

## Optimasi Isolasi Protoplas Mesofil Daun Anggrek *Paraphalaenopsis laycockii*

EDY SETITI WIDA UTAMI \*) DAN SUCIPTO HARIYANTO

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga  
Kampus C UNAIR, Mulyorejo, Surabaya. 60115

\*) Email : edysetiti@yahoo.com

### ABSTRACTS

**Optimalization protoplast isolation of the leaves mesophyll orchid *Paraphalaenopsis laycockii*.** The objectives of the research was to investigate the effect of combination treatment of sucrose concentrations and incubation time on protoplast isolation of the leaves mesophyll orchid of *Paraphalaenopsis laycockii*. The factorial experiment consisted of two factors that was arranged by completely randomized design (CRD) with ten replications. The first factor was concentrations of sucrose which consists of three levels namely 0.4 M, 0.5 M and 0.6 M. The second factor was incubation time which consists of four levels namely 2 hours, 4 hours, 6 hours and 8 hours. Data were analyzed using Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney test. The results showed that there was effect of treatment for all variables observed. The highest protoplast density and number of viable protoplasts achieved in the combined treatment of 0.6 M sucrose and 4 hours of incubation time.

---

*Keywords: protoplast isolation, leaves mesophyll, Paraphalaenopsis laycockii*

### PENDAHULUAN

Anggrek komersial yang dikembangkan saat ini pada umumnya merupakan tanaman hibrida hasil persilangan konvensional (Nurmalinda *et al.*, 2011). Hibrida anggrek memiliki warna bunga dan pola warna yang bervariasi yang sangat penting untuk industri bunga potong. Meskipun telah sukses menghasilkan anggrek hibrida interspesifik, namun aplikasi teknik hibridisasi konvensional untuk menghasilkan hibrida anggrek intergenerik masih sulit. Hibridisasi somatik melalui fusi protoplas memungkinkan dihasilkannya anggrek hibrida intergenerik yang secara seksual tidak kompatibel (Davey *et al.*, 2005). Peningkatan kualitas anggrek yang diperoleh melalui fusi protoplas sangat

penting dalam program pemuliaan untuk mengembangkan kultivar baru (Trigiano and Gray, 2000).

Untuk mendapatkan protoplas sebagai bahan fusi diperlukan protokol yang efisien pada isolasi protoplas (Kanchanapoom *et al.*, 2001). Keberhasilan isolasi protoplas dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor dimaksud adalah umur dan jenis eksplan, komposisi dan konsentrasi enzim, waktu inkubasi eksplan dalam larutan enzim, jenis dan konsentrasi osmotikum (Rao *et al.*, 1995). Zat yang digunakan sebagai osmotikum pada saat isolasi protoplas adalah sorbitol, manitol, glukosa dan sukrosa (Bhojwani and Razdan, 1983). Khentry *et al* (2006) melaporkan bahwa manitol 0,3 M adalah paling efektif sebagai osmotikum