

Kultur in Vitro* Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada Media *Murashige and Skoog* dan Media *Vacin Went

Sonia Elizabeth Fortuna, Vandalita Maria Magdalena Rambitan*, Herliani

Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Mulawarman

*Correspondence: vandalitammr@gmail.com

Abstrak. Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) merupakan tumbuhan khas Kalimantan yang tumbuh liar di hutan. Cagar Alam Kersik Luway, Kutai Barat, Kalimantan Timur, merupakan salah satu habitat tumbuhan ini. Kebakaran hutan yang sering terjadi dan sulitnya perkembangbiakan menyebabkan kelangkaan tumbuhan ini. Solusi yang dapat dilakukan adalah melakukan *kultur in vitro* menggunakan eksplan daun anggrek hitam. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan pertumbuhan anggrek hitam melalui kultur jaringan pada media MS dan VW. Media yang digunakan adalah media MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW dengan 6 kali ulangan, sehingga total ada 24 sampel. Jenis penelitian ini merupakan eksperimen yang dilakukan di laboratorium. Data hasil pengamatan selama 10 minggu dianalisis menggunakan tes *chi-square*. Hasil pengamatan selama 10 minggu menunjukkan bahwa belum terjadi pertumbuhan kalus. Berdasarkan hitungan tes *chi-square*, nilai taraf signifikan $< chi$ hitung ($0,05 < 0,92$), tidak terdapat perbedaan signifikan pertumbuhan anggrek hitam melalui kultur jaringan pada semua media. Media MS dan MS + VW memiliki pengerutan paling banyak (6 eksplan). Media MS + 2,4-D mengalami penguningan paling banyak (2 eksplan). Media MS dan MS + 2,4-D mengalami pertumbuhan akar paling banyak (2 eksplan). Secara keseluruhan media terbaik adalah media MS.

Kata Kunci: Eksplan Daun, *Kultur in Vitro* Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.), Media MS dan VW, Pertumbuhan Kalus

Abstract. Black orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.) is a typical Borneo plant that grows wild in the forest. Kersik Luway Nature Reserve, West Kutai, East Kalimantan, is one of the habitats of this plant. Frequent forest fires and the difficulty of breeding cause the scarcity of this plant. The solution is to do *in vitro* culture using black orchid leaf explants. The purpose of this study was to determine the differences in black orchid growth through tissue culture on MS and VW media. The media used were MS, MS + 2,4-D, VW, and MS + VW media with 6 replicates, so there were a total of 24 samples. This type of research is an experiment conducted in the laboratory. Data from observations for 10 weeks were analyzed using the *chi-square* test. The results of observations for 10 weeks showed that there was no callus growth. Based on the *chi-square* test calculation, the value of the significant level $< chi$ count ($0.05 < 0.92$), there is no significant difference in the growth of black orchids through tissue culture on all media. MS and MS + VW media had the most shrinkage (6 explants). MS + 2,4-D media had the most yellowing (2 explants). MS and MS + 2,4-D media experienced the most root growth (2 explants). Overall the best media is MS media.

Keywords: Leaf Explants, *In Vitro* Culture of Black Orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.), MS and VW Media, Callus Growth.

PENDAHULUAN

Anggrek hitam, yang secara ilmiah dikenal sebagai (*Coelogyne pandurata* Lindl.), adalah spesies unik dan endemik asli Kalimantan, Indonesia (Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Kalimantan Selatan, 2024). Anggrek ini ditandai dengan penampilannya yang mencolok, dengan cephal berwarna hijau dan labellum hitam yang khas, yang telah menarik minat yang signifikan dalam hortikultura dan upaya konservasi (Grehenson, 2024). Namun, perbanyakan alami (*C. pandurata*) terbatas karena tingkat reproduksinya yang rendah dan meningkatnya

ancaman yang ditimbulkan oleh perusakan habitat dan eksploitasi yang berlebihan. Oleh karena itu, teknik *kultur in vitro* telah muncul sebagai strategi penting untuk konservasi dan perbanyakan massal spesies yang terancam punah ini (Bintan Cahyo Adi et al., 2022; Kartiman et al., 2018; Rusmiyanto & Mukarlina, 2018).

Metode *kultur in vitro*, terutama yang menggunakan media *Murashige* dan *Skoog* (MS) dan *Vacin-Went* (VW), telah banyak dipelajari untuk efektivitasnya dalam mendorong pertumbuhan dan perkembangan *plantlet* anggrek. Media MS terkenal dengan komposisi

hara yang seimbang, yang mendukung pembelahan sel dan proliferasi tunas, sedangkan media VW sering kali disukai karena kemampuannya dalam menginduksi pembentukan akar dan meningkatkan vigor *plantlet* secara keseluruhan (Dwiyani et al., 2022; Hartati et al., 2022; Prayoga et al., 2020). Optimalisasi media-media tersebut, termasuk penambahan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin, sangat penting untuk mencapai keberhasilan perbanyakan *in vitro* (*C. pandurata*) (Hartati et al., 2022; Kartiman et al., 2018; Prayoga et al., 2020).

Penelitian telah menunjukkan bahwa penggabungan berbagai zat pengatur tumbuh, seperti 6-benzylaminopurine (BAP) dan asam naftalen asetat (NAA), dapat secara signifikan mempengaruhi respon pertumbuhan eksplan (*C. pandurata*). Senyawa-senyawa tersebut berperan penting dalam mengatur perkembangan tunas dan akar, sehingga meningkatkan efisiensi protokol kultur jaringan (Hartati et al., 2022; Kartiman et al., 2018; Nurkapita et al., 2021). Selain itu, penggunaan suplemen organik, seperti ekstrak ragi, telah terbukti dapat meningkatkan hasil pertumbuhan dengan menyediakan nutrisi esensial dan faktor pertumbuhan yang mendorong pembelahan dan diferensiasi sel (Samsurianto et al., 2023).

Penerapan teknik *kultur in vitro* tidak hanya memfasilitasi perbanyakan massal (*C. pandurata*) tetapi juga berfungsi sebagai alat yang sangat penting untuk upaya konservasi *ex situ*. Dengan membangun *plantlet* yang layak di lingkungan yang terkendali, para peneliti dapat menjaga keragaman genetik dan berkontribusi pada pemulihan populasi alami yang telah terpengaruh oleh tekanan lingkungan (Astarini et al., 2015; Widiarsih & Dwimahyani, 2023). Selain itu, kemampuan untuk memanipulasi kondisi pertumbuhan dan formulasi media memungkinkan eksplorasi berbagai strategi perbanyakan, yang pada akhirnya mengarah pada praktik yang lebih berkelanjutan dalam budidaya dan konservasi anggrek (Dwiyani et al., 2022; Nurkapita et al., 2021; Prayoga et al., 2020).

Seiring dengan meningkatnya permintaan anggrek hias, pentingnya metode *kultur in vitro* untuk anggrek hitam tidak dapat diabaikan. Keberhasilan penerapan teknik-teknik ini tidak hanya akan menjamin kelangsungan hidup (*C. pandurata*) tetapi juga meningkatkan ketersediaannya bagi para penggemar hortikultura dan berkontribusi pada pelestarian

keanekaragaman hayati Indonesia yang kaya. Penelitian di masa depan harus fokus pada penyempurnaan protokol ini dan mengeksplorasi pendekatan inovatif untuk mengoptimalkan kondisi pertumbuhan, sehingga membuka jalan bagi perbanyakan berkelanjutan spesies anggrek yang luar biasa ini (Dwiyani et al., 2022; Hartati et al., 2022; Kartiman et al., 2018; Widiarsih & Dwimahyani, 2023).

Secara keseluruhan, *kultur in vitro* (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada media *Murashige and Skoog* dan *Vacin-Went* merupakan jalan yang menjanjikan untuk konservasi dan perbanyakan anggrek yang terancam punah ini. Melalui manipulasi kondisi pertumbuhan yang cermat dan penggabungan zat pengatur tumbuh, para peneliti dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan keberhasilan pengembangan *plantlet*, yang pada akhirnya berkontribusi pada pelestarian spesies unik ini dan habitatnya. Seiring dengan perkembangannya, sangat penting untuk terus mengeksplorasi dan mengoptimalkan teknik-teknik ini untuk memastikan keberlanjutan jangka panjang (*C. pandurata*) dan spesies anggrek lain yang terancam punah (Bintan Cahyo Adi et al., 2022; Dwiyani et al., 2022; Prayoga et al., 2020; Rusmiyanto & Mukarlina, 2018).

METODE

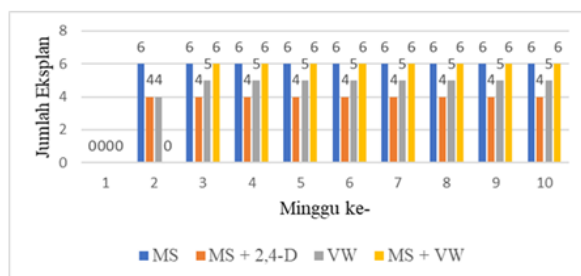
Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan, dari bulan September hingga Desember 2023, di laboratorium kultur jaringan Fakultas MIPA Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, dengan rancangan eksperimental yang bertujuan untuk mengamati pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) melalui kultur jaringan menggunakan berbagai media. Populasi penelitian terdiri dari anggrek hitam yang diambil dari lingkungan sekitar, dengan sampel berupa eksplan daun yang dipotong sekitar 1 cm³. Data dikumpulkan melalui pengamatan visual terhadap perubahan bentuk daun, pertumbuhan akar, dan pertumbuhan kalus, yang dilakukan setiap minggu selama 10 minggu setelah penanaman, menggunakan instrumen seperti kertas lakmus universal untuk mengukur pH larutan. Analisis data dilakukan dengan metode *chi-square* untuk melihat rata-rata pertumbuhan antar sampel, dengan taraf signifikan yang digunakan adalah (α) 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Laminar Air Flow* (LAF), *autoclave*, timbangan analitik, labu erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pH meter/kertas pH, cawan petri, pipet, pengaduk, pinset, scalpel, gunting, spatula, lampu spirtus, *hand sprayer*, *hot plate*, korek api, alumunium foil, plastik *wrap*, rak kultur, dan botol media, sementara bahan yang digunakan terdiri dari media *Murashige and Skoog* (MS), media *Vacin and Went* (VW), agar, aquades, gula, alkohol 70%, alkohol 95%, ZPT 2,4-D 100 ppm, plastik pp, dan karet gelang. Proses sterilisasi dilakukan dengan mencuci botol kultur menggunakan sabun pencuci piring, membilasnya dengan air bersih, dan mengautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 30 menit, sedangkan media MS disiapkan dengan mencampurkan 2,25 gram media MS, 15 gram gula, dan agar, serta diatur pH-nya sebelum diautoklaf, dan penanaman dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* cabinet dengan eksplan yang ditanam dalam botol kultur yang telah disiapkan.

HASIL

Penelitian kultur jaringan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) menggunakan eksplan daun dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan Fakultas MIPA Universitas Mulawarman selama 10 minggu. Penelitian ini menggunakan berbagai macam media, yaitu media MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW dengan tujuan untuk mengetahui media terbaik bagi pertumbuhan kalus. Masing-masing media dilakukan 6 kali pengulangan, sehingga total ada 24 sampel. Beberapa indikator yang dilihat adalah perubahan bentuk daun, pertumbuhan akar, dan pertumbuhan kalus.



Sumber: data olahan

Gambar 1
Grafik Jumlah Perubahan Daun Mengerut

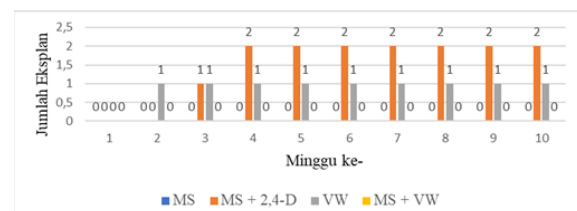
Berdasarkan hasil grafik pada Gambar 1. menunjukkan banyaknya eksplan yang mengalami perubahan pengerutan eksplan dari berbagai media berdasarkan pengamatan selama 10 minggu. Masing-masing media terdapat 6 ulangan sehingga total ada 24 sampel. Minggu ke-1 belum terjadi perubahan pada semua media. Minggu ke-2 mulai terjadi pengerutan pada tiga media, yaitu media MS, MS + 2,4-D, dan VW secara berturut-turut 6, 4, dan 4 eksplan. Minggu ke-3 sampai ke-10 memiliki data yang sama, yaitu terjadi pengerutan pada media MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW sebanyak 6, 4, 5, dan 6 eksplan. Media yang mengalami penambahan adalah media VW dan MS + VW, sedangkan media yang jumlahnya tetap adalah MS dan MS + 2,4-D.



Sumber: data olahan

Gambar 2.
Eksplan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Mengerut dari Kiri ke Kanan: MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW

Berdasarkan media eksplan pada Gambar 2. dapat dilihat bahwa dari kiri ke kanan secara berurutan adalah media MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW. Media MS dan MS + 2,4-D terlihat jelas pengerutannya, sedangkan media VW dan MS + VW kurang terlihat jelas pengerutannya. Media VW dan MS + VW mengalami pengerutan sebagian, tidak menyeluruh seperti pada media MS dan MS + 2,4-D. Tanda terjadinya pengerutan adalah melengkungnya eksplan daun. Eksplan di atas menunjukkan tanda-tanda tersebut.

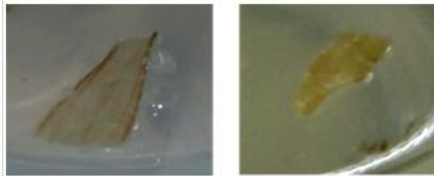


Sumber: data olahan

Gambar 3
Grafik Jumlah Perubahan Daun Menguning

Berdasarkan hasil grafik pada Gambar 3. menunjukkan banyaknya eksplan yang mengalami perubahan penguningan eksplan dari berbagai media berdasarkan pengamatan selama

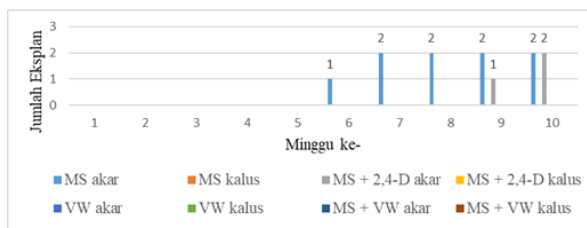
10 minggu. Minggu ke-1 belum terjadi perubahan pada semua media. Minggu ke-2 terjadi penguningan pada media VW sebanyak 1 eksplan. Minggu ke-3 terjadi penguningan pada media MS + 2,4-D dan VW masing-masing 1 eksplan. Minggu ke-3 sampai ke-10 memiliki data yang sama, terjadi penguningan pada media MS + 2,4-D dan VW masing-masing sebanyak 2 dan 1 eksplan. Penguningan tidak terjadi pada media MS dan VW.



Sumber: data olahan

Gambar 4
Eksplan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Menguning dari Kiri ke Kanan: MS + 2,4-D dan VW

Berdasarkan media eksplan pada Gambar 4, dapat dilihat bahwa dari kiri ke kanan secara berurutan adalah media MS + 2,4-D dan VW. Terlihat bahwa eksplan pada media MS + 2,4-D selain menguning, juga terlihat sedikit pucat dan transparan. Eksplan pada media VW terlihat menguning, tetapi tidak terlihat transparan. Meskipun demikian, kedua eksplan tidak menunjukkan tanda-tanda *browning*.



Sumber: data olahan

Gambar 5

Grafik Jumlah Pertumbuhan Akar dan Kalus

Berdasarkan hasil grafik pada Gambar 5, menunjukkan banyaknya eksplan yang mengalami pertumbuhan akar dan kalus dari berbagai media berdasarkan pengamatan selama 10 minggu. Minggu ke-1 sampai ke-5 belum terjadi pertumbuhan pada semua media. Minggu ke-6 terjadi pertumbuhan akar pada media MS sebanyak 1 eksplan. Minggu ke-7 sampai ke-10 media MS mengalami pertumbuhan akar sebanyak 2 eksplan. Minggu ke-9 terjadi pertumbuhan akar pada media MS + 2,4-D sebanyak 1 eksplan. Minggu ke-10 terjadi pertumbuhan akar pada media MS + 2,4-D sebanyak 2 eksplan. Tidak terjadi pertumbuhan akar pada media VW dan MS + VW. Tidak terjadi pertumbuhan kalus pada media manapun selama 10 minggu.



Sumber: data olahan

Gambar 6
Pertumbuhan Akar Eksplan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.)

Berdasarkan media eksplan pada Gambar 6, dapat dilihat dari kiri ke kanan secara berurutan adalah media MS dan MS + 2,4-D. Akar pada media MS terlihat tumbuh dari tulang daun, sedangkan pada media MS + 2,4-D dari bagian samping daun. Akar eksplan tumbuh ke arah media. Tidak terlihat pertumbuhan kalus, hanya ada pertumbuhan akar. Eksplan menunjukkan tanda-tanda berhasil tumbuh.

Tabel 1
Analisis Perhitungan *Chi-square*

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-square	8.000 ^a	4	.092
Likelihood Ratio	8.318	4	.081
Linear-by-Linear Association	3.000	1	.083
N of Valid Cases	4		

Sumber: data olahan

Data analisis yang digunakan peneliti untuk mengetahui perbandingan pertumbuhan eksplan antarmedia adalah tes *chi-square*. Data yang dibandingkan adalah jumlah eksplan yang

mengerut dengan menguning dari tiap media. Taraf signifikan α yang digunakan adalah 5%. Berdasarkan hasil analisis perhitungan *chi-square* menunjukkan bahwa nilai taraf signifikan

5% lebih kecil dari nilai hitung, yaitu $0,05 < 0,92$. Berdasarkan perhitungan tersebut, maka hipotesis H_0 diterima, yaitu tidak terdapat perbedaan signifikan pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata Lindl.*) melalui kultur jaringan pada media *Murashige and Skoog* (MS), Media Vacin Went (VW), media MS + 2,4-D, dan media MS + VW.

Hasil pengamatan penelitian menunjukkan bahwa terdapat perubahan morfologis pada eksplan daun anggrek hitam (*Coelogyne pandurata Lindl.*) yang dikultur pada berbagai media. Perubahan tersebut terbagi menjadi dua kategori utama, yaitu pengerutan dan penguningan. Pada media *Murashige and Skoog* (MS), sebanyak 6 eksplan mengalami pengerutan, yang pertama kali teramati pada minggu ke-2. Media MS yang ditambahkan 2,4-D menunjukkan bahwa 4 eksplan mengalami pengerutan, sementara 2 eksplan lainnya mengalami penguningan, dengan pengerutan juga pertama kali terdeteksi pada minggu ke-2. Media *Vacin and Went* (VW) mencatat 5 eksplan mengalami pengerutan dan 1 eksplan mengalami penguningan, dengan kedua perubahan tersebut juga pertama kali terjadi pada minggu ke-2. Sementara itu, media MS + VW mencatat 6 eksplan mengalami pengerutan, yang baru teramati pada minggu ke-3. Dari hasil ini, terlihat bahwa pengerutan paling banyak terjadi pada media MS dan MS + VW, meskipun pengerutan pada media MS + VW berlangsung lebih lambat dibandingkan dengan media MS.

Setiap bagian organ tumbuhan yang dikultur akan mengalami dua fase, yaitu fase perubahan dan fase dorman, di mana fase perubahan ditandai dengan adanya perbedaan morfologis, baik dari segi warna maupun bentuk, sedangkan fase dorman ditandai dengan tidak adanya perubahan. Perubahan yang terjadi dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu pertumbuhan dan kematian. Ciri-ciri yang menunjukkan pertumbuhan pada eksplan daun adalah terjadinya pengerutan, sedangkan tanda kematian ditunjukkan oleh fenomena *browning*. Pengerutan merupakan salah satu indikator bahwa eksplan berpotensi untuk mengalami pembentukan kalus (Rahmadi et al., 2021). Penyebab dari pengerutan ini adalah pengaruh auksin dan tekanan turgor, di mana auksin dapat menyebabkan dinding sel mengendur dan merenggang melalui sekresi asam yang mengaktifkan enzim pada pH tertentu, sehingga merenggangnya sel akan menyebabkan pemanjangan sel. Tekanan turgor terjadi ketika

sel menyerap molekul air sebagai respons terhadap peningkatan konsentrasi zat terlarut dalam vakuola, yang mendukung perluasan sel (Wahyuni et al., 2014). Selain pengerutan, penguningan juga teramati pada beberapa eksplan. Ciri *browning* ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi coklat, dan akhirnya menghitam (Anitasari, 2018). Namun, selama pengamatan, tidak ditemukan tanda-tanda perubahan warna dari kuning menuju coklat. Sebagian eksplan menunjukkan perubahan warna menjadi kuning pudar, dan beberapa di antaranya berhasil tumbuh akar, yang menunjukkan bahwa eksplan yang menguning masih memiliki potensi untuk tumbuh, meskipun tidak seoptimal eksplan yang mengalami pengerutan.

Pengamatan yang dilakukan selama 10 minggu tidak berhasil menumbuhkan kalus pada semua media (MS, MS + 2,4-D, VW, dan MS + VW); hanya ciri pengerutan yang teramati. Pengerutan mulai terjadi pada minggu ke-2 di tiga media, dan pada minggu ke-3, semua media menunjukkan pengerutan. Eksplan daun durian (*Durio zibethinus Murr.*) yang dikultur selama 8 minggu dengan media MS yang ditambahkan 2,4-D juga mengalami pengerutan, tetapi belum menumbuhkan kalus (Rahmadi et al., 2021). Kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) antara 2,4-D dan kinetin terbukti berhasil menumbuhkan kalus. Oleh karena itu, untuk memperoleh pertumbuhan kalus dalam penelitian ini, mungkin diperlukan waktu yang lebih lama serta kombinasi dengan hormon lain untuk meningkatkan peluang pertumbuhan.

Media kultur memiliki nutrisi dasar yang penting bagi pertumbuhan eksplan. Eksplan dapat tumbuh di media tanpa ZPT, seperti yang teramati pada media MS, MS + VW, dan VW. Pengerutan merupakan salah satu ciri yang menunjukkan potensi untuk tumbuh kalus. Meskipun terjadi pengerutan, beberapa eksplan juga menunjukkan pertumbuhan akar tanpa adanya kalus. Hal ini dapat dijelaskan oleh keberadaan unsur nitrogen dalam media yang berperan penting dalam pertumbuhan akar (Istiqomah et al., 2020). ZPT seperti 2,4-D berfungsi sebagai hormon auksin yang mendukung perbanyakan sel (Andiani, 2018). Pertumbuhan kalus didorong oleh hormon pertumbuhan, di mana kombinasi auksin dan sitokinin dapat digunakan untuk merangsang pertumbuhan kalus. Penambahan hormon ke dalam media dapat mempercepat pertumbuhan

kalus, dan menurut Ikeuchi et al. (2013), pemberian hormon auksin

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, *kultur in vitro* pada anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada berbagai media belum menghasilkan kalus, berdasarkan taraf signifikan $< \text{nilai hitung } (0,05 < 0,92)$, sehingga tidak terdapat perbedaan signifikan pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) melalui kultur jaringan pada semua media (*media Murashige and Skoog* (MS), *media Vacin Went* (VW), *media MS + 2,4-D*, dan *media MS + VW*). Media MS dan MS + VW memiliki pengerutan paling banyak, yaitu 6 eksplan. Media yang mengalami penguningan paling banyak adalah media MS + 2,4-D, yaitu 2 eksplan. Pertumbuhan akar paling banyak terjadi pada media MS dan MS + 2,4-D sebanyak 2 eksplan, namun media MS tumbuh lebih cepat. Berdasarkan pengamatan visualisasi tersebut, maka media yang terbaik adalah media MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Andiani. 2018. *Usaha Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Pustaka Baru Press.
- Anitasari, S. D. 2018. *Dasar Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Deepublish.
- Astarini, I. A., Claudia, V., Adi, N. K. A. P., Sudirga, S. K., & Astiti, N. P. A. 2015. In Vitro Propagation and Acclimatization of Black Orchid (*Coelogyne Pandurata* Lindl.). *Acta Horticulturae*, 1078, 155–158.
- Bintan Cahyo Adi, J. D. B., Kamsinah, K., & Prayoga, L. 2022. Penambahan IAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Anggrek *Coelogyne Pandurata* Lindl. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 3(2), 112.
- Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Kalimantan Selatan. 2024. *Coelogyne Pandurata*. Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Kalimantan Selatan. <https://dlh.kalselprov.go.id/web/coelogyne-pandurata/>
- Dwiyani, R., Fitriani, Y., & Mercuriani, I. S. 2022. The Alternative Media Supporting the Protocorm and Plantlet Growth of the Indonesian Black Orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Grown In Vitro. *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*, 37(1), 152.
- Grehenson, G. 2024. Mahasiswa UGM Lakukan Konservasi Ex Situ Anggrek Hitam. *Penelitian Dan Inovasi*. <https://ugm.ac.id/id/berita/mahasiswa-ugm-lakukan-konservasi-ex-situ-anggrek-hitam/>
- Hartati, S., Retna, Brigita, & Cahyono, O. 2022. The Effect of Auxin and Cytokinin on Black Orchid Hybrid (*Coelogyne pandurata* Lindley) in Vitro. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 12(3), 981.
- Istiqomah, M., Setiari, N., & Nurchayati, Y. 2020. Pengaruh Media MS dan VW Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Bulan Setelah Transplanting. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek Ke-5, Semarang*, 476–480.
- Kartiman, R., Sukma, D., Aisyah, S. I., & Purwito, A. 2018. Multiplikasi in Vitro Anggrek Hitam (*Coelogyne Pandurata* Lindl.) Pada Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(1), 75.
- 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.
- Prayoga, L., Rochmatino, & Kamsinah. 2020. Effect of Benzyl Adenin on the Growth of Black Orchid (*Coelogyne pandurata* lindl.) Planlets in in vitro Culture. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 4(4), 454–457.
- Rahmadi, A., Wicaksana, N., Nurhadi, B., Suminar, E., Pakki, S. R. T., & Mubarak, S. 2021. Induksi Kalus pada Eksplan Daun Muda Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Klon Baru Kamajaya dengan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin Secara In Vitro. *Agrikultura*, 31(3), 222.
- Rusmiyanto, E., & Mukarlina, N. 2018. Multiplikasi Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl) Pada Media Murashige Skoog (MS) dengan Penambahan Ekstrak Pisang Ambon dan Benzyl Amino Purin (BAP). *Jurnal Protobiont*, 7(3), 47–53.
- Samsurianto, Kusuma, R., & Maulida, S. N. 2023. Ratio of Yeast Extract Administration on Induction in Vitro

- Planlet Black Orchid (Coelogyne Pandurata Lindl) From Kalimantan. *International Journal of Research and Innovation in Social Science*, 7(1), 8–12.
- Wahyuni, D. K., Prasetyo, D., & Hariyanto, S. 2014. Perkembangan Kultur Daun Aglaonema sp. dengan Perlakuan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan 2,4-D dengan BAP (The Leaf Culture Development of Aglaonema sp. Treated by Combination of NAA, 2,4-D and BAP as Growth Regulators). *Jurnal Bios Logos*, 4(1), 1–8.
- Widiarsih, S., & Dwimahyani, I. 2023. Induced Mutation on Indonesian Black Orchid (Coelogyne Pandurata Lindley) In-Vitro Culture By Gamma Irradiation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1160(1), 012001.