

Review: Perspective of Biotic and Abiotic Factors for Tropical Orchid Acclimatization and *Ex-situ* Conservation

Anggiresti Kinasih^{1*}, Muhamad Rafli², Eria Rosanti Nugrahening², Fiola Oktaweni², Novi Saptariani Budiastuti², Nurul Hidayah³

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia;

²Departemen Biologi Tropika, Biology Orchid and Study Club, Universitas Gadjah Mada, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia;

³Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kab. Ciamis, Jl. Lembur Situ No.44, Ciamis, Kec. Ciamis, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat, Indonesia;

Article History

Received : July 17th, 2025

Revised : July 27th, 2025

Accepted : August 04th, 2025

*Corresponding Author:

Anggiresti Kinasih, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia; Email:

anggirestikinasih@live.undip.ac.id

Abstract: Acclimatization represents a critical transition phase in *ex-situ* conservation of tropical orchids, marking the shift from sterile *in vitro* conditions to more variable external environments. This literature review aims to synthesize recent experimental findings on the influence of abiotic and biotic factors on seedling viability and to propose an effective acclimatization protocol. A systematic analysis was conducted on over 30 peer-reviewed articles published between 2014 and 2024, covering media formulation, substrate selection, environmental controls, and microbial inoculation. The results highlight that optimized substrates such as moss, coconut fiber, and carbonized rice husk significantly improve root aeration and water retention. Supplementation with organic additives (e.g., peptone, coconut water, banana pulp) enhances early seedling vigor when applied to modified Murashige and Skoog (MS) media. Environmental parameters especially light intensity, diurnal temperature fluctuation (DIF), humidity, and photoperiod directly affect physiological responses. Moreover, inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) and mycorrhizal fungi contributes to phosphate solubilization, nitrogen fixation, siderophore production, and stress tolerance. In conclusion, the integration of species-specific abiotic and biotic strategies enhances survival and growth, offering scalable potential for orchid conservation and commercial propagation. It is recommended that future research focus on long-term physiological assessments and standardized inoculant formulations to improve protocol consistency across diverse orchid taxa.

Keywords: Bacteria, Conservation, Ecology, Microbial, Substrate.

Pendahuluan

Orchidaceae merupakan salah satu famili tumbuhan berbunga terbesar dan paling beragam di dunia, yang sebagian besar terdiri atas spesies tropis dengan nilai ekologis, estetika, dan ekonomi tinggi. Namun, kelangsungan hidup banyak spesies anggrek kini menghadapi ancaman serius akibat hilangnya habitat alami, eksploitasi berlebihan, serta dampak perubahan iklim (Astarini et al., 2015; Mullin et al., 2022). Lebih dari 70% spesies anggrek endemik di beberapa wilayah telah diklasifikasikan sebagai terancam punah atau berisiko tinggi terhadap kepunahan (Bhutia et al., 2023), menjadikan konservasi *ex-situ* sebagai pendekatan strategis yang

semakin penting dalam melindungi keanekaragaman hayati anggrek.

Sejak awal 2000-an, berbagai teknik perbanyakan *in vitro* telah dikembangkan dan diintegrasikan dengan metode aklimatisasi yang semakin kompleks. Pendekatan ini mencakup penggunaan suplemen organik dan asosiasi mikoriza untuk mendukung pertumbuhan plantlet secara optimal (Utami & Hariyanto, 2019; Dong et al., 2024). Namun demikian, tahap aklimatisasi pascapropagasi tetap menjadi *bottleneck* dalam keberhasilan konservasi *ex-situ* karena tingginya tingkat kematian plantlet saat transisi dari lingkungan kultur aseptik ke lingkungan alami atau semi-alami (Reginaldo et al., 2015; Aucencia & Anne, 2024).

Permasalahan utama dalam proses ini adalah rendahnya tingkat kelangsungan hidup dan pertumbuhan plantlet anggrek akibat ketidaksesuaian faktor abiotik seperti komposisi media nutrisi, jenis substrat, intensitas cahaya, suhu, dan kelembapan (Júnior et al., 2018; Nadal et al., 2022). Walaupun beberapa formulasi media dan substrat telah menunjukkan hasil yang menjanjikan, masih terdapat celah pengetahuan terkait kombinasi optimal dari faktor-faktor tersebut yang disesuaikan untuk berbagai spesies anggrek tropis. Selain itu, kontroversi juga muncul mengenai efektivitas suplemen organik versus anorganik, peran fungi mikoriza dalam fase aklimatisasi, serta jenis substrat yang paling mendukung adaptasi plantlet (., 2023; Media et al., 2024). Ketidakjelasan ini berdampak pada tingginya tingkat kegagalan reintroduksi dan dapat menghambat tujuan konservasi jangka panjang (Suzuki et al., 2021).

Kerangka konseptual dari penelitian ini mengintegrasikan interaksi antara faktor abiotik—seperti komposisi media, karakteristik substrat, dan parameter lingkungan—dengan respon fisiologis anggrek selama fase aklimatisasi (Zandoná et al., 2014; Dong et al., 2024). Kerangka ini didasari oleh teori kultur jaringan tumbuhan dan prinsip adaptasi ekologis, yang menekankan pentingnya optimalisasi kondisi lingkungan buatan secara spesifik untuk meningkatkan vigor dan tingkat kelangsungan hidup plantlet, sehingga mendukung keberhasilan konservasi *ex-situ* secara menyeluruh (Sasamori et al., 2021; Izuddin et al., 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk menyajikan tinjauan sistematis mengenai upaya optimalisasi faktor abiotik selama proses aklimatisasi anggrek tropis. Fokus utamanya adalah mengidentifikasi kombinasi media kultur, substrat, serta kondisi lingkungan yang paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup plantlet (Stefano et al., 2022; Astarini et al., 2015). Nilai tambah dari studi ini terletak pada penyusunan panduan berbasis bukti ilmiah bagi para peneliti dan praktisi konservasi dalam merancang protokol aklimatisasi spesifik-spesies yang lebih efisien dan berkelanjutan (Mullin et al., 2022; Júnior et al., 2018).

Bahan dan Metode

Metode

Review artikel ini menggunakan pendekatan metodologis yang sistematis melalui proses review sejawat dengan fokus pada faktor abiotik dan biotik anggrek tropis. Pendekatan ini digunakan untuk mengidentifikasi praktik terbaik dan merumuskan arah penelitian yang masih dibutuhkan di masa depan (Nadal et al., 2022; Media et al., 2024). Pencarian referensi dilakukan melalui empat basis data ilmiah, yaitu Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, dan Scopus, dengan periode publikasi 2014-2025. Kata kunci yang digunakan mencakup "*aklimatisasi anggrek tropis*", "*faktor biotik anggrek tropis*", "*faktor abiotik anggrek tropis*", dan "*konservasi ex-situ anggrek tropis*".

Analisis parameter ekologis

Analisis lebih lanjut difokuskan pada parameter ekologis, khususnya pengaruh interaksi antara faktor biotik dan abiotik dalam proses aklimatisasi anggrek. Kerangka analisis disusun secara tematik dan mencakup evaluasi komparatif terhadap komposisi media tanam, efektivitas jenis-jenis substrat, serta parameter lingkungan.



Gambar 1. Tujuan akhir penelitian

Proses analisis data dilakukan pada periode November 2024 hingga Juli 2025. Kontribusi yang diharapkan dari penelitian ini adalah mendukung upaya pelestarian anggrek tropis yang terancam punah, menyediakan protokol aklimatisasi yang lebih efektif, meningkatkan viabilitas dan keberhasilan adaptasi anggrek tropis dalam program konservasi *ex-situ*.

Hasil dan Pembahasan

Faktor Keberhasilan Aklimatisasi Seedling Anggrek

Keberhasilan dalam aklimatisasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti keadaan seedling dalam botol, metode aklimatisasi, dan kondisi lingkungan saat aklimatisasi. Berdasarkan lebih dari 20 studi, diketahui bahwa perbedaan respon spesies terhadap faktor lingkungan menjadikan aklimatisasi sebagai tahapan paling kritis dalam konservasi *ex-situ*. Aklimatisasi yang tidak tepat dapat menyebabkan tingkat kematian tinggi meskipun kultur *in vitro* berhasil (Astarini et al., 2015; Ramos et al., 2024). Hasil penelitian Shi et al. (2022) juga menemukan bahwa peningkatan intensitas cahaya hingga 70% dan frekuensi irigasi 2 hari sekali memicu akumulasi biomassa dan senyawa aktif *Pleione bulbocodioides*.

Hasil penelitian Ramos et al. (2024) menunjukkan bahwa kombinasi media MS

rendah, sistem penyegelan semipermeabel, dan iradiasi $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ memberikan hasil aklimatisasi terbaik pada *Cattleya walkeriana*. Liu et al. (2021) melaporkan bahwa perbedaan suhu siang dan malam (DIF) sebesar $\pm 10^\circ\text{C}$ pada *Dendrobium aphyllum* dapat meningkatkan panjang akar dan kandungan klorofil secara signifikan. Penemuan Rosa-Manzano et al. (2015) menegaskan pentingnya mekanisme fotoproteksi yang diatur oleh siklus pigmen xantofil untuk adaptasi terhadap fluktuasi cahaya di habitat alami. Selain itu, Izuddin et al. (2018) menemukan bahwa keberhasilan jangka panjang reintroduksi anggrek epifit sangat ditentukan oleh kesesuaian mikrohabitat dan dukungan kelembapan relatif tinggi di lingkungan urban tropis.

Seedling yang digunakan dalam aklimatisasi harus memiliki kriteria warna daun hijau, akar banyak, tidak terkontaminasi oleh fungi, dan berukuran seragam. Ukuran seragam sangat diperlukan pada pengamatan keberhasilan aklimatisasi agar data yang didapatkan akurat dan signifikan. Kondisi lingkungan aklimatisasi seharusnya dibuat mendekati kondisi *in vitro*. Suhu aklimatisasi yang optimal berkisar antara $25^\circ - 32^\circ \text{C}$. Pengaturan suhu dapat juga dilakukan dengan melakukan penyiraman, fertilasi terkontrol dan sistem pengkabutan (Yasmin et al., 2018).

Tabel 1. Pengaruh Faktor Abiotik terhadap Aklimatisasi Beberapa Spesies Anggrek

Faktor Abiotik	Spesies Anggrek	Kisaran Optimal	Pengaruh	Referensi
Kelembaban	<i>Phalaenopsis</i> sp.	60%-90%	Peningkatan tinggi seedling, panjang, lebar, jumlah daun	Erfa et al., 2019
	<i>Bletilla striata</i>	95%-100%	Ukuran tanaman, panjang akar dan daun	Lesar et al., 2012
Temperatur	<i>Cattleya</i> sp.	10 °C - 35 °C	Peningkatan Jumlah dan ukuran daun	Diaz et al., 2010
	<i>Phalaenopsis</i> sp.	15 °C - 35 °C	Peningkatan Jumlah dan panjang akar	Diaz et al., 2010
Konsentrasi CO2	<i>Phalaenopsis</i> sp.	400/1000mol ⁻¹ (elevated) CO2	Peningkatan laju transpirasi dan aktivitas Rubisco serta PEPC	Yoon et al., 2009
	<i>Vanda</i> sp.	1 g/l - 2 g/l	Peningkatan tinggi seedling, panjang dan jumlah daun	Hartati et al., 2019
Nutrisi/ pupuk	<i>Dendrobium</i> varietas Dian Agrihorti	2.25 mL	Pertambahan tinggi seedling, panjang dan jumlah daun,	Ayuningtyas et al., 2020

Penelitian Janissen et al. (2022) menemukan bahwa stratifikasi suhu hangat (25–30°C selama 2 minggu) meningkatkan laju perkecambahan dan adaptasi *Caladenia robinsonii*. Kelembaban relatif yang tinggi dapat dipertahankan untuk beberapa hari pertama setelah aklimatisasi. Respon fisiologis seedling ketika kelembaban relatif rendah adalah kekeringan. Ketika kelembaban relatif terlalu tinggi, kontaminasi fungi akan mungkin terjadi dan tanaman akan menjadi busuk berair (Andiani, 2018). Penurunan kelembaban dan penurunan intensitas cahaya harus dilakukan selambat mungkin. Intensitas cahaya yang diperlukan untuk aklimatisasi berkisar antara 40-50%. Respon fisiologis seedling pada kondisi dengan tingkat cahaya yang tinggi adalah kekeringan daun.

Intensitas cahaya yang tinggi dapat menghambat pembentukan kutikula dan merusak klorofil. Hasil aklimatisasi yang tidak berhasil dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak stabil yaitu terjadi panas berkepanjangan ataupun hujan yang tiba-tiba. Hal ini dapat menyebabkan adaptasi tanaman anggrek menjadi

lebih lama. Naungan diperlukan untuk mengontrol intensitas cahaya, membantu mengurangi laju transpirasi dan mengontrol kondisi lingkungan yang tidak stabil. Setelah beberapa waktu dibawah naungan, tanaman secara perlahan-lahan dipindahkan ke kondisi pencahayaan sebenarnya dimana tanaman akan ditanam. Respon fisiologis seedling yang menunjukkan keberhasilan aklimatisasi adalah peningkatan jumlah daun dan akar sebagai indikator tanaman menuju ke tahap pendewasaan (Putra et al, 2016).

Pengaruh Media Tanam Pada Aklimatisasi Seedling Anggrek

Faktor yang ikut menentukan dalam proses aklimatisasi ialah media tanam yang digunakan. Media tanam ini berfungsi sebagai penyedia nutrisi dan tempat melekatnya akar sehingga sangat berpengaruh dalam mekanisme pertumbuhan dan perkembangan seedling anggrek. Media tanam merupakan komponen vital yang memengaruhi retensi air, aerasi, serta interaksi akar dengan mikroba.

Tabel 2. Kelebihan dan kekurangan beberapa jenis media tanam

Jenis Media Tanam	Seedling Anggrek Usia	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
Akar kadaka	<i>Phalaenopsis amabilis</i> 40 hari	Serat rapat, menyimpan air dan hara, dapat menopang tanaman tumbuh tegak	Mudah ditumbuhi hama, penyakit, hewan-hewan kecil	Tini et al., 2019
Akar pakis	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Aerasi dan draenasi baik, tidak mudah lapuk, unsur hara cukup	Harga jual tinggi, disukai semut dan hewan-hewan kecil	Tini et al., 2019;
Arang kayu	<i>Dendrobiums</i> sp. 8 bulan	Kandungan karbon tinggi, tidak berjamur, tahan lama	Daya mengikat air kurang, miskin unsur hara	Muhid, 2010 Andalasar et al., 2014
Batu Zeolit	<i>Vanda sanderiana</i>	Mampu menstabilkan ion, penyaring molekul yang baik	Belum umum digunakan untuk aklimatisasi angrek	Firgiyanto & Firnawati, (2019)
Serbuk gergaji Sekam/ arang sekam	<i>Coelogyne Pandurata Cattleya</i> sp. Berumur 6 bulan	Mengandung C, H, O, N, P, Ca, tekstur ringan Mengandung karbon, fosfor, sulfur, drainase dan aerasi baik	Dapat ditumbuhi fungi dan hewan kecil Arang sekam jarang tersedia di pasaran	Haryati dan Siampa, 2018 Andriani and Pramushinta, 2017
Sabut kelapa dan cocochip	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Harganya murah, mampu mengikat air dan banyak mengandung unsur kalium	Terlalu ringan, mudah lapuk, menghasilkan tanin yang menghambat pertumbuhan daun	Indriani et al., 2019
Moss	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Menyerap air, mempertahankan kelembaban, memiliki kandungan nitrogen dan fosfor	Dapat mengandung air terlalu banyak dari batas jenuh tanaman	Erfa et al., 2019

Substrat seperti moss, serat kelapa, arang, kulit pinus, serta campuran limbah pertanian (sekam bakar, jerami kedelai) banyak dilaporkan memberikan hasil aklimatisasi yang baik tergantung pada jenis anggreknya. Sebagai contoh, black orchid menunjukkan tingkat keberhasilan aklimatisasi hingga 98% pada substrat moss (Astarini et al., 2015), sementara *Oncidium baueri* tumbuh optimal pada campuran sekam bakar dan serat kelapa (Nadal et al., 2022).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa substrat organik dapat memperbaiki struktur akar dan meningkatkan kemampuan tanaman menyerap nutrisi. Namun, efektivitas substrat sangat spesifik pada spesies; penggunaan substrat yang tidak sesuai dapat meningkatkan kerentanan terhadap stres air atau patogen tanah (Zandoná et al., 2014; Reginaldo et al., 2015). Konsentrasi sukrosa yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menghambat perkembangan akar dan daun (Sasamori et al., 2021). Hasil studi Astarini et al. (2015) melaporkan bahwa penggunaan moss sebagai substrat mampu meningkatkan kelangsungan hidup *Coelogyne pandurata* hingga 98% selama aklimatisasi.

Penelitian Zandoná et al. (2014) membuktikan bahwa campuran arang dan sekam jagung memberikan hasil setara dengan sphagnum moss pada *Arundina graminifolia* "alba". Aytar & Kömpe (2023) menunjukkan bahwa substrat perlit-kompos mendukung simbiosis efektif pada *Anacamptis laxiflora*, menghasilkan laju germinasi dan pertumbuhan protocorm yang lebih cepat. Media dari genteng tanah liat dan kulit kayu juga berhasil digunakan untuk reintroduksi *Guarianthe skinneri*, memberikan lingkungan mirip epifit alami (Aucencia & Anne, 2024). Penelitian lainnya oleh Oliveira et al. (2021) mengonfirmasi bahwa substrat kasar dengan aerasi tinggi penting dalam

mendukung aklimatisasi *Cattleya nobilior*. Oleh karena itu, pemilihan substrat harus disesuaikan dengan kebutuhan ekologis dan fisiologis setiap spesies.

Syarat umum media tanam anggrek yaitu porous, mudah menyerap air, tidak mudah lapuk, tidak cepat asam, tidak mudah ditumbuhi *fungi*, lumut atau tanaman lain dan lebih baik dapat menyediakan hara dan umur media tahan minimal sampai 4 bulan. Pemilihan media tanam untuk daerah yang curah hujannya tinggi sebaiknya menggunakan media yang tidak banyak menyimpan air seperti arang dan pecahan genteng sedangkan untuk di daerah kering digunakan media yang mudah menyerap dan menyimpan air seperti pakis, moss dan sabut kelapa (Junaedhie, 2014). Penanaman secara *community pot* juga sering digunakan saat aklimatisasi yaitu menanam seedling anggrek secara bersamaan dalam satu pot dengan tujuan untuk mengurangi risiko kematian seedling.

Perlakuan Aklimatisasi Seedling Anggrek

Faktor perlakuan yang mempengaruhi keberhasilan aklimatisasi seedling anggrek adalah (1) Cara Penyiraman, (2) Waktu Penyiraman, (3) Frekuensi Penyiraman, (4) Media Siram. Penyiraman dapat dilakukan dengan sprayer sehingga merata, tidak menggenang, tidak terlalu lembab sehingga tidak layu ataupun berjamur. Penyiraman yang baik langsung disemprotkan pada bagian akar atau media supaya langsung terserap. Penyiraman paling optimum dilakukan pada pagi hari pukul 07.00-09.00 dan sore hari pada pukul 15.00-17.00 (Agung, 2006). Pada jam-jam tersebut, tingkat transpirasi sangat rendah sehingga air mampu disimpan secara maksimal oleh akar tanaman (Andiani, 2018).

Tabel 3. Kandungan nutrisi pada berbagai macam media siram

Media Siram	Jenis Nutrien	Referensi
Air sumur	Besi, mangan, nitrat, nitrit, sulfat, klorida	Munfiah et al., (2013)
Air sadah	Mg dan Ca	Kilo, (2018)
Air ledeng (PAM)	Mangan, besi, nitrit, sulfat, klorida, pH tinggi	Purwanto, (2016)
Air kelapa	kalium, mineral diantaranya Kalsium (Ca), Natrium (Na), Magnesium (Mg), Ferum (Fe), Cuprum (Cu), dan Sulfur (S), mineral, hormon auksin dan sitokinin	Rahmawati et al., (2017)
Air limbah organik	Kalsium, besi, vitamin B1, nitrogen, fosfor, sulfur, magnesium, kalium	Purnami et al., (2014); Sugiarto et al., (2019); Hairuddin et al., (2018)

Tabel 4. Rentang keberhasilan pupuk organik pada aklimatisasi *seedling* anggrek

Limbah Organik	Jenis Nutrien	Spesies Anggrek	Rentang Keberhasilan	Referensi
Air cucian beras (merah dan putih)	Kalsium, besi, vitamin B1, nitrogen, fosfor, sulfur, dan magnesium	<i>Phalaeonop sis sp.</i>	Air cucian beras merah mempengaruhi pertumbuhan tinggi tanaman 44.17% lebih tinggi, jumlah akar 25.41% lebih banyak, panjang akar 18.26% lebih panjang	Purnami <i>et al.</i> , (2014)
Air cucian beras	Nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, sulfur, besi, vitamin B1	<i>Dendrobium sp.</i>	Air leri 66% berpengaruh pada panjang tanaman, panjang daun, dan jumlah daun	Sugiarto <i>et al.</i> , (2019)
Emulsi ikan	Karbon, nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, boron, besi, mangan, dan zink	<i>Dendrobium sp.</i>	Tidak berpengaruh signifikan terhadap panjang tanaman, berpengaruh pada jumlah daun, berpengaruh pada rata-rata panjang akar	
Air cucian ikan bandeng + air cucian beras	Protein dan lemak (nilai nitrat dan amonia cukup tinggi), nutrien pada air cucian beras	<i>Dendrobium sp.</i>	50 ml air cucian ikan bandeng + 50 ml air cucian beras menghasilkan jumlah daun tertinggi, lebar daun terbaik, diameter batang terbaik	Hairuddin <i>et al.</i> , (2018)
Ekstraksi sisa daun kelor	kalsium mengandung, magnesium, pospor, zat besi, sulfur	<i>Dendrobium sp.</i>	Ekstrak cair daun kelor sebanyak 40 % berpengaruh terhadap pertumbuhan akar, jumlah daun, panjang tanaman, dan kecepatan berbunga	Bandang, (2021)
Ekstraksi sisa daun kelor + air kelapa	zeatin, sitokinin, askorbat, fenolik, N,S,P, Ca, K, dan Fe kaya akan	<i>Dendrobium sp.</i>	40 % Ekstrak daun kelor + air kelapa 60% meningkatkan jumlah akar dan diameter batang	Bandang, (2021)
Air cucian beras + Air rendaman cangkang telur	nitrogen, fosfor, kalium, magnesium, sulfur, besi dan vitamin B1	<i>Dendrobium sp.</i>	Penyiraman 3 kali dalam satu hari dapat meningkatkan luas daun	Sudartini <i>et al.</i> , (2020)
Air rendaman cangkang telur	fosfor, magnesium, kalium, seng mangan dan besi	<i>Dendrobium sp.</i>	Penyiraman 3 kali dalam satu hari dapat meningkatkan luas daun	Sudartini <i>et al.</i> , (2020)
Air cucian beras IR 64	Amilosa, karbohidrat, kalium, fosfor, magnesium,	<i>Dendrobium laxiflorum</i>	Pemberian air cucian beras pada konsentrasi 60% meningkatkan bertat kering anggrek	Nurchayani <i>et al.</i> , (2016)
Air cucian beras IR 64 + air kelapa	Nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, sulfur, besi, vitamin B1, karbohidrat	<i>Dendrobium laxiflorum</i>	Pemberian air cucian beras dan air kelapa pada konsentrasi 60% dan 60% meningkatkan tinggi tanaman anggrek	Nurchayani <i>et al.</i> , (2016)
Air Leri + Emulsi Ikan	nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, sulfur, besi, vitamin B1, karbon, nitrogen, boron, mangan dan zink	<i>Dendrobium sp.</i>	Pemberian Air leri 66%+ Emulsi Ikan 0,6% meningkatkan panjang daun dan pemberian Air leri 100 %+ Emulsi Ikan 0,4 % meningkatkan jumlah daun	Sugiarto <i>et al.</i> , (2019)
Limbah cair nanas	C, N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, S, NO ₃ , NH ₄ , dan C/N	<i>Dendrobium Sp</i>	dosis 3ml meningkatkan tinggi dan jumlah daun	Sutanto dan Qurniani, (2015)

Hasil penelitian Media *et al.* (2024) menunjukkan bahwa penambahan 100 mg/L pepton pada medium kultur meningkatkan kecepatan perkecambahan *Grammatophyllum stapeliiflorum* dan meningkatkan ketahanan awal selama aklimatisasi. Stefano *et al.* (2022) melaporkan bahwa kombinasi air kelapa, pisang, dan ekstrak pepaya meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah daun anggrek asli Florida dalam dua minggu pasca-aklimatisasi. Utami & Hariyanto, (2019) menunjukkan bahwa penggunaan hormon BA (1 mg/L) pada *Phalaenopsis amboinensis* meningkatkan jumlah tunas dan daun saat aklimatisasi. Untuk spesies langka seperti *Cephalanthera rubra*, teknik kriopreservasi menggunakan enkapsulasi-dehidrasi terbukti mempertahankan viabilitas benih hingga lebih dari 6 bulan (Azad *et al.*, 2024).

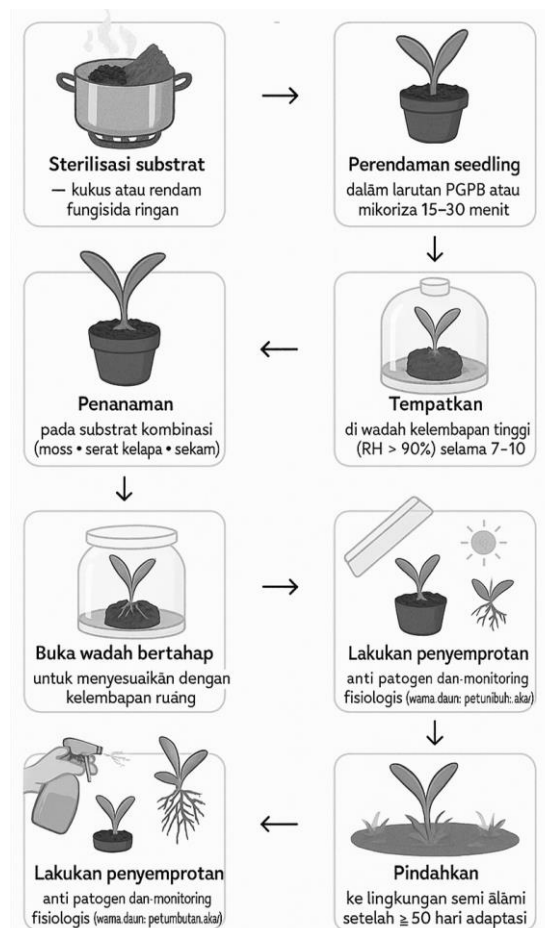
Frekuensi penyiraman menjadi faktor penting dalam perlakuan aklimatisasi seedling anggrek. Penyiraman yang telah dilakukan pada rentang waktu sesuai tetapi kurang konsisten akan menyebabkan hasil menjadi bias. Berdasarkan Purnami *et al.*, (2014), frekuensi penyiraman paling optimal adalah 4 hari sekali. Frekuensi penyiraman setiap 6 hari sekali menyebabkan asupan hara bagi tanaman kurang. Frekuensi penyiraman setiap hari atau 2 hari sekali menyebabkan tanaman kelebihan hara. Penyiraman yang berlebihan justru akan membuat akar seedling anggrek menjadi busuk, meningkatkan kelembaban dan memicu tumbuhnya jamur (Purwanto, 2016). Jenis media siram memiliki nutrisi yang berbeda sehingga sangat mempengaruhi keberhasilan aklimatisasi anggrek.

Fosfor bagi tanaman dapat membantu pembelahan sel. Fosfor akan menghasilkan gula fosfat yang esensial pada reaksi metabolisme pembentukan ATP. Peningkatan unsur P bagi tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti tinggi tanaman dan jumlah daun (Purnami *et al.*, 2014). Vitamin B1 (thiamin) merupakan kelompok vitamin yang berperan sebagai ko-enzim dalam metabolisme karbohidrat. Vitamin B1 akan mengonversi karbohidrat menjadi energi untuk membantu aktivitas tanaman. Vitamin B1 dapat juga digunakan sebagai prekursor pembentukan auksin (Rineksane *et al.*, 2018).

Kandungan karbohidrat dapat menjadi perantara dalam pembentukan hormon auksin dan giberelin. Auksin berfungsi dalam pertumbuhan pucuk dan tunas baru sedangkan

giberelin bermanfaat dalam merangsang pertumbuhan akar (Wardiah dan Rahmatan, 2014). Sulfur dapat mensintesis thiamin sehingga dapat menginisiasi pertumbuhan akar tanaman anggrek. Unsur nitrogen (N) mempengaruhi pembentukan zat hijau daun (Sugiarto *et al.*, 2019).

Nitrogen dan karbon berfungsi sebagai senyawa utama penyusun protein. Kalsium berfungsi sebagai activator enzim. Besi dan mangan berfungsi sebagai *electron transport*. Kalsium serta magnesium berperan dalam potensial osmosis dan permeabilitas membran (Jones 2012). Suzuki *et al.* (2021) menambahkan bahwa pemupukan awal sebelum reintroduksi mampu meningkatkan survival *anggrek terrestrial* secara signifikan hingga 83%.



Gambar 2. Protokol Aklimatisasi Anggrek Tropis

Kandungan nutrisi dan unsur hara juga dapat diperoleh melalui pemberian pupuk organik yang berasal dari limbah sisa makanan, sayuran, daun-daun, dan kotoran (Sunarsih, 2018). Pupuk organik memiliki potensi sebagai media siram pengganti pupuk kimia. Pupuk organik cair memiliki kelebihan mengatasi

defisiensi hara, serta umumnya tidak merusak tanah dan tanaman (Hadisuwito, 2012). Konsentrasi sukrosa yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menghambat perkembangan akar dan daun (Sasamori *et al.*, 2021).

Peran Faktor Biotik Pada Tahapan Aklimatisasi *Seedling* Anggrek

Simbiotik dengan mikroorganisme, terutama mikoriza dan endofit, memainkan peran sentral dalam meningkatkan kelangsungan hidup dan adaptasi *seedling* anggrek. Aucencia & Anne (2024) melaporkan bahwa inokulasi endofit jamur pada *Guarianthe skinneri* meningkatkan survival rate hingga 90% saat reintroduksi, dengan peran signifikan dalam meningkatkan penyerapan nutrisi dan toleransi stres. Mikoriza membantu tanaman dalam penyerapan nutrisi dan air, sedangkan endofit, khususnya *plant growth-promoting bacteria* (PGPB), berperan sebagai bioinokulan yang memperkuat ketahanan fisiologis dan biokimia tanaman

terhadap stres lingkungan (Aucencia & Anne, 2024; Critiano *et al.*, 2023).

Bakteri endofit mampu mengubah bentuk fosfat yang tidak tersedia menjadi bentuk terlarut yang dapat diserap akar, meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat (Cristiano *et al.*, 2023). Beberapa strain bakteri endofit diketahui dapat melarutkan seng (ZnO), meningkatkan ketersediaan seng yang esensial dalam sintesis enzim tanaman. Aucencia & Anne (2024) membuktikan bahwa inokulasi endofit pada *Guarianthe skinneri* secara signifikan meningkatkan survival rate hingga 90% saat reintroduksi ke habitat aslinya, terutama pada media berbasis genteng tanah liat dan kulit kayu yang mendukung kolonisasi mikroba. Hal ini dikarenakan, bakteri endofit menghasilkan siderophore, senyawa pengikat besi yang membantu meningkatkan ketersediaan unsur Fe bagi tanaman sekaligus menghambat pertumbuhan patogen (Critiano *et al.*, 2023).

Tabel 5. Peran Bakteri Endofit pada *Seedling* Anggrek

Kegunaan	Spesies Bakteri Endofit	Sumber
Melarutkan kalsium fosfat	<i>Bacillus thuringensis</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Burkholderia gladioli</i> , <i>Herbaspirillum frisingense</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Rhizobium cellulosilyticum</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gontijo et al, 2018
Melarutkan seng oksida	<i>Burkholderia gladioli</i> , <i>Herbaspirillum frisingense</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Rhizobium cellulosilyticum</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
Digunakan sebagai biostimulan	<i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Rhizobium cellulosilyticum</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i>	
Digunakan sebagai pupuk hayati	<i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Rhizobium cellulosilyticum</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i>	
Fiksasi nitrogen atmosfer	<i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Rhizobium cellulosilyticum</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i>	
Melarutkan fosfat	<i>Chryseobacterium</i> sp. <i>Collimonas pratensis</i> , <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Herrera et al, 2020
Produksi siderophore	<i>Collimonas pratensis</i> , <i>Dyella marensis</i>	

Endofit seperti *Azospirillum* spp. Berperan dalam fiksasi nitrogen bebas dari atmosfer, menyediakan N dalam bentuk amonia bagi anggrek yang tumbuh di substrat miskin nutrisi. Penelitian lain oleh Yang *et al.* (2017) menegaskan pentingnya hubungan simbiotik dan peran pohon inang dalam keberhasilan germinasi anggrek epifit secara alami. Reiter & Menz (2022) juga menekankan pentingnya kecocokan mikrositus, terutama keberadaan simbiosis

mikoriza spesifik, dalam reintroduksi *Caladenia* yang terancam punah.

Protokol Aklimatisasi *Seedling* Anggrek sebagai Upaya Konservasi *Ex-situ*

Pengembangan protokol aklimatisasi yang lebih efektif bertujuan untuk menjembatani fase transisi dari kondisi steril *in vitro* menuju lingkungan luar yang penuh fluktuasi. Berdasarkan temuan dari berbagai studi, pendekatan yang integratif dan spesifik-spesies

diperlukan untuk meningkatkan viabilitas dan adaptasi anggrek tropis selama proses aklimatisasi. Beberapa perlakuan inovatif seperti inokulasi jamur endofit (Aucencia & Anne, 2024), stratifikasi suhu (Janissen *et al.*, 2022), dan pengaturan fotoperiode (Utami & Hariyanto, 2019) juga terbukti signifikan dalam mempercepat adaptasi fisiologis. Strategi ini tidak hanya meningkatkan kelangsungan hidup,

tetapi juga mendukung perkembangan akar dan daun secara optimal. Namun demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pendekatan tunggal yang efektif untuk semua spesies. Keberhasilan perlakuan aklimatisasi sangat tergantung pada respons spesifik tanaman, lingkungan, dan interaksi antara komponen media, cahaya, serta suhu.

Tabel 6. Protokol Parameter Ekologis Berdasarkan Tahapan Aklimatisasi Anggrek

Tahapan	Parameter & Perlakuan	Rekomendasi Nilai	Referensi
1. Persiapan Substrat	Pemilihan media tanam berpori dan steril	Moss, serat kelapa, sekam bakar (rasio 1:1:1)	Astarini <i>et al.</i> (2015); Zandoná <i>et al.</i> (2014)
	Daya serap air dan aerasi	Medium to high porosity; drainase baik	Oliveira <i>et al.</i> (2021)
2. Formulasi Media Pra-Aklimatisasi	Media MS ½ dengan bahan organik alami	100 ml/L air kelapa, 50 g/L pisang, 2 g/L pepton	Media <i>et al.</i> (2024); Stefano <i>et al.</i> (2022)
	pH media	5.6–5.8	Sasamori <i>et al.</i> (2021)
3. Transisi Suhu dan Cahaya	Intensitas cahaya awal	30–50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fase awal), bertahap ke 80–120 μmol	Rosa-Manzano <i>et al.</i> (2015); Ramos <i>et al.</i> (2024)
	Suhu siang/malam (DIF) Fotoperiode	28 °C / 20 °C 12–14 jam cahaya	Liu <i>et al.</i> (2021) Shi <i>et al.</i> (2022)
	Kelembapan relatif	85–90% → turun bertahap ke 60–70%	Mullin <i>et al.</i> (2022)
4. Inokulasi Biotik (opsional)	Fungi mikoriza dan PGPB (bakteri endofit)	Bacillus sp., Azospirillum sp. 10 ⁷ CFU/ml	Critiano <i>et al.</i> , (2023); Aucencia & Anne (2024)
	Aplikasi inokulan	Direndam 15–30 menit sebelum tanam	Yang <i>et al.</i> (2017)
5. Tahap Transisi Bertahap	Fungsi utama	Pelarutan fosfat, fiksasi nitrogen, siderophore	Cristiano <i>et al.</i> , (2023)
	Tahap I: Dome humid chamber (± 7 –10 hari)	RH 90–95%, cahaya rendah	Oliveira <i>et al.</i> (2021)
	Tahap II: Rumah kaca terkontrol	RH 70–80%, peningkatan cahaya	Ramos <i>et al.</i> (2024)
6. Evaluasi dan Monitoring	Tahap III: Adaptasi semi-lapangan	RH alami, penyiraman ringan	Izuddin <i>et al.</i> (2018)
	Indikator keberhasilan	Survival $\geq 80\%$, akar aktif, daun tegak, tanpa nekrosis	Reiter & Menz (2022); Júnior <i>et al.</i> (2018)

Kesimpulan

Optimasi faktor abiotik, terutama suhu, cahaya, kelembapan, dan media tanam, berperan krusial dalam meningkatkan kelulushidupan dan adaptasi anggrek tropis selama aklimatisasi. Substrat seperti moss, serbuk pinus, sekam bakar, dan serat kelapa terbukti efektif menciptakan mikrohabitat yang mendukung pertumbuhan awal, namun harus disesuaikan dengan spesies dan keberlanjutan lingkungan. Formulasi media *in vitro* berbasis MS yang

diperkaya air kelapa, pisang, dan pepton mempercepat germinasi dan vigor bibit, meski efektivitasnya bersifat spesifik-spesies dan perlu disesuaikan. Pengaturan parameter lingkungan seperti fotoperiode, suhu siang-malam, dan intensitas cahaya mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan metabolisme tanaman, namun masih banyak studi yang belum mengintegrasikan evaluasi fisiologis secara menyeluruh. Secara biotik, peran mikoriza dan bakteri endofit terbukti memperkuat ketahanan fisiologis anggrek melalui fiksasi nitrogen,

pelarutan fosfat dan seng, produksi siderophore, serta hormon tumbuh, menjadikannya biofertilizer potensial untuk mendukung adaptasi di lingkungan luar. Keseluruhan temuan ini mendukung penyusunan protokol aklimatisasi yang lebih efektif, spesifik-spesies, dan ramah lingkungan, sehingga dapat meningkatkan keberhasilan konservasi *ex-situ* anggrek tropis secara ilmiah dan berkelanjutan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada *Biology Orchid Study Club* atas dukungan ilmiah dan fasilitas yang diberikan selama proses penyusunan kajian ini. Penghargaan khusus juga disampaikan kepada Nasywa Fajriatun Nisa Suparman, Ivory Martha Pertiwi, Kireida Asta Nugraheni, dan Wulan Usfi Mafiroh atas kontribusi, diskusi kritis, serta semangat kolaboratif yang sangat membantu dalam penyusunan literatur dan analisis data. Semoga karya ini dapat menjadi kontribusi nyata bagi pengembangan konservasi anggrek tropis di Indonesia dan dunia.

Referensi

- Agung. (2006). *Cara Tepat Merawat Anggrek..* Jakarta. Agromedia Pustaka, hal. 32.
- Andalasari, T. D., Yafisham, Y., & Nuraini, N. (2017). Respon pertumbuhan anggrek dendrobium terhadap jenis media tanam dan pupuk daun. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(1). <https://doi.org/10.25181/jppt.v14i3.156>
- Andiani, Y. (2018). Usaha pembibitan anggrek dalam botol. *Penerbit Pustaka Baru Press, Yogyakarta: hal*, 83-94.
- Andriani, V., & Pramushinta, I. A. K. (2017). Pengaruh media tanam terhadap respon fisiologi aklimatisasi anggrek *Cattleya*. *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 10(01), 17-19. <https://doi.org/10.36456/stigma.vol10.no1.a1469>
- Astarini, I. A., Claudia, V., Adi, N. K. A. P., Sudirga, S. K., & Astiti, N. P. A. (2014, February). In Vitro Propagation and Acclimatization of Black Orchid (*Coelogyne Pandurata* Lindl.). In *II International Orchid Symposium 1078* (pp. 155-158). <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2015.1078.21>

- Aucencia, E. L., & Anne, D. (2024). Acclimatization with endophytic fungi and reintroduction of *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & WE Higgins, a threatened, native orchid of cultural value in southern Mexico. *Journal for Nature Conservation*, 78, 126573. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2024.126573>
- Aytar, E. C., & Özdener Kömpe, Y. (2023). Effect of different substrates on in vitro symbiotic seed germination for soilless production of *Anacamptis laxiflora* orchid. *Acta Botanica Croatica*, 82(2), 101-108. <https://doi.org/10.37427/botcro-2023-010>
- Ayuningtyas, U., Budiman, B., & Azmi, T. K. K. (2021). Pengaruh pupuk daun terhadap pertumbuhan bibit anggrek *Dendrobium Dian Agrihorti* pada tahap aklimatisasi. *Jurnal Pertanian Presisi (Journal of Precision Agriculture)*, 4(2), 148-159. <http://dx.doi.org/10.35760/jpp.2020.v4i2.2888>
- Azad, M. Z., Kaviani, B., & Sedaghatthoor, S. (2024). Cold storage and cryopreservation by encapsulation-dehydration of *Cephalanthera rubra* (L.) Rich., a threatened orchid species. *Acta Agrobotanica*, 77. <https://doi.org/10.5586/aa/189312>
- Cristiano Silveira, K., Oliveira de Melo, R., Altoé Baldotto, M., & Estrela Borges Baldotto, L. (2023). Acclimatisation of orchids using plant growth-promoting bacteria and humic acids. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 98(6), 807-813. <https://doi.org/10.1080/14620316.2023.2209569>
- Bandang, F., Lestari, N. K. D., & Deswiniyanti, N. W. (2021). Efektivitas Pemberian Pupuk Organik Cair Daun Kelor Kombinasi Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Anggrek Blue Planet (*Dendrobium* sp.). *Jurnal Media Sains*, 5(1). <https://doi.org/10.36002/jms.v5i1.1489>
- Bhutia, T. L., Bhutia, N. T., Sailo, N., Rampal, ..., & Bhutia, T. C. (2023). *Ex-situ* conservation of rare and threatened orchid: *Diplomeris hirsuta* (Lindl.). *Journal of Applied Horticulture*, 25 (02), 120-122. <https://doi.org/10.37855/jah.2023.v25i02.>

21

- Díaz¹, L. P., Namur, J. J., Bollati, S. A., & Arce, O. E. A. (2010). Acclimatization of Phalaenopsis and Cattleya obtained by micropropagation. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2), 27-40.
- Erfa, L., Maulida, D., Sesanti, R. N., & Yuriansyah, Y. (2020). Keberhasilan aklimatisasi dan pembesaran bibit kompot anggrek bulan (Phalaenopsis) pada beberapa kombinasi media tanam. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 19(2), 122. <https://doi.org/10.25181/jppt.v19i2.1420>
- Freestone, M., Linde, C., Swarts, N., & Reiter, N. (2023). Asymbiotic germination of Prasophyllum (Orchidaceae) requires low mineral concentration. *Australian Journal of Botany*, 71(2), 67-78. <https://doi.org/10.1071/bt22116>
- Gontijo, J. B., Andrade, G. V. S., Baldotto, M. A., & Baldotto, L. E. B. (2018). Bioprospecting and selection of growth-promoting bacteria for Cymbidium sp. orchids. *Scientia Agricola*, 75(5), 368-374. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992X-2017-0117>
- Hadisuwito, S. (2012). *Membuat Pupuk Organik Cair*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka, hal.12-14.
- Hairuddin, R., Yamin, M., & Riadi, A. (2018). Respon pertumbuhan tanaman anggrek (dendrobium sp.) Pada beberapa konsentrasi air cucian ikan bandeng dan air cucian beras secara in vivo. *Jurnal Pertanian Berkelanjutan*, 6(2), 23-29.
- Hartati, S., Yunus, A., Cahyono, O., & Setyawan, B. A. (2019). Penerapan teknik pemupukan pada aklimatisasi anggrek hasil persilangan vanda di Kecamatan Matesih Kabupaten Karanganyar. *PRIMA: Journal of Community Empowering and Services*, 3(2), 63-70.
- Haryati, B. Z. (2018). respon anggrek hitam (Coelogyne Pandurata) hasil perbanyakan kultur jaringan terhadap berbagai media tanam. *AgroSainT*, 9(1), 25-30.
- Herrera, H., Sanhueza, T., Novotná, A., Charles, T. C., & Arriagada, C. (2020). Isolation and identification of endophytic bacteria from mycorrhizal tissues of terrestrial orchids from southern Chile. *Diversity*, 12(2), 55. [10.3390/d12020055](https://doi.org/10.3390/d12020055).
- Indriani, E., Tini, E. W., & Djatmiko, H. A. (2019). Aklimatisasi tanaman anggrek phalaenopsis pada penggunaan jenis media tanam dan konsentrasi pupuk daun yang berbeda. *Jurnal Agrin*, 23(1), 24-33.
- Izuddin, M., Yam, T. W., & Webb, E. L. (2018). Specific niche requirements drive long-term survival and growth of translocated epiphytic orchids in an urbanised tropical landscape. *Urban Ecosystems*, 21(3), 531-540. <https://doi.org/10.1007/S11252-018-0733-2>
- Janissen, B., Lawrie, A. C., & Huynh, T. (2022). Warm stratification and optimised temperatures improve conservation of the endangered orchid, *Caladenia robinsonii* (orchidaceae). *Australian Journal of Botany*, 70 (4), 275-291. <https://doi.org/10.1071/bt21085>
- Jones, J. B. (2012). *Plant Nutrition and Soil Fertility Manual*. Boca Raton: CRC Press, p: 15, 18-25, 28
- Junaedhie, K. (2014). *Membuat Anggrek Pasti Berbunga*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. Hal:59
- Júnior, D. E., Sasamori, M. H., Schmitt, J. L., & Droste, A. (2018). Survival and development of reintroduced *Cattleya intermedia* plants related to abiotic factors and herbivory at the edge and in the interior of a forest fragment in south brazil. *Acta Botanica Brasílica*, 32 (4), 555-556. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018ABB0009>
- Firgiyanto, R., & Firnawati, L. (2020). The Growth of Vanda Seedling (Vanda sanderiana) with some Types of Plant Media Acclimatization and Concentration of Humic Acid. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 411, No. 1, p. 012003). IOP Publishing.
- La Kilo, J. (2018). Analisis Tingkat Kesadahan Air Tanah Di Lingkungan Universitas Muhammadiyah Gorontalo. *Akademika*, 7(1), 22-26.
- Lesar, H., Hlebec, B., Čeranič, N., Kastelec, D., & Luthar, Z. (2012). Acclimatization of terrestrial orchid *Bletilla striata* Rchb. f.(Orchidaceae) propagated under in vitro conditions. *Acta agriculturae Slovenica*, 99(1), 69-75.
- Liu, B., Tang, L., Gao, B., Jeong, B. R., Deng, S., & Wei, H. (2021). Effects on growth and metabolism of difference between day and night temperatures (dif) and supplementation with rare earth elements (ree) in micropropagated *Dendrobium*

- aphyllum* (roxb.) c. E. Fischer. *Horticulturæ*, 7 (11), .
<https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE7110425>
- Media, M., Noli, Z. A., & Suwirnen, S. (2024). Effect of adding peptone in accelerating germination of *Grammatophyllum stapeliiflorum* j.j. Smith in vitro. *Jurnal agrotek tropika*, 12 (2), 357-357.
<https://doi.org/10.23960/jat.v12i2.6149>
- Muhit, A. (2010). Teknik penggunaan beberapa jenis media tanam alternatif dan zat pengatur tumbuh pada kompot anggrek bulan. *Buletin Teknik Pertanian*, 15(2), 60-62.
- Mullin, A., Costa, B. N. S., Downing, J., & Khoddamzadeh, A. A. (2022). Conservation horticulture: in vitro micropropagation and acclimatization of selected florida native selected orchids. *HortScience*, 57(9), 1159-1166.
<https://doi.org/10.21273/hortsci16672-22>
- Munfiah, S., Nurjazuli, N., & Setiani, O. (2013). Kualitas fisik dan kimia air sumur gali dan sumur bor di wilayah kerja Puskesmas Guntur II Kabupaten Demak. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 12(2), 154-159.
<https://doi.org/10.14710/jkli.12.2.154%20-%20159>
- Nurcahyani, N. L. S., Setiawan, I. G. A. N., Santiasa, I. A., & Si, M. (2016). Pemberian Air Cucian Beras Ir 64 Dan Air Kelapa Pada Konsentrasi Yang Berbeda Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Anggrek *Dendrobium laxiflorum*. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 3(2).
<https://doi.org/10.23887/jjpb.v3i2.8237>
- Oliveira, S. L. A. D., Silva, K. L. F., Oliveira, R. J. D., Souza, M. J. D., Oliveira, J. R. G. D., & Ferreira, W. D. M. (2021). In vitro germination, initial development and acclimatization of *Cattleya nobilior* rchb. F. (orchidaceae): An approach to curb the eventual endangerment of this exuberant, near-threatened cerrado species. *Diversitas Journal*, 6 (2), 2167-2191.
<https://doi.org/10.17648/DIVERSITAS-JOURNAL-V6I2-1592>
- Purnami, W. G., Yuswanti, N. H., & Astiningsih, M. A. (2014). Pengaruh jenis dan frekuensi penyemperotan leri terhadap pertumbuhan bibit anggrek (*Phalaenopsis* sp) pasca aklimatisasi. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 3(1), 22-31.
- Purwanto, A. W. (2016). Anggrek budidaya dan perbanyakannya. *LPPM UPN Veteran, Yogyakarta*.
- Putra, R.R., I.S. Mercuriani, & E.Semiarti. (2016). Pengaruh Cahaya dan Temperatur terhadap Pertumbuhan Tunas dan Profil Protein Tanaman *Phalaenopsis amabilis* Transgenik Pembawa Gen *Uibpro:PaFT*. *Bioeksperimen*. 2(2):79-90.
<https://journals.ums.ac.id/bioeksperimen/article/view/2483>
- Rahmawati, E., I. Raden, & Mutiah. (2017). Aklimatisasi Pertumbuhan Seedling Anggrek *Cattleya* (Orchidaceae *Cattleya* Sp) Hasil Kultur Jaringan Dengan Pemberian Pupuk Organik Cair (POC). *Magrobis Journal*, 17(2): 27-35.
- Ramos, J. C. M., Ribeiro, L. M., Nunes, G. P., Soares, J. S., Francisco, P., & Sorgato, J. C. (2024). *Cattleya walkeriana* gardner (orchidaceae) propagation: Culture medium, sealing system and irradiance. *Brazilian Journal of Biology*, 84 null, .
<https://doi.org/10.1590/1519-6984.279803>
- Reiter, N., & Menz, M. H. M. (2022). Optimising conservation translocations of threatened *Caladenia* (orchidaceae) by identifying adult microsite and germination niche. *Australian Journal of Botany*, 70 (3), 231-247.
<https://doi.org/10.1071/bt21132>
- Rineksane IA, Nafi'ah SS, & Dewi SS. (2018). The Combination of Rice Water and BAP Enhances the Multiplication of *Grammatophyllum speciosum*. *Planta Tropika: Jurnal Agrosains. Journal of Agro Science* 6: 92-99.
- Rosa-Manzano, E. D. L., Andrade, J. L., García-Mendoza, E., Zotz, G., & Reyes-García, C. (2015). Photoprotection related to xanthophyll cycle pigments in epiphytic orchids acclimated at different light microenvironments in two tropical dry forests of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Planta*, 242 (6), 1425-1438.
<https://doi.org/10.1007/S00425-015-2383-4>
- Sasamori, M. H., Júnior, D. E., & Droste, A. (2021). Optimal conditions for in vitro culture of *Cattleya cernua*, a small orchid native of atlantic forest and cerrado.
<https://doi.org/10.1590/2175-7860202172059>
- Shi, Y., Zhang, W., & Zhang, S. (2022). Biomass and active compounds accumulation of the

- medicinal orchid *Pleione bulbocodioides* in response to light intensity and irrigation frequency. *Chemistry & Biodiversity*, 19 (5), <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200056>
- Stefano, D. D., Costa, B. N. S., Downing, J. L., Fallahi, E., & Khoddamzadeh, A. A. (2022). *in vitro* micropropagation and acclimatization of an endangered native orchid using organic supplements. *American Journal of Plant Sciences*, 13 (03), 380-393. <https://doi.org/10.4236/ajps.2022.133023>
- Sudartini, T., D. Zumani, & D. Diantini. (2020). Pengaruh Sungkup Dan Jenis Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Seedling Anggrek *Dendrobium* Saat Aklimatisasi. *Media Pertanian*, 5(1): 31-43. <https://doi.org/10.37058/mp.v5i1.2136>
- Sudartini, T., F. Kurniati, & A. N. Lisnawati. (2020). Efektivitas Air Cucian Beras Dan Air Rendaman Cangkang Telur Pada Seedling Anggrek *Dendrobium*. *Jurnal Agro*, 7(1) : 85-91. <https://doi.org/10.15575/1676>
- Sugiarto, D., T. Rahayu, & A. Hayati. (2019). Pengaruh Air Leri dan Emulsi Ikan terhadap Pertumbuhan Tanaman Anggrek *Dendrobium* pada Tahap Vegetatif. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 4(2): 46-54. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v4i2.206>
- Sunarsih, L. E. (2018). *Penanggulangan Limbah*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish, hal.4.
- Sutanto, A., & Qurniani, A. (2015). Variasi dosis pupuk cair LCN (Limbah Cair Nanas) terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium* Sp untuk menyusun panduan praktikum. *Jurnal Bioedukatika*, 3(1), 1-5. <https://doi.org/10.26555/bioedukatika.v3i1.4129>
- Suzuki, R. M., Tamaki, V., Nievola, C. C., Costa, J. P., Guardia, M. C., Cachenco, M. V., Kanashiro, S., Baptista, W., Shidomi, Y., & Júnior, N. A. D. S. (2021). Prior fertilization enables higher survival of relocated terricolous orchids. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172033>
- Tini, E. W., Sulistyanto, P., & Sumartono, G. H. (2019). Aklimatisasi Anggrek (*Phalaenopsis amabilis*) dengan media tanam yang berbeda dan pemberian pupuk daun. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 10(2), 119-127. <https://doi.org/10.29244/jhi.10.2.119-127>
- Utami, E. S. W., & Hariyanto, S. (2019). In vitro seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* j.j.sm. <https://doi.org/10.1155/2019/8105138>
- Wardiah, W., Linda, L., & Rahmatan, H. (2014). Potensi limbah air cucian beras sebagai pupuk organik cair pada pertumbuhan pakchoy (*Brassica rapa* L.). *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 6(1), 34-38. <https://jurnal.usk.ac.id/JBE/article/view/2274>
- Yang, F., Yang, F., Sun, A., Zhu, J., Zhu, J., Downing, J. L., Downing, J. L., Song, X., Song, X., Liu, H., Liu, H., & Liu, H. (2017). Impacts of host trees and sowing conditions on germination success and a simple *ex-situ* approach to generate symbiotic seedlings of a rare epiphytic orchid endemic to Hainan Island, China. *Botanical Review*, 83 (1), 74-86. <https://doi.org/10.1007/S12229-017-9178-1>
- Yasmin, Z. F., Aisyah, S. I., & Sukma, D. (2018). Pembibitan (Kultur Jaringan hingga Pembesaran) Anggrek *Phalaenopsis* di Hasanudin Orchids, Jawa Timur. *Buletin Agrohorti*, 6(3), 430-439. <https://doi.org/10.29244/agrob.v6i3.21113>
- Yoon, Y. J., Mobin, M., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2009). Impact of in vitro CO₂ enrichment and sugar deprivation on acclimatory responses of *Phalaenopsis* plantlets to *ex vitro* conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3), 183-188. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.08.001>
- Zandoná, A. P., Faria, R. T. D., Lone, A. B., & Hoshino, R. T. (2014). Alternative substrates to the *Sphagnum* moss in the acclimatization of *Arundina graminifolia* “alba”(orchidaceae). *Ornamental Horticulture*, 20 (1), 7-12. <https://doi.org/10.14295/RBHO.V2011.481>