air kelapa mengandung hormon Zeatin (bentuk dari Sitokinin alami) yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan *protocorm* (De Pauw *et al.*, 1995; Vejsadova, 2006). Air kelapa juga mengandung zat atau bahan-bahan seperti unsur hara, vitamin, asam amino, asam nukleat dan zat tumbuh seperti auksin dan giberelin yang berfungsi sebagai penstimulir dalam proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi (Tulecke *et al.*, 1961).

Media HS hanya mengandung hara makro NPK (25:5:20), namun *protocorm* yang tumbuh pada media HS memiliki bentuk, ukuran maupun jumlah *rhizoid* yang relatif sama dengan *protocorm* yang tumbuh pada media lainnya (KC, KCA, VW). Unsur yang terkandung dalam media HS paling sederhana dibandingkan media lainnya, namun penambahan bahan organik Pepton diduga dapat membantu meningkatkan pertumbuhan *protocorm*. Pepton merupakan nitrogen organik yang diekstrak dari protein hewani yang berasal dari susu hewan atau daging (Anonym, 2014). Nitrogen merupakan unsur hara utama bagi pertumbuhan tanaman untuk pembentukan atau pertumbuhan bagian-bagian vegetatif. Penambahan Pepton dapat meningkatkan pertumbuhan tunas 43% pada seedling anggrek *Dactylorhiza maculata* subsp. *maculata* (Vejsadova, 2006) dan meningkatkan kualitas maupun kuantitas morfogenesis *protocorm* anggrek *Paraphalaenopsis serpentilingua* (Puspitaningtyas dan Dwiarum, 2012).

Sampai saat ini penelitian yang membahas khusus tentang hubungan ukuran biji dengan ketahanan lama simpan bijinya belum ada. Penelitian pada biji anggrek *Coelogyne* ini menunjukkan bahwa ukuran biji yang besar tidak selalu diikuti dengan ketahanan lama daya simpannya. *C. pandurata* dan *C. asperata* yang mempunyai ukuran biji yang lebih besar (2–3 mm) mempunyai daya simpan 12-18 bulan, lebih pendek dari *C. pulverula* yang memiliki ukuran biji lebih kecil (1–1,5 mm) dan daya simpan 36 bulan. Biji yang berukuran kecil (0,3–0,5 mm) dari *C. celebensis* memiliki daya simpan tiga bulan dan *C. rumphii* memiliki daya simpan hingga 18 bulan. Biji anggrek *Cymbidium finlaysonianum* yang berukuran 0,8–1 mm setelah disimpan selama 9 bulan masih memiliki daya kecambah diatas 90% (Handini dan Puspitaningtyas, 2009). Anggrek *Dendrobium stratiotes* yang ukuran bijinya lebih besar mencapai 1,8 mm hanya dapat disimpan selama tiga bulan (Puspitaningtyas dan Handini, 2011).

## KESIMPULAN

Media VW, KC, KCA dan HS dapat digunakan untuk mengecambahkan biji anggrek marga *Coelogyne*. Penambahan bahan organik ke dalam media dapat membantu meningkatkan kualitas pertumbuhan *protocorm*.

Biji anggrek marga *Coelogyne* yang dicoba rata-rata kehilangan viabilitas dalam kurun waktu kurang dari satu tahun, dengan urutan masa simpan terpendek adalah *C. celebensis* (3 bulan), *C. rochussenii* (6 bulan), *C. rumphii* (18 bulan), *C. pandurata* (18 bulan) dan *C. asperata* (18 bulan). Jenis *Coelogyne* yang memiliki masa simpan diatas 36 bulan (3 tahun) adalah *C. pulverula* (36 bulan) dan *C. foerstermannii* (48 bulan).

## SARAN

Biji *Coelogyne* sebaiknya segera disemai secara *in vitro* untuk menghindari penurunan viabilitas biji. Teknik kriopreservasi perlu dicoba untuk penyimpanan biji anggrek marga *Coelogyne*, dengan harapan teknik ini dapat memperpanjang masa simpan biji. Biji sintesis atau biji artifisial melalui teknik enkapsulasi *protocorm* juga dapat digunakan untuk penyimpanan *Coelogyne*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan salah satu hasil kegiatan dari *Orchid Seed Stores for Sustainable Use (OSSSU) project*. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Philip Trevor Seaton, M.Phil dan Hugh W.Pritchard, Ph.D., manager proyek OSSSU.

## DAFTAR PUSTAKA

Anonym. 2014. *BD Bionutrients Technical Manual*, p:34. [http://www.bdbiosciences.com/documents/Bacto\\_Peptide.pdf](http://www.bdbiosciences.com/documents/Bacto_Peptide.pdf). (Diakses 15 Maret 2014).

Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. *Botanical Review*, 33:1–97.

Arditti, J. and A.K.A. Ghani. 2000. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist* 145: 367–421.

Butcher, D. and S.A. Marlow. 1989. Asymbiotic germination of epiphytic and terrestrial orchids. In Pritchard, H.W. (ed.). *Modern methods in orchid conservation: the role of physiology, ecology and management*. p. 17–29. Cambridge University Press.

De Pauw, M.A., W.R. Remphrey and C.E. Palmer. 1995. The Cytokinin Preference for *in vitro* germination and protocorm growth of *Cypripedium candidum*. *Annals of Botany* 75: 267–275.

Gravendeel, B. 2000. *Reorganising the orchid genus Coelogyne: a phylogenetic classification based on morphology and molecules*. Nationaal Herbarium Nederland, Universiteit Leiden Branch.

Handini, E. dan D.M. Puspitaningtyas. 2009. Studi penyimpanan biji anggrek *Cymbidium finlaysonianum*. *Prosiding Konservasi Flora Indonesia dalam Mengatasi Dampak Pemanasan Global*, 14 Juli 2009. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya' Bali – LIPI. p.: 183–190.

Hey, G.L. 1963. The mixed orchid house. *The Orchid Review* 71(840):196–198.

Humpreys, J.L. 1960. Help Wanted. *The Orchid Review* 68(802):141–142.

Kano, K. 1965. *Studies on media for orchid seed germination* Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagawa University, No.20, 74pp.

Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. *American Orchid Society Bulletin* 14: 214–217.

Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro culture of higher plant*. Martinus Nyhoff Publisher. Netherlands: Departement of Horticulture Agronomy University.

Pritchard, H.W. 1985. Determination of orchid seed viability using fluorescein diacetate (technical report). *Plant, Cell and Environment* 8:727–730.

Puspitaningtyas, D.M. dan A. C. Dwiarum. 2012. Orchid conservation of *paraphalaenopsis serpentilingua* by *in vitro* culture. International Conference on Biological Science. Faculty of Biology Gadjah Mada University. September 23rd–24th, 2011. p: 478–486.

Puspitaningtyas, D.M. dan E. Handini. 2011. Uji daya simpan biji anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. *Prosiding Seminar Nasional Konservasi Tumbuhan Tropika: Kondisi Terkini dan Tantangan ke Depan*. 7 April 2011. p: 60–65.

- Schwallier R., V. Bhoopalan and S. Blackman. 2011. The influence of seed maturation on desiccation tolerance in *Phalaenopsis amabilis* hybrids. *Scientia Horticulturae* 128: 136–140.
- Seaton, P. T. dan H. W. Pritchard. 2003. *Orchid germplasm collection, storage and exchange*. In: K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barrett, dan P. J. Cribb (eds). *Orchid conservation*. Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah. P. 227–258.
- Seaton, P. T. dan M. M. Ramsay. 2005. *Growing orchids from Seed*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Seaton, P.T., J.P. Kendon, H.W. Pritchard, D.M. Puspitaningtyas, and T.R. Marks. 2013. Orchid Conservation: the next ten years. *Lankesteriana* 13(1-2): 93–101.
- Singh, F. 1981. differential staining of orchid seeds for viability testing. *American Orchid Society Bulletin*. 50(4):416-418.
- Swarts, N. D. dan K. W. Dixon. 2009. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany* 104: 543–556.
- Tulecke, W., L.H. Weinstein, A. Rutner, and H.J. Laurencot. 1961. *The Biochemical Composition of Coconut water (Coconut Milk) as Related to its Use in Plant Tissue Culture*. New York: Plant Research Inc.
- Untari, R. dan D.M. Puspitaningtyas. 2006. Pengaruh macam bahan organik dan taraf konsentrasi NAA terhadap pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) di dalam Kultur *In Vitro*. *Biodiversitas* 7(4): 378–382.
- Vacin, E. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solution. *Botanical Gazette* 110:605–613.
- Van Waes, J.M. and P.C. Debergh. 1986. Adaption of the Tetrazolium Method for Testing the Seed Viability, and Scanning Electron Microscopy Study of Some Western European Orchids. *Physiologia Plantarum* 66:435-442.
- Vejsadova, H. 2006. Factors Affecting Seed Germination and Seedling Growth of Terrestrial Orchids Cultured in Vitro. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48(1): 109-113.
- World Conservation Monitoring Centre (WCMC). 1995. *Indonesian Threatened Plants*. *Eksplorasi* 2(3):8-9.

