



D2

Pertambahan jumlah daun anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) dengan stimulator kitosan pupa maggot (*Hermetia illucens*) secara *in vitro*

Hildah^{1*}, Ratna Kusuma², Lariman³

¹Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Kalimantan Timur, Indonesia – 75114

*Email Corresponding author: akuhilda543@gmail.com

ABSTRAK

Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) merupakan tanaman endemik Kalimantan Timur yang seiring berjalannya waktu, jumlahnya semakin menurun. Sehingga, perlu dilakukan upaya perbanyakan secara kultur jaringan. Keberhasilan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh komposisi media yang dapat dikombinasikan dengan stimulator, salah satu senyawa yang dapat menjadi stimulator pertumbuhan ialah kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan anggrek hitam pada media MS dengan stimulator kitosan pupa maggot dan dibandingkan dengan kitosan udang dan sisik ikan berdasarkan parameter pertumbuhan pertambahan jumlah daun. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 12 perlakuan, yaitu kontrol MM, MU dan MI, MM5, MM10, MM15, MU5, MU10, MU15, MI5, MI10 dan MI15. Parameter yang diamati ialah pertambahan jumlah daun selama 12 minggu setelah tanam (MST). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan MM (kitosan pupa maggot) menunjukkan pengaruh yang signifikan pada pertambahan jumlah daun, sedangkan perlakuan MU (kitosan udang) dan MI (kitosan sisik ikan) tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan. Penelitian ini menyimpulkan bahwa kitosan pupa maggot berpotensi menjadi stimulator pertumbuhan tanaman anggrek hitam dan menjadi alternatif dari kitosan komersial.

Kata kunci: Coelogyne pandurata, kultur jaringan, kitosan pupa maggot, kitosan kulit udang, kitosan sisik ikan

PENDAHULUAN

Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) merupakan salah satu jenis tanaman hias dengan ciri khas yang dimilikinya, yaitu terdapat warna kehitaman pada bagian *Labellum* (Nurkapita *et al.* 2021). Anggrek hitam hidup secara epifit dan merupakan salah satu jenis tanaman endemik di hutan tropis Kalimantan Timur (Hartati *et al.* 2019). Seiring berjalannya waktu, keberadaan anggrek hitam mengalami penurunan jumlah yang diakibatkan oleh menyusutnya luas hutan serta adanya perburuan tanaman anggrek yang dijual kepada para kolektor dan pecinta tanaman anggrek. Usaha-usaha perbanyakan anggrek hitam secara alami sering mengalami kendala kegagalan. Untuk itu diperlukan usaha perbanyakan tanaman yang efektif, yaitu dengan metode kultur jaringan.



Kultur jaringan merupakan suatu metode perbanyakan tanaman secara *in vitro*, yang terdiri dari beberapa tahapan salah satunya ialah subkultur. Bagian yang digunakan dalam metode kultur jaringan ini ialah bagian vegetatif suatu tanaman yang selanjutnya akan ditanam dalam media steril (Kristina *et al.* 2017). Keberhasilan metode ini sangat dipengaruhi oleh komposisi dan kondisi media serta kesesuaian tanaman terhadap media. Media dasar seperti *Murishage and Skoog* (MS) umumnya dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh atau senyawa lain agar dapat menjadi media pertumbuhan yang optimal bagi tanaman, hal ini dikarenakan kandungan senyawa yang digunakan dapat membantu pertumbuhan tanaman tersebut (Fatana *et al.* 2024). Salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai zat pengatur tumbuh pada media tanam ialah kitosan (Gustia dan Wulandari, 2022).

Kitosan merupakan senyawa hasil deasetilasi kitin (Wahyuni *et al.* 2020). Sumber kitosan komersial yang umum digunakan ialah *Crustacea* dan Fungi, namun selain kedua sumber tersebut, *Insecta* juga dapat digunakan sebagai sumber pembuatan senyawa kitosan (Soetemans *et al.* 2020). Senyawa kitosan ini merupakan senyawa yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan sumber limbah, seperti sisik ikan (Susanti dan Purwanti, 2020) dan kulit udang (Setha *et al.* 2019) yang berpotensi mencemari lingkungan jika tidak diolah dengan baik dan benar. Aplikasi kitosan dapat berpotensi dalam bidang pertanian, dikarenakan kitosan dalam pertumbuhan tanaman dapat mempengaruhi pertumbuhan tinggi tanaman serta daun secara optimal. Hal ini dipengaruhi oleh hormon giberelin yang dapat disintesis berdasarkan induksi sinyal yang diperoleh dari penambahan kitosan (Gustia dan Wulandari, 2022).

Penelitian oleh Agustini *et al.* (2020) menyatakan bahwa, pemberian kitosan *Crustacea* 15% memberikan rata-rata nilai terbaik pada pertumbuhan panjang daun *Dendrobium lasianthera*, sedangkan pemberian kitosan *Crustacea* 10% memberikan pengaruh signifikan terhadap pertambahan jumlah daun dan jumlah akar tumbuhan *D. lasianthera*. Penelitian Ewhayid *et al.* (2023), menunjukkan bahwa kitosan berpengaruh positif terhadap pertumbuhan dan jumlah tunas tumbuhan kelor dengan penambahan kitosan 5 mg/L. Penelitian Ubaid dan Abdulhussein (2025) menunjukkan bahwa penggunaan kitosan pada konsentrasi 10mg/L dapat memberikan pengaruh yang positif dalam pertumbuhan organ vegetatif tanaman.

Penelitian menggunakan kitosan udang dan sisik ikan yang merupakan kitosan komersial dalam teknik kultur jaringan tanaman anggrek pernah dilakukan oleh peneliti-peneliti terdahulu, namun penggunaan kitosan pupa maggot sebagai stimulator pertumbuhan dalam kultur jaringan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) belum pernah dilakukan. Untuk itu penelitian ini perlu diangkat untuk mengetahui potensi kitosan pupa maggot dalam merangsang pertambahan jumlah daun anggrek hitam secara *in vitro*.



METODE

Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan, bertempat di Laboratorium Fisiologi Perkembangan dan Molekuler Hewan untuk pembuatan kitosan pupa maggot dan Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan untuk penanaman dan pengamatan tanaman anggrek hitam dalam media dengan kombinasi kitosan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 12 perlakuan dan 4 kali pengulangan. Sehingga, total unit pengamatan adalah 48 unit. Berikut merupakan perlakuan yang digunakan:

Kontrol MM	: kontrol kitosan pupa maggot
MM5	: kitosan pupa maggot 5 mg/L
MM10	: kitosan pupa maggot 10 mg/L
MM15	: kitosan pupa maggot 15 mg/L
Kontrol MU	: kontrol kitosan udang
MU5	: kitosan udang 5 mg/L
MU10	: kitosan udang 10 mg/L
MU15	: kitosan udang 15 mg/L
Kontrol MI	: kontrol kitosan sisik ikan
MI5	: kitosan sisik ikan 5 mg/L
MI10	: kitosan sisik ikan 10 mg/L
MI15	: kitosan sisik ikan 15 mg/L

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow*, *autoclave*, *hotplate*, neraca analitik, rak, 48 botol kultur, *erlenmeyer*, *magnetic stirrer*, *pH* meter, pinset, lampu bunsen, *microwave*, cawan petri, gelas ukur, *beaker glass*, mortar, *thermogun*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet anggrek hitam (*C. pandurata*), cangkang pupa maggot, kitosan udang, kitosan sisik ikan, media *Murashige and Skoog* (MS), NaOH, HCl, NaHCO₃, H₂O₂, alkohol 70%, alkohol 96%, tisu, *plastic wrap*, spiritus, kertas label, *aluminium foil*, sarung tangan, masker, dan akuades.

Prosedur Penelitian

Diawali dengan preparasi kitosan, pada tahap ini dilakukan perolehan kitosan dari cangkang pupa maggot, udang, dan sisik ikan. Pembuatan kitosan pupa maggot dimulai dengan proses deproteinisasi cangkang pupa maggot dalam larutan NaOH 2% selama 2 jam dengan suhu 60°C



(sesekali dilakukan pengadukan). Setelah perendaman selama 2 jam, cangkang pupa maggot dicuci dengan air hingga pH netral dan dikeringkan menggunakan *microwave*. Selanjutnya, proses demineralisasi dengan perendaman selama 4 jam dalam larutan HCl 7% suhu ruang, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil yang didapatkan kemudian dicuci dengan air hingga pH netral dan dikeringkan menggunakan *microwave*. Selanjutnya, pada tahap terakhir, yaitu proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dilakukan perendaman dalam larutan NaOH 50% dalam suhu 120°C selama 2 jam. Setelah itu, kitosan yang didapatkan dicuci dengan air hingga pH netral dan dikeringkan dengan menggunakan *microwave*, kemudian hasil ditimbang dengan neraca analitik. Kitosan yang telah diperoleh kemudian dilakukan tahap depigmentasi untuk melepas kandungan melanin yang menyebabkan warna gelap pada kitosan. Depigmentasi dilakukan dengan perendaman dalam larutan H₂O₂ 35% selama 2 jam dalam suhu 60°C dengan pengadukan berkala. pH larutan yang digunakan diatur menjadi pH 9 dengan penambahan NaHCO₃. Setelah itu, dicuci hingga pH netral dan dikeringkan dengan *microwave*. Hasil kitosan yang didapatkan dihaluskan dengan menggunakan mortar, kemudian ditimbang dengan menggunakan neraca analitik. Selain kitosan cangkang pupa maggot, penelitian ini menggunakan kitosan komersial, yaitu kitosan udang dan sisik ikan yang diperoleh dengan membeli dari toko bahan kimia dan alat kesehatan.

Selanjutnya dilakukan pembuatan media tanam yang dilakukan secara aseptik. Ditimbang seluruh bahan, kemudian dihomogenkan media ms dengan dengan kitosan diatas *hotplate*. Lalu, disterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah itu, media diletakkan dalam ruang inkubasi selama 1 pekan sebelum dilakukan penanaman. Tahap selanjutnya ialah subkultur, planlet yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman. Subkultur setiap tunas pada setiap botol media yang telah disiapkan sebelumnya dan selanjutnya dirawat dan diamati selama 12 MST (Minggu Setelah Tanam).

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan data kuantitatif yang dianalisis dengan program SPSS versi 22. Data total pertambahan tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah tunas berdistribusi normal dan homogen, sehingga dianalisis dengan menggunakan uji *One Way ANOVA (Analysis of variance)* dan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5% untuk melihat perbedaan nyata. Data total pertambahan jumlah akar tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dianalisis dengan menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.



HASIL DAN PEMBAHASAN

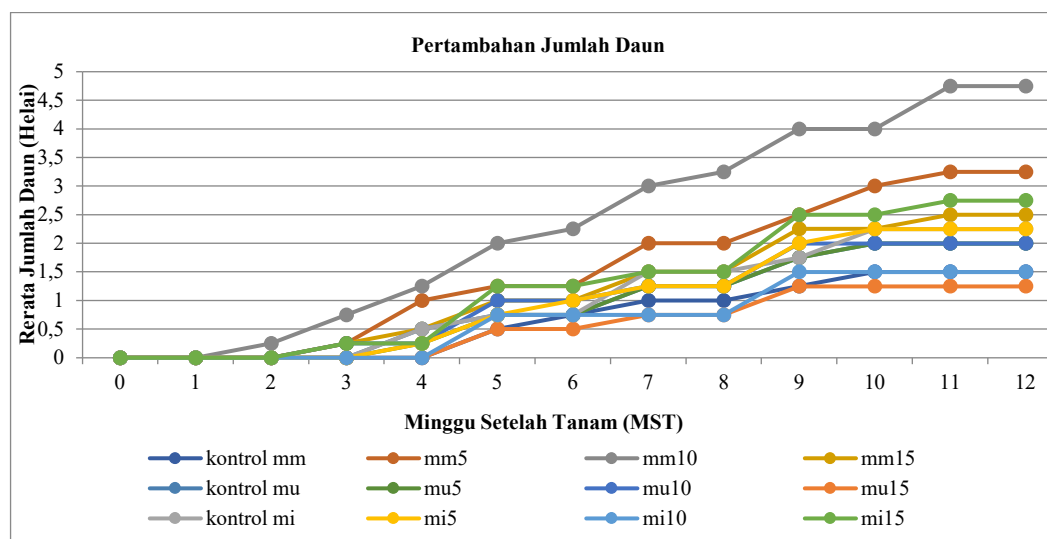
Berdasarkan hasil penelitian selama 12 minggu setelah tanam (MST) pada planlet anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) didapatkan hasil pertambahan jumlah daun dengan perlakuan kombinasi kitosan pada media MS ialah sebagai berikut:

Tabel 1. Pengaruh Pemberian Kitosan Terhadap Rata - Rata Pertambahan Jumlah Daun Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*) Selama 12 Minggu Setelah Tanam (MST)

No.	Perlakuan	Rata-rata Pertambahan Jumlah Daun (Helai) $\pm$ SE
1.	Kontrol MM	$1,50 \pm 0,29^a$
2.	MM5	$3,25 \pm 0,63^{ab}$
3.	MM10	$4,75 \pm 1,65^b$
4.	MM15	$2,50 \pm 0,87^{ab}$
5.	Kontrol MU	$2,00 \pm 0,41^{ab}$
6.	MU5	$2,00 \pm 0,41^{ab}$
7.	MU10	$2,00 \pm 0,82^{ab}$
8.	MU15	$1,25 \pm 0,48^{ab}$
9.	Kontrol MI	$2,25 \pm 0,48^{ab}$
10.	MI5	$2,25 \pm 0,25^{ab}$
11.	MI10	$1,50 \pm 0,50^{ab}$
12.	MI15	$2,75 \pm 0,75^{ab}$

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji lanjut DMRT dengan taraf signifikansi 5%

Berdasarkan **Tabel 1** dapat diketahui bahwa perlakuan MM10 merupakan perlakuan yang berbeda nyata dengan seluruh perlakuan, perlakuan ini juga menjadi perlakuan dengan nilai rata-rata pertambahan jumlah daun terbanyak, yaitu 4,75 helai. Sehingga, hal ini menunjukkan efektivitas kitosan pupa maggot dalam mempengaruhi pertambahan jumlah daun tanaman anggrek hitam. Perlakuan dengan jumlah daun paling rendah ditunjukkan pada perlakuan MU15, sehingga hal ini menunjukkan bahwa perlakuan MU15 bukanlah perlakuan kitosan yang efektif dalam mempengaruhi pertambahan jumlah daun tanaman anggrek hitam. Sehingga, dapat diketahui bahwa pemanfaatan kitosan pupa maggot lebih efektif pada pertambahan jumlah daun tanaman anggrek hitam. Hal ini dapat disebabkan oleh salah satu fungsi kitosan pada pertumbuhan tanaman menurut Nurhasanah *et al.* (2024), yaitu dapat membantu proses pembelahan sel dan organogenesis pada tanaman, sehingga dapat terjadi pembentukan daun baru pada tanaman anggrek hitam. Selain itu, pertumbuhan daun pada tanaman dapat dipengaruhi oleh hormon pertumbuhan sitokinin. Sintesis hormon tersebut dapat dipengaruhi dengan penambahan kitosan pada media tanam, menurut Acemi *et al.* (2018) kitosan dapat merangsang pembentukan hormon sitokinin, sehingga dengan adanya pemberian kitosan, ketersediaan sitokinin pada tanaman dapat menjadi optimal.



Gambar 1. Grafik Pertambahan Jumlah Daun Selama 12 Minggu Setelah Tanam (MST)

Berdasarkan **Gambar 4.3** terlihat bahwa perlakuan MM10 menunjukkan pertambahan jumlah daun yang stabil dari minggu ke-2 hingga minggu ke-9 dan minggu ke-11, kemudian mengalami stagnan di minggu ke-10 dan 12. Meskipun terdapat pertumbuhan yang stagnan, perlakuan MM10 tetap menjadi perlakuan paling unggul dibandingkan dengan perlakuan lainnya, karena respon pertumbuhan pada perlakuan ini selalu menunjukkan adanya peningkatan yang berbeda jauh dengan kontrol serta perlakuan lainnya di setiap minggu setelah tanam. Hal tersebut menandakan bahwa pemberian kitosan pupa maggot pada konsentrasi 10 mg/L pada media MS dapat mempengaruhi pertumbuhan jumlah daun tanaman anggrek hitam. Penelitian terdahulu oleh Emeliya *et al.* (2024) menunjukkan bahwa respon pertumbuhan daun tanaman anggrek *Dendrobium* mulai terjadi pada 6 HST (hari setelah tanam) pada media perlakuan 2iP dan air kelapa. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa respon anggrek hitam pada pertumbuhan daun pada media dengan kitosan pupa maggot lebih lambat dan belum optimal dalam merangsang pertumbuhan daun dalam waktu yang singkat seperti pada penelitian terdahulu oleh Emeliya *et al.* (2024). Penelitian Pitoyo *et al.* (2015) menyatakan bahwa pemberian kitosan dapat membantu meningkatkan hasil fotosintesis dan pertambahan jumlah daun tanaman anggrek macan. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan kitosan dapat membantu meningkatkan kandungan klorofil tanaman yang berefek positif pada pertumbuhan tanaman.

KESIMPULAN (STYLE - BAGIAN)

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan kitosan pupa maggot menunjukkan adanya pengaruh terbaik, yang tampak pada perlakuan MM10 dengan rata-rata 4,75 helai, dibandingkan dengan perlakuan kitosan udang dan sisik ikan. Sehingga, hal ini menunjukkan bahwa kitosan pupa maggot dapat dijadikan alternatif dari penggunaan kitosan komersial seperti kitosan udang dan sisik ikan.



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Prof. Rudy Agung Nugroho, M. Si, Ph.D selaku dosen yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk memberikan bantuan materi, moril, arahan dan bimbingan selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Acemi A, Bayrak B, Çakır M, Demiryürek E, Gün E, El Gueddari N E, Özen F. 2018. Comparative analysis of the effects of chitosan and common plant growth regulators on in vitro propagation of *Ipomoea purpurea* (L.) roth from nodal explants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 54: 537-544.
- Agustini V, Rahayu I, Numberi LA, Ni'mah Z. 2020. Peran kitosan sebagai pemacu pertumbuhan kultur anggrek *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. secara in vitro. *Jurnal Biologi Papua* 12(1): 43–49.
- Emeliya, Rahayu T, Jayanti GE, Agisimanto D. 2024. Uji beberapa jenis sitokinin terhadap pertumbuhan *protocorm like body* (PLB) anggrek (*Dendrobium* sp.) pada media ms dalam bentuk *thin liquid film*. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 9(1): 29-38.
- Ewhayid BM, Ibrahim MA, Abdulzahra EM. 2023. Chitosan as a growth stimulator of moringa (*Moringa oleifera* L.) under in vitro conditions. *DYSONA – Applied Science* 4(2023): 28-34.
- Fatana D, Suhartil L, Sandra E. 2024. Pembuatan media MS (*Murashige and Skoog*) dengan tambahan konsentrasi zpt secara in vitro. *Jurnal Satwa Tumbuhan Indonesia* 1(1): 9-14.
- Gustia H, Wulandari YK. 2022. Optimalisasi media tanam dan berbagai konsentrasi kitosan terhadap pertumbuhan vegetatif bibit pisang kepok. *Jurnal Agrosains dan Teknologi* 7(1): 43-50.
- Hartati S, Nandariyah, Yunus A, Djoar DW. 2019. Hybridization technique of black orchid (*Coelogyne pandurata* Lindley) to enrich the genetic diversity and to rescue the genetic extinction. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 25(4): 751–755.
- Kristina M, Pandiangana D, Febby E. 2017. Deskripsi jenis-jenis kontaminan dari kultur kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Donnaman. *Jurnal MIPA UNSRAT* 6(1): 47- 52.
- Nurhasanah, Fajarfika R, Nurdiana D. 2024. Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kitosan pada media kultur jaringan terhadap pertumbuhan planlet kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Ziraa'ah* 49(3): 482-491.
- Nurhayati L, Wulandari LMC, Bellanov A, Dimas R, Novianti N. 2022. Budidaya maggot sebagai alternatif pakan ikan dan ternak ayam di desa balongbendo sidoarjo. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan* 6(3): 1186-1193.
- Nurkapita N, Linda R, Zakiah Z. 2021. Multiplikasi eksplan tunas anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dengan penambahan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan ekstrak biji jagung (*Zea mays*) secara in vitro. *Jurnal Bios Logos* 11(2): 114-121.
- Pitoyo A, MR Hani, E Anggarwulan. 2015. Application of chitosan spraying on acclimatization success of tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum*) plantlets. *Nusantara Bioscience* 7(2): 185–191.
- Setha B, Rumata F, Silaban B.br. 2019. Karakteristik kitosan dari kulit udang vaname dengan menggunakan suhu dan waktu yang berbeda dalam proses deasetilasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 22(3): 498-507.



- Soetemans L, Uyttebroek M, Bastiaens L. 2020. Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. *International Journal Biological Macromolecules* 165(2020): 3206-3214.
- Susanti N, Purwanti A. 2020. Pembuatan kitosan dari limbah sisik ikan (variabel konsentrasi larutan NaOH dan waktu ekstraksi). *Jurnal Inovasi Proses* 5(1): 40-45.
- Ubaid MHM, Abdulhussein. 2025. Evaluation of chitosan-enriched medium in improving strawberry micropropagation. *Natural and Engineering Sciences* 10(1): 519-528.
- Wahyuni S, Selvina R, Fauziyah R, Prakoso HT, Priyono, Siswanto. 2020. Optimasi suhu dan waktu deasetilasi kitin berbasis selongsong maggot (*Hermetia ilucens*) menjadi kitosan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 25(3): 373-381.