



TUGAS AKHIR - SB091358

**PENGARUH KONSENTRASI ZAT PENGATUR  
TUMBUH NAA DAN BAP TERHADAP  
PERTUMBUHAN BIJI *Dendrobium capra* J.J.  
Smith SECARA *IN VITRO***

LIZA FEBBY KURNIANTI  
NRP. 1507 100 012

Dosen Pembimbing  
Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si  
Siti Nurfadilah, S.Si., M. Sc.

JURUSAN BIOLOGI  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya  
2012



FINAL PROJECT - SB091358

**THE EFFECT PLANT GROWTH REGULATOR  
NAA AND BAP CONCENTRATION AT THE  
GROWTH OF SEEDS OF *Dendrobium capra*  
J.J. Smith *IN VITRO***

LIZA FEBBY KURNIANTI  
NRP. 1507 100 012

Advisor Lecture  
Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si.  
Siti Nurfadilah, S.Si., M.Sc.

BIOLOGY DEPARTMENT  
Faculty Mathematics And Natural Science  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya  
2012

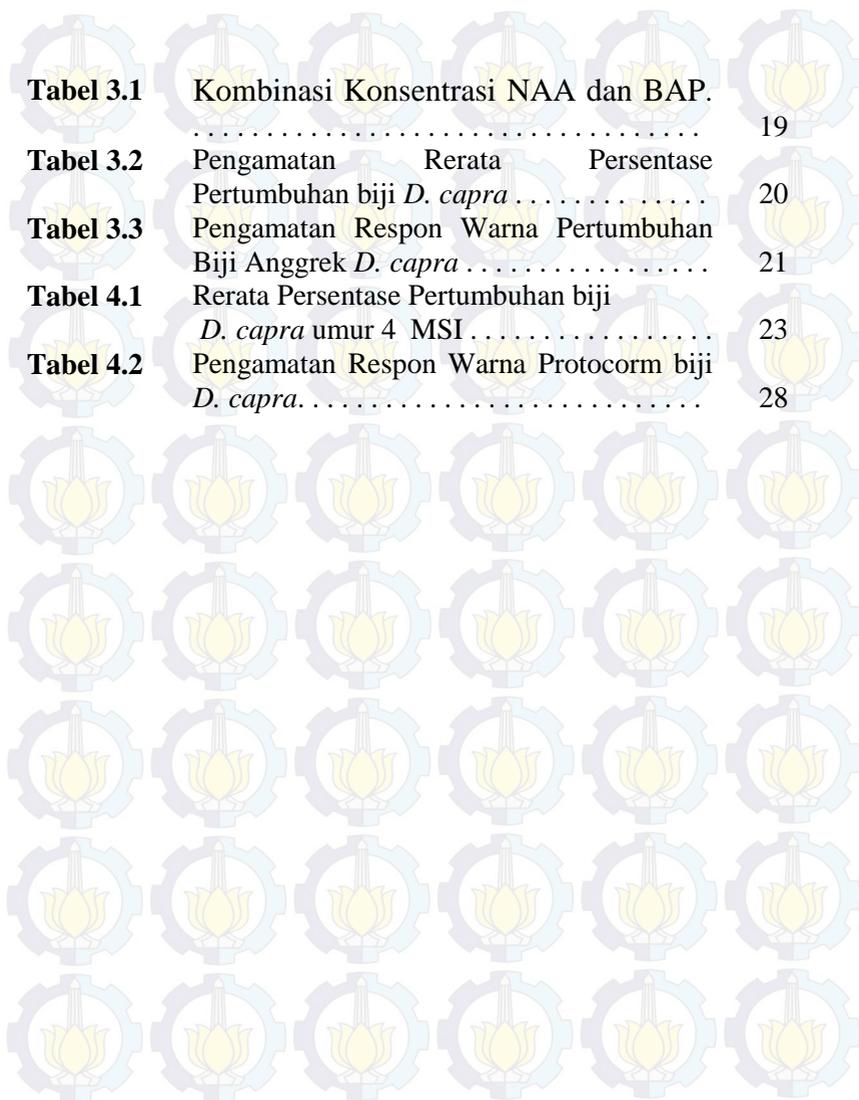
## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pengesahan .....	i
Abstrak .....	ii
<i>Abstract</i> .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
Daftar Isi .....	vi
Daftar Tabel .....	viii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Lampiran .....	x
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Dendrobium capra</i> J.J. Smith. ....	7
2.2 Perbanyak Tanaman Anggrek .....	9
2.3 Zat Pengatur Tambah .....	11
<b>BAB III. METODOLOGI</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	15
3.2.1. Alat .....	15
3.2.2. Bahan .....	15
3.3. Cara Kerja .....	15
3.3.1. Sterilisasi Alat .....	15
3.3.2. Pembuatan Media Kultur .....	16
a. Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP .....	16

b. Pembuatan Larutan Stok Mikro . . . . .	16
c. Pembuatan Larutan Stok FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O dan Na <sub>2</sub> EDTA . . . . .	17
d. Pembuatan Media Kultur . . . . .	17
3.3.3. Sterilisasi Ruang Inokulasi (Laminar Air Flow) . . . . .	18
3.3.4. Prosedur Sterilisasi Biji Anggrek Dendrobium capra J.J. Smith . . . . .	18
3.3.5. Prosedur Inokulasi Biji Dendrobium capra J.J. Smith pada Petri Dish . . . . .	18
3.4. Rancangan Penelitian dan Hipotesis . . . . .	19
3.4.1. Rancangan Penelitian . . . . .	19
3.4.2. Uji Kuantitatif . . . . .	19
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Persentase pertumbuhan biji <i>D. capra</i> . . . . .	23
4.2 Respon Warna . . . . .	28
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan . . . . .	31
5.2 Saran . . . . .	31
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> . . . . .	33
<b>LAMPIRAN</b> . . . . .	41

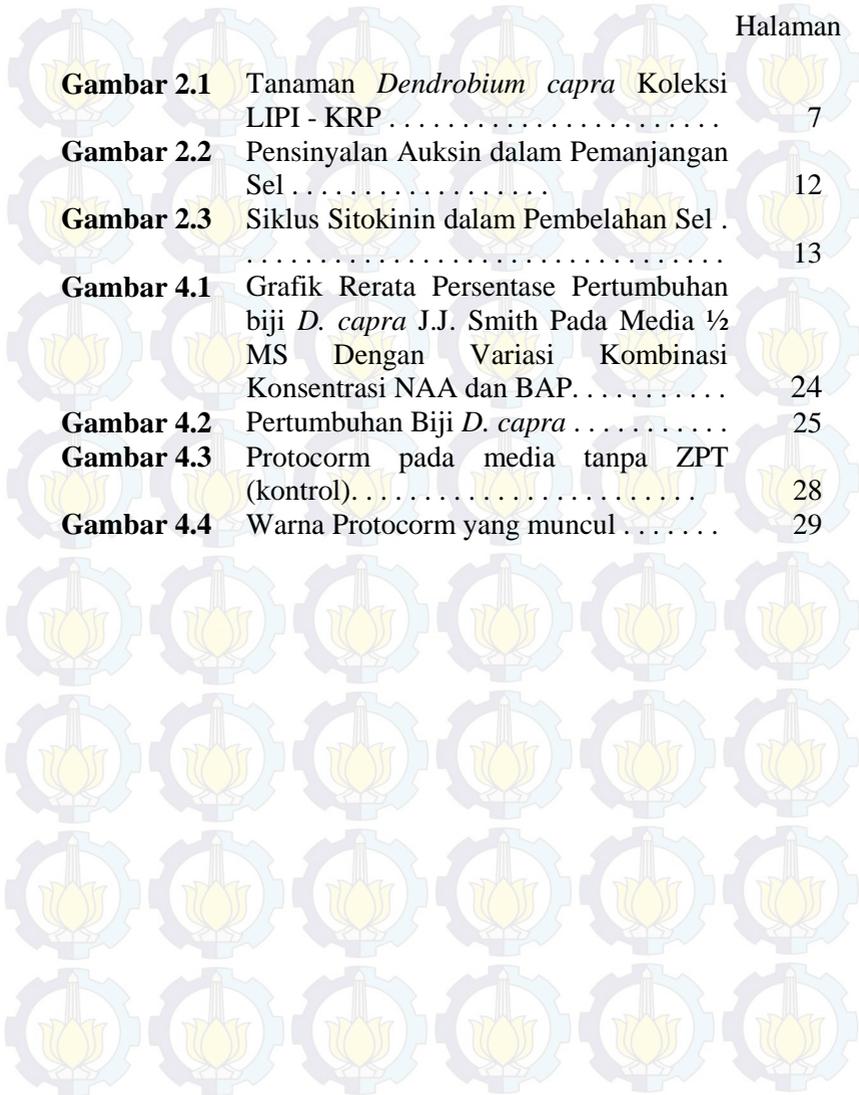
## DAFTAR TABEL

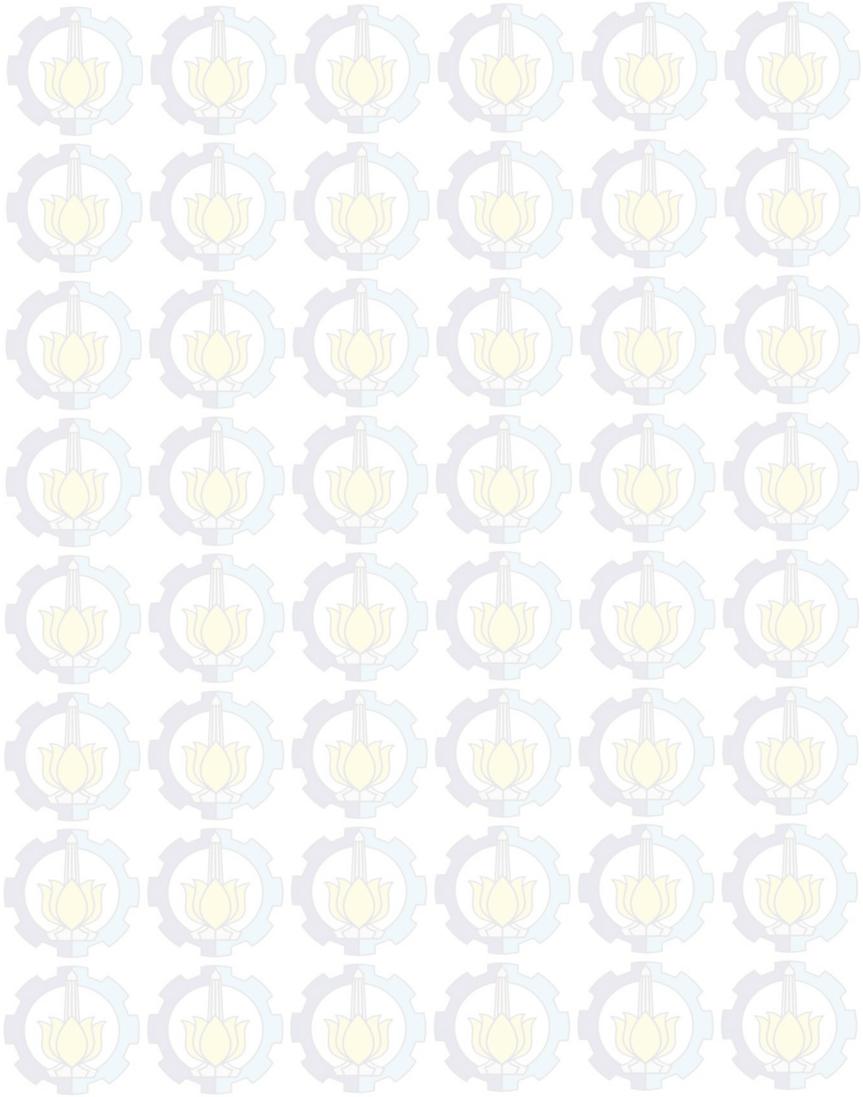
<b>Tabel 3.1</b>	Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP. .....	19
<b>Tabel 3.2</b>	Pengamatan Rerata Persentase Pertumbuhan biji <i>D. capra</i> .....	20
<b>Tabel 3.3</b>	Pengamatan Respon Warna Pertumbuhan Biji Anggrek <i>D. capra</i> .....	21
<b>Tabel 4.1</b>	Rerata Persentase Pertumbuhan biji <i>D. capra</i> umur 4 MSI .....	23
<b>Tabel 4.2</b>	Pengamatan Respon Warna Protocorm biji <i>D. capra</i> .....	28



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1</b> Tanaman <i>Dendrobium capra</i> Koleksi LIPI - KRP .....	7
<b>Gambar 2.2</b> Pensinyalan Auksin dalam Pemanjangan Sel .....	12
<b>Gambar 2.3</b> Siklus Sitokinin dalam Pembelahan Sel .....	13
<b>Gambar 4.1</b> Grafik Rerata Persentase Pertumbuhan biji <i>D. capra</i> J.J. Smith Pada Media ½ MS Dengan Variasi Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP. ....	24
<b>Gambar 4.2</b> Pertumbuhan Biji <i>D. capra</i> .....	25
<b>Gambar 4.3</b> Protocorm pada media tanpa ZPT (kontrol).....	28
<b>Gambar 4.4</b> Warna Protocorm yang muncul .....	29





## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1</b>	Skema Medium Dasar Murashige And Skoog . . . . . 41
<b>Lampiran 2</b>	Sterilisasi Alat . . . . . 43
<b>Lampiran 3</b>	Pembuatan Larutan Stok . . . . . 44
<b>Lampiran 4</b>	Sterilisasi Ruang Inokulasi . . . . . 48
<b>Lampiran 5</b>	Prosedur Sterilisasi Biji Anggrek <i>D. capra</i> . . . . . 49
<b>Lampiran 6</b>	Prosedur Inokulasi Biji Anggrek <i>D. capra</i> Pada Petri Dish . . . . . 50
<b>Lampiran 7</b>	Proses Pengamatan Persentase Pertumbuhan Biji Anggrek <i>D. capra</i> . . . . . 52
<b>Lampiran 8</b>	Data Hasil Pengamatan Persentase Pertumbuhan Biji Anggrek <i>D. capra</i> . . . . . 61
<b>Lampiran 9</b>	Hasil Analisis SPSS 16 . . . . . 62

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT, berkat karunia, izin, dan pertolonganNya penyusun dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh NAA Dan BAP Terhadap Pertumbuhan Biji *Dendrobium capra* J.J. Smith secara *in vitro*" digunakan untuk memenuhi syarat akademis yang harus ditempuh di Jurusan Biologi FMIPA-ITS.

Dalam penyusunan penelitian ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si. dan Ibu Siti Nurfadilah, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing tugas akhir. Ibu Indah Trisnawati D.T. M.Si., Ph.D., Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si. dan Bapak Mukhammad Muryono S.Si., M.Si. selaku dosen penguji tugas akhir terima kasih atas arahan dan masukannya dalam pelaksanaan penelitian. Bapak Mukhammad Muryono S.Si., M.Si. selaku koordinator tugas akhir. Ibu Dr. rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si. selaku Ketua Program Studi Biologi beserta jajaran birokrasinya. Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si yang telah membimbing dalam menyelesaikan Proposal dan Pelaksanaan Tugas Akhir. Segenap Bapak dan Ibu dosen pengajar dan staf di Program Studi Biologi ITS.

Kedua orangtua penulis yang selalu memberikan doa, dukungan, dan nasehat kepada penulis serta kepada Mas Andy dan adik Rizal, adik Retno dan adik Ardi serta adik Oktavia.

Proyek LIPI – Kebun Raya Purwodadi "Penyelamatan Anggrek Prioritas Konservasi Dataran Rendah Submontana" atas pendanaan kegiatan penelitian ini. Saudara Israizal Faris A. yang telah memperkenalkan saya dengan orang Kultur Jaringan LIPI-KRP Purwodadi. Mas Destario Metusalae yang memberikan arahan mengenai bahan eksplan penelitian saya. Mbak Farida Maze dan Bapak Arik Firmansyah sekeluarga yang menyediakan anggrek *D.capra* untuk penelitian saya. Saudari Aisyah, Nuraini, Dana dan Lusia yang selalu bersama-sama ke LIPI-Purwodadi.

Mbak Indah, Bapak Sanusi, saudara Peni yang telah membantu saya selama melakukan penelitian di LIPI-KRP Purwodadi. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu penyusun dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penghuni GW saudara Efi, Resky, Eki, Senja, Amel, Diah Sundari dan Dewi yang mendukung dalam penyelesaian tugas akhir. Saudara dan saudara mahasiswa Biologi ITS angkatan 2007 atas bantuan, dukungan, dan informasinya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tugas akhir ini terdapat banyak kekurangan sehingga penulis mengharapkan adanya kritik dan saran membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan kontribusi ilmu pengetahuan, khususnya bagi para pembaca.

Surabaya, 01 Februari 2012

Penyusun

**PENGARUH KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH  
NAA DAN BAP TERHADAP PERTUMBUHAN BIJI  
*Dendrobium capra* J.J. Smith SECARA *IN VITRO***

**Nama** : Liza Febby Kurnianti  
**NRP** : 1507100012  
**Jurusan** : Biologi – FMIPA ITS  
**Dosen Pembimbing** : Tutik Nurhidayati, S.Si, M.Si  
Siti Nurfadilah, S.Si., M.Sc.

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh kombinasi konsentrasi NAA dan BAP serta untuk mengetahui berapa konsentrasi NAA dan BAP yang optimal terhadap pertumbuhan biji anggrek *D. capra*. Biji anggrek *D. capra* ditanam pada medium  $\frac{1}{2}$  MS dengan kombinasi perlakuan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) NAA (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/L) dan BAP (0,1; 0,3; 0,5 mg/L), dan perlakuan tanpa ZPT juga disertakan sebagai kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase pertumbuhan biji *D. capra* berkisar 3.75% - 18.79%. Persentase pertumbuhan biji pada perlakuan tanpa ZPT (kontrol) lebih rendah (3.75%) dibandingkan dengan perlakuan dengan penambahan ZPT dengan persentase pertumbuhan biji tertinggi pada perlakuan 0,4 NAA dan 0,1 BAP yaitu 18.79%. Namun, uji anova menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan biji *D. capra*. Penelitian ini diharapkan dapat mendukung program perbanyakan anggrek langka yang efektif dan efisien untuk mendukung program konservasi anggrek langka khususnya *D. capra*.

Kata kunci : NAA, BAP, protocorm, persentase pertumbuhan biji, *Dendrobium capra* dan konservasi.

**THE EFFECT PLANT GROWTH REGULATOR NAA AND  
BAP CONCENTRATION AT THE GROWTH OF SEEDS  
OF *Dendrobium capra* J.J. Smith *IN VITRO***

**Name** : Liza Febby Kurnianti  
**NRP** : 1507100012  
**Departement** : Biology – FMIPA ITS  
**Advisor Lecturer** : Tutik Nurhidayati, S.Si, M.Si  
Siti Nurfadilah, S.Si., M.Sc.

***Abstract***

*The aim of this research was to research to investigate the effect of the combination of concentrations NAA and BAP on the percentage of seed germination of Dendrobium capra J. J. Smith. The seeds were sown on ½ MS medium with treatments of combination of plant growth regulators (PGR) NAA (0.1: 0.2: 0.3: 0.4, 0.5 mg/L) and BAP (0.1; 0.3, 0.5 mg/L), a treatment without PGR was also included as a control. The results showed that the percentage of seed germination ranges from 3.75% - 18.79%. The percentage of seed germination on the treatment without PGRs was lower (3.75%) than those on the treatment with the addition of PGRs, with the highest percentage of seed germination (18.79%) was on the treatment 0,4 mg/L NAA dan 0,1mg/L BAP was 18.79%. ANOVA test showed that the combination concentrations of PGR of NAA and BAP did not significantly affect the percentage of seed germination D. capra.*

*Key words: NAA, BAP, protocorm, persentase growing of seed, Dendrobium capra and conservation.*

## HALAMAN PENGESAHAN

### PENGARUH KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH NAA DAN BAP TERHADAP PERTUMBUHAN BIJI *Dendrobium capra* J.J. Smith SECARA *IN VITRO*

#### TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Pada

Jurusan S-1 Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**LIZA FEBBY KURNIANTI**  
NRP. 1507 100 012

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:

1. Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si. .... (Pembimbing 1)
2. Siti Nurfadilah, S.Si, M.Sc. .... (Pembimbing 2)

Surabaya, 01 Februari 2012

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi FMIPA ITS

Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si.  
NIP. 19690408 199203 2 001

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Anggrek merupakan tanaman hias yang mempunyai nilai estetika tinggi. Bentuk dan warna bunga anggrek serta karakteristik lainnya yang unik menjadi daya tarik tersendiri sehingga banyak orang tertarik untuk mengkolleksi anggrek sebagai tanaman hias (Yulia dan Ruseani, 2008). Menurut Comber (1990) keanekaragaman anggrek di Pulau Jawa tercatat sebanyak 1.327 jenis. Dari jumlah yang dilaporkan, 642 jenis tumbuh di Jawa Barat, 295 jenis tumbuh di Jawa Tengah dan 390 jenis tumbuh di Jawa Timur. Salah satu jenis anggrek di Jawa Timur adalah *Dendrobium capra* J.J. Smith. Berdasarkan laporan Comber (1990) keberadaan *D. capra* J.J. Smith di Jawa Timur ditemukan di kaki gunung Penanggungan, Pandaan dan di Gunung Lamongan Kraksaan, Probolinggo.

Tingkat permintaan berbagai jenis anggrek alam sangat tinggi sehingga banyak kolektor dan pebisnis tanaman hias melakukan eksploitasi anggrek alam langsung dari habitat aslinya secara besar-besaran tanpa memikirkan kelangsungan hidup pada habitat aslinya. Selain itu, kerusakan hutan di Indonesia yang sampai saat ini masih banyak terjadi, akan mengancam kelestarian anggrek alam yang ada. Kondisi tersebut bila dibiarkan terus, maka tidak mustahil anggrek alam Indonesia lambat laun akan punah. Hal ini juga dipertegas oleh Cribb (2003) dalam Hendriyani (2007) bahwa tingkat kepunahan anggrek semakin cepat dengan terjadinya kerusakan habitat, penurunan kualitas lingkungan dan perubahan fungsi alam.

Berdasarkan daftar CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) Apendiks II dan hasil workshop di Kebun Raya Bogor pada tanggal 2-3 juni 2009 (Risna et al, 2010), *D. capra* merupakan salah satu jenis anggrek yang masuk dalam daftar jenis tanaman anggrek langka

yang mendapatkan prioritas konservasi berdasarkan tingkat keterancamannya di alam.

Upaya konservasi perlu dilakukan untuk menyelamatkan anggrek langka ini dari kepunahan. Salah satu upaya konservasi anggrek ini adalah dengan propagasi anggrek melalui kultur biji secara *in vitro*. Mengingat satu kapsul buah anggrek mengandung jutaan biji (Dutta S., et al, 2011), dimana ukuran biji yang sangat kecil dan ringan atau yang dikenal dengan sebutan “Dust Seed” tidak memiliki endosperm (cadangan makanan), maka untuk pertumbuhannya dibutuhkan nutrisi tambahan (Amilah dan Yuni, 2006) melalui media kultur. Kultur biji merupakan salah satu aplikasi yang sering digunakan untuk konservasi anggrek langka dan taksa punah (Pedroza-Manrique et al., 2005; Stewart and Kane, 2006; Deb and Temjensangba, 2006). Dalam perbanyakan anggrek secara *in vitro*, biji anggrek ditabur pada media agar yang mengandung nutrisi dalam kondisi aseptis. Biji yang ditabur akan mengalami pertumbuhan berupa pembentukan protocorm. Protocorm merupakan fase antara biji menjadi planlet. Berdasarkan Nurfadilah (2011) pada *Dendrobium spectabile* biji yang membentuk protocorm akan terus tumbuh dengan perkembangan awal yaitu pembentukan primordia daun. Primordia daun merupakan calon daun dari protocorm tersebut. Setelah daun terbentuk dilanjutkan pada fase munculnya primordia akar. Setelah daun dan akar terbentuk lengkap maka struktur biji berubah menjadi planlet yang siap dipindah ke lapangan.

Kultur biji secara *in vitro* telah dilakukan pada beberapa spesies anggrek pada beberapa jenis media dengan garam mineral dan zat pengatur tumbuh untuk perkecambahan dan propagasi (Arditti and Ernst, 1993). Beberapa jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) memiliki peranan penting untuk meningkatkan perkecambahan dan pertumbuhan biji anggrek (Bey, 2006). Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat serta dapat merubah proses fisiologi tumbuhan (Hendaryani dan

Wijayani (1994) dalam Andaryani (2010)). Dalam kultur biji, dua golongan ZPT yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Auksin berpengaruh terhadap metabolisme asam nukleat dan dapat meningkatkan sintesis protein yang penting dalam mendukung pertumbuhan embrio biji menjadi plantlet (Wareing and Phillips, 1978, Pedroza-Manrique and Mican-Gutierrez, 2006). Selain itu, menurut Heddy (1996) dalam Miryam et al (2008) auksin juga mampu merangsang proses pemanjangan sel pada tanaman. Sitokinin berperan dalam menstimulasi sintesis asam nukleat dan protein, juga diduga berperan sebagai regulator aktivitas enzim yang esensial dalam metabolisme pertumbuhan dan meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman (Wareing and Phillips, 1978; Zulkarnain, 2009).

Salah satu jenis auksin adalah NAA dan jenis dari sitokinin adalah BAP. Menurut Astuti dan Andayani (2005) dalam Sugiyanti (2008) NAA merupakan zat pengatur tumbuh golongan auksin yang tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan oleh sel atau saat proses sterilisasi melalui pemanasan, sedangkan BAP menurut George dan Sherrington (1984) dalam Andaryani (2010) adalah golongan hormon sitokinin hasil sintetik yang aktif dan daya rangsangannya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh tanaman. NAA dan BAP merupakan jenis golongan ZPT yang sering digunakan dalam kultur biji dan kultur jaringan.

Beberapa penelitian menunjukkan penggunaan kombinasi NAA dan BAP dapat meningkatkan perkecambahan biji anggrek. Luan V.Q., et al (2006) melaporkan bahwa penggunaan kombinasi NAA 1 mg.L<sup>-1</sup> dan BAP 0,5 mg.L<sup>-1</sup> baik untuk perkecambahan *Dendrobium* sp. secara in vitro . Roy A.R., et al, 2011 juga menunjukkan bahwa kombinasi NAA 5,36μM dan 3,80μM pada spesies *Vanda coerulea* yang ditanam pada medium Phytamax dapat menginduksi plb (protocorm-like bodies) paling tinggi. Shin et al. (2011) juga melaporkan bahwa penambahan 0,1 mg l<sup>-1</sup> NAA atau 0,5 mg l<sup>-1</sup> BA dalam perlakuan pemberian 0,1

g/L arang terbukti efektif untuk meningkatkan tingkat perkecambahan biji *Calanthe hybrid*.

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian mengenai pengaruh kombinasi konsentrasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* secara *in vitro* untuk mendukung upaya perbanyakan *D. capra* yang efektif dan efisien. Pada penelitian ini penggunaan kombinasi NAA dan BAP dengan beragam konsentrasi diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan biji *D. capra* secara *in vitro*.

## **1.2 Permasalahan**

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini mengangkat permasalahan sebagai berikut:

- bagaimana pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith secara *in vitro*?
- berapa kombinasi konsentrasi NAA dan BAP yang efektif untuk pertumbuhan biji anggrek *D. capra* J.J. Smith secara *in vitro*?

## **1.3 Batasan Masalah**

Penelitian ini dibatasi pada formulasi kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/L) dan BAP (0,1; 0,3; 0,5mg/L) dengan parameter yang diamati adalah persentase pertumbuhan biji menjadi protocorm dan respon warna protocorm yang dominan pada anggrek *D. capra*.

## **1.4 Tujuan**

Penelitian ini dilakukan untuk :

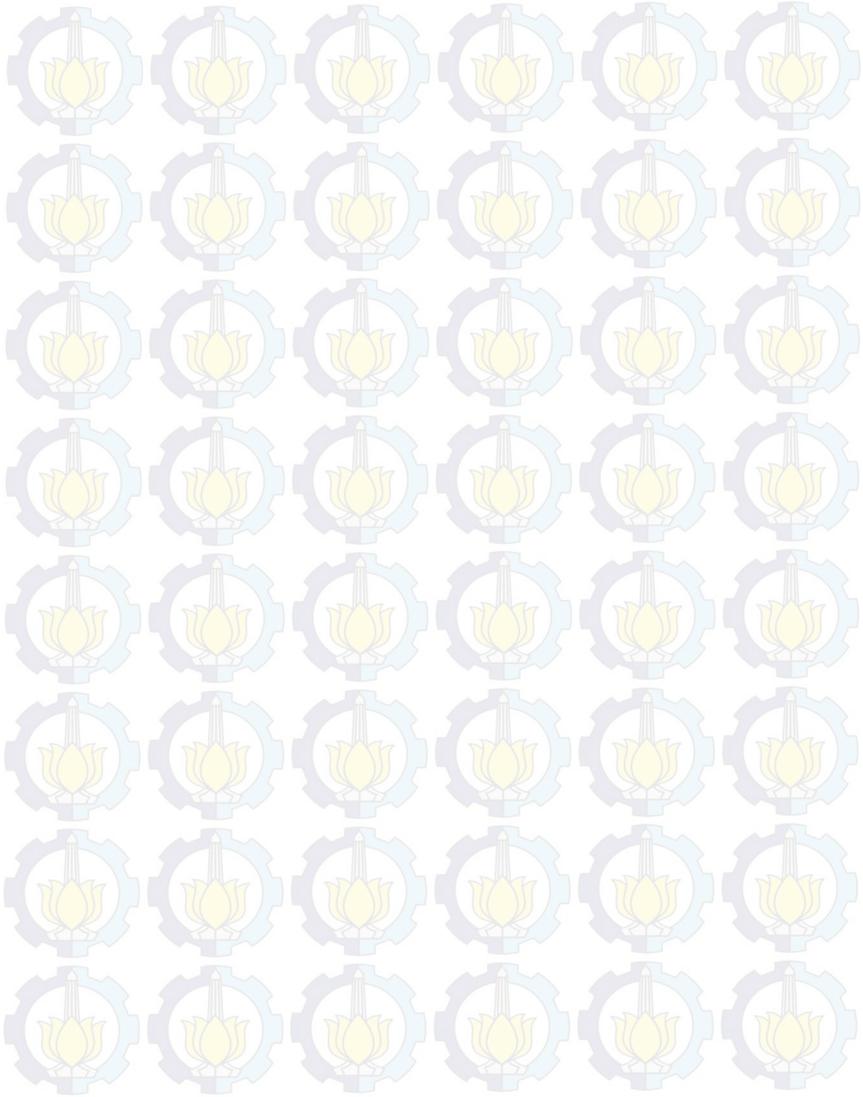
- mengetahui pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* secara *in vitro*
- mengetahui berapa kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang efektif untuk pertumbuhan biji anggrek *D. capra* secara *in vitro*.

### 1.5 Manfaat

Adapun hasil penelitian ini diharapkan sebagai berikut:

- 1) Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji D. capra secara in vitro.
- 2) Memberikan informasi kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang efektif terhadap pertumbuhan biji D. capra.
- 3) Informasi tentang kultur biji D. capra secara in vitro yang efektif dan efisien sangat penting untuk mendukung program konservasi anggrek langka khususnya D. capra.

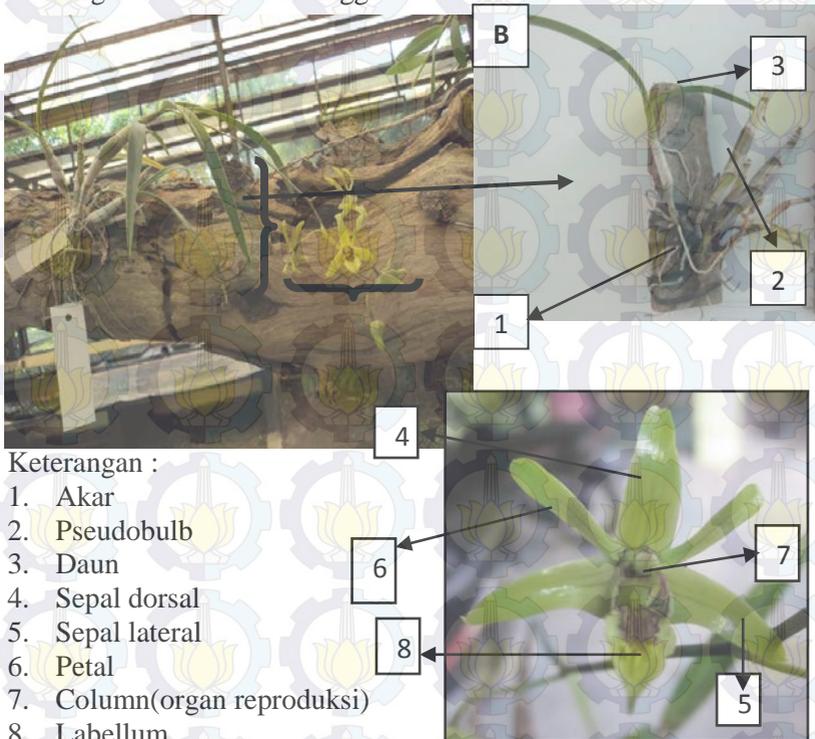
*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Dendrobium capra* J.J. Smith

*Dendrobium capra* J.J. Smith atau anggrek larat hijau merupakan anggrek epifit dataran rendah yang pertumbuhannya relatif lambat, tetapi memiliki kemampuan membentuk tunas dengan normal relatif tinggi.



**Gambar 2.1** Tanaman *Dendrobium capra* koleksi LIPI-KRP Purwodadi (Dokumen Siti Nurfadilah (A) dan Dokumentasi Pribadi(B dan C))

Berikut klasifikasi *D. capra* berdasarkan Comber (1990):

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Orchidales
Familia	: Orchidaceae
Genus	: <i>Dendrobium</i>
Spesies	: <i>D. capra</i> J.J. Smith

Anggrek ini tumbuh tegak dengan panjang batang sampai 40 cm. Diameter batang akan mengecil pada bagian pangkal dekat akar dan tampak menggebul pada bagian tengah batang. Daun kaku berdaging, berwarna hijau kusam, berbentuk bundar telur memanjang dengan ujung runcing dan bercuping dua di bagian ujung daun. Daun tersebut tersebar hanya di bagian atas batang. Panjang daun antara 7,5-15 cm dengan lebar 1,5-2 cm.

Tangkai perbungaan muncul dari batang bagian ujung, panjangnya mencapai 30 cm, menyangga 4-15 kuntum bunga. Bunga berbentuk bintang dengan diameter 2,5-3 cm, berwarna hijau muda kekuningan dengan garis ungu di bagian labellum. Sepal dan petal memiliki tekstur tebal mengkilap. Sepal bundar telur memanjang, dengan ujung tumpul. Petal berbentuk sudip, ujung runcing dan tidak berpilin. Labellum bercuping tiga melengkung keluar (Comber, 1990; Irawati, 2001 dalam Yulia dan Ruseani (2008)). Menurut Irawati (2001) dalam Yulia dan Ruseani (2008) jenis ini tidak hanya merupakan jenis anggrek yang memiliki bunga indah, tetapi sangat berpotensi sebagai induk silangan karena bunga memiliki warna hijau, helai petal tebal dan berkilap.

Anggrek *D. capra* memiliki persebaran terbatas. Di Jawa hanya terdapat di hutan jati dataran rendah di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Comber (1990) melaporkan keberadaan anggrek ini di Jawa Timur yaitu di hutan jati di kaki gunung Penanggungan, Pandaan dan di gunung Lamongan-Kraksaan Probolinggo.

Anggrek ini hidup di dataran rendah dengan kisaran suhu harian 30- 33°C dan kelembaban udara 40-60% (Yulia dan Ruseani, 2008).

Berdasarkan daftar spesies prioritas konservasi hasil workshop di Kebun Raya Bogor pada tanggal 2-3 juni 2009 (Risna et al, 2010) *D. capra* merupakan jenis anggrek alam asli Indonesia yang terancam punah. Anggrek ini juga termasuk dalam daftar CITES appendix II (CHECKLIST CITES II). Terancamnya jenis anggrek ini disebabkan kolektor-kolektor dan pebisnis tanaman hias banyak yang melakukan pengambilan anggrek alam langsung dari habitat aslinya. Selain itu kerusakan habitat karena pembakaran hutan, penebangan liar, bencana alam dan alih fungsi hutan menjadi pemukiman juga mendorong kepunahan anggrek alam (Yulia dan Ruseani, 2008).

Salah satu upaya konservasi *D. capra* yaitu dengan teknik perbanyakan. Dari hasil perbanyakan ini dapat diperoleh bibit dalam skala besar yang nantinya bisa dikembalikan ke habitat aslinya mengingat populasi anggrek di alam yang terus menurun seiring dengan tingginya tingkat degradasi hutan. Selain itu, pertumbuhan populasi anggrek di alam juga sangat rendah, hanya sekitar 2-5% dari jutaan biji setiap kapsul yang mampu tumbuh (Dutta S., et al, 2011). Perbanyakan tanaman anggrek diharapkan dapat membantu meningkatkan populasi angrek di alam dan dapat mengurangi risiko kepunahan.

## **2.2 Perbanyakan Tanaman Anggrek**

Perbanyakan tanaman anggrek dapat dilakukan pada bagian vegetatif maupun generatif. baik secara konvensional maupun modern. Perbanyakan menggunakan bagian vegetatif yaitu menggunakan organ bulb dan tunas. Perbanyakan tanaman secara konvensional pada bagian vegetatif yaitu setek bulb dan setek tunas. Perbanyakan anggrek secara konvensional dinilai kurang menguntungkan sebab menghasilkan sedikit bibit anggrek baru dan membutuhkan waktu yang lama (Hendaryono, 2000).

Perbanyakan vegetatif anggrek secara modern sering dilakukan dengan menggunakan teknik kultur jaringan dengan menggunakan eksplan daun dan tunas yang ditanam pada media agar dalam kondisi aseptis. Perbanyakan anggrek secara generatif dengan menggunakan biji anggrek sering dilakukan dan dinilai sangat menguntungkan karena 1 buah anggrek mengandung ratusan hingga ribuan biji anggrek yang berpotensi untuk tumbuh menjadi ratusan hingga ribuan bibit anggrek.

Perbanyakan tanaman melalui teknik modern yaitu dengan kultur jaringan. Menurut Soeryowinoto (1991) dalam Hendaryono (1994), kultur jaringan dalam bahasa asing disebut sebagai tissue culture, weefsel cultuus atau gewebe kultur. Kultur jaringan dapat dilakukan dengan kultur biji, kultur plb dan kultur meristem bulb, daun dan calon bunga (Hendaryono, 2000).

Secara anatomis biji anggrek terdiri dari embrio dan kulit biji (testa) dan tidak memiliki endosperm (cadangan makanan), sehingga diperlukan nutrisi eksternal untuk mensuplai pertumbuhan biji anggrek. Di alam, anggrek bersimbiosis dengan jamur mikoriza sebagai pensuplai nutrisi yang sangat penting bagi pertumbuhan biji anggrek dan perkembangannya menjadi seedling. Perkecambahan biji anggrek di alam hanya terjadi setelah biji anggrek diinfeksi dengan jamur mikoriza yang mensuplai nutrisi untuk pertumbuhan biji anggrek (Bhadra dan Hossain, 2003). Manipulasi di laboratorium dengan menanam biji anggrek pada media yang kaya akan nutrisi dalam kondisi aseptis (kultur biji) terbukti juga mampu menginduksi pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek menjadi seedling.

Pada kultur biji anggrek, biji yang ditabur harus diambil dari buah anggrek yang telah masak. Biji yang ditabur selanjutnya akan tumbuh (berkecambah) membentuk bulatan kecil yang berwarna hijau (protocorm) setelah berumur 1 minggu (Dutra et al, 2008), 2 – 3 bulan kemudian akan tumbuh plantlet-plantlet yang sangat kecil (Sriyanti, 2000 dalam Amilah dan Yuni, 2006).

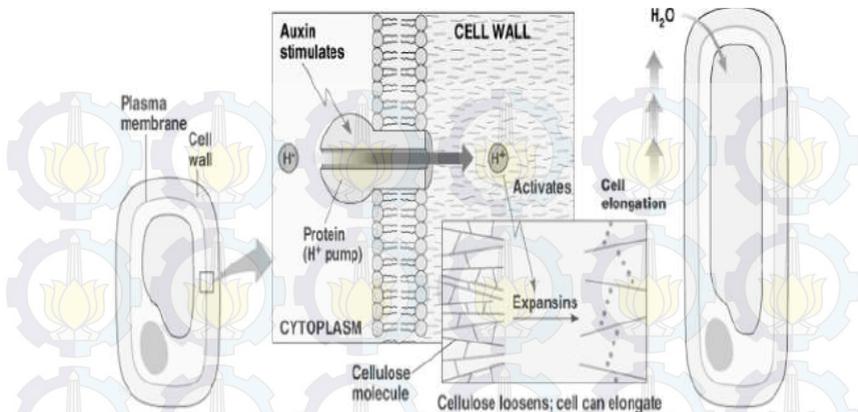
Beberapa penelitian kultur biji pada tanaman anggrek untuk tujuan perbanyakan tanaman telah dilakukan, diantaranya

adalah pada anggrek Vanda, Phalaenopsis, Disa dan Dendrobium (Roy et al, 2011; Thompson, 2006 Luan et al, 2006). Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan biji anggrek dalam kultur biji adalah kombinasi zat pengatur tumbuh (NAA dan BAP). Berdasarkan penelitian Yuliarti (2008), pemberian zat pengatur tumbuh BA 1 ppm + NAA 0,5 ppm memberikan respon terbaik selama 6 minggu kultur, yaitu meningkatkan jumlah dan berat basah protocorm secara signifikan. Pada spesies Vanda coerulea yang ditanam pada medium Phytamax dengan kombinasi NAA 5,36 $\mu$ M dan 3,80 $\mu$ M menginduksi plb paling tinggi, (Roy et al, 2011).

### **2.3 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Zat pengatur tumbuh dapat dibagi menjadi beberapa golongan yaitu golongan auksin, sitokinin, giberelin dan inhibitor. Zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin adalah IAA, IBA, NAA dan 2,4 D sedangkan golongan sitokinin adalah kinetin, zeatin, ribosil dan Benzil aminopurine (BAP) (Hendaryono dan Wijayani 1994).

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur biji dan kultur jaringan adalah golongan auksin dan sitokinin (Andaryani, 2010). Zat pengatur tumbuh golongan auksin yang sering dipakai adalah NAA (Naftalen acetic acid). NAA bersifat lebih stabil daripada IAA, karena tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau rusak akibat pemanasan pada proses sterilisasi (Wetter dan Constabel (1991) dalam Sugiyanti (2008)). Auksin mempengaruhi protein membran sehingga sintesis protein dan asam nukleat dapat lebih cepat. Protein membran yang dipengaruhi adalah protein membran nukleus (Suratiningsih dan Slamet (2008). Berikut mekanisme kerja auksin dalam proses pemanjangan sel.

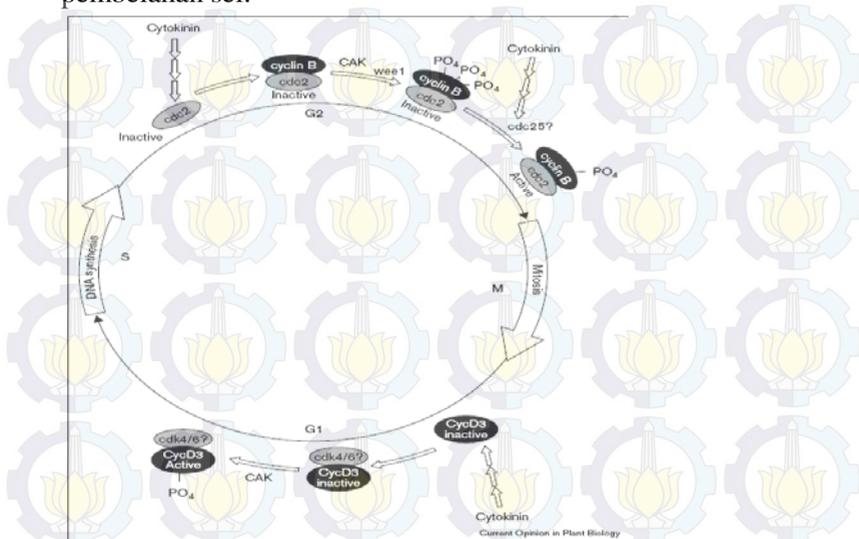


**Gambar 2.2** Pensinyalan auksin dalam pemanjangan sel

Pada pertumbuhan jaringan, auksin mempengaruhi dengan cara menginduksi sekresi ion H<sup>+</sup> keluar sel melalui dinding sel dan mempengaruhi metabolisme RNA melalui transkripsi molekul RNA. Menurut hipotesis pertumbuhan asam, auksin dapat memicu pompa proton dengan cara menurunkan pH pada dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan enzim – enzim aktif dan memecah ikatan silang (ikatan hidrogen) yang terdapat pada antara mikrofibril – mikrofibril selulosa, sehingga serat dinding sel menjadi longgar. Dinding sel yang longgar menyebabkan sifatnya lebih plastis dan sel bebas mengambil tambahan air melalui proses osmosis dan sel mengalami pembesaran.

Zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur biji dan kultur jaringan yaitu BAP (6-Benzil aminopurine) (Andaryani, 2010). BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya rangsangannya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman (George dan Sherrington (1984) dalam Andaryani (2010)). Sitokinin berperan dalam mendorong pembelahan sel atau jaringan dan merangsang perkembangan pucuk – pucuk tunas (Hu dan Weng (1983), George dan Sherrington (1993) dalam Karjadi dan

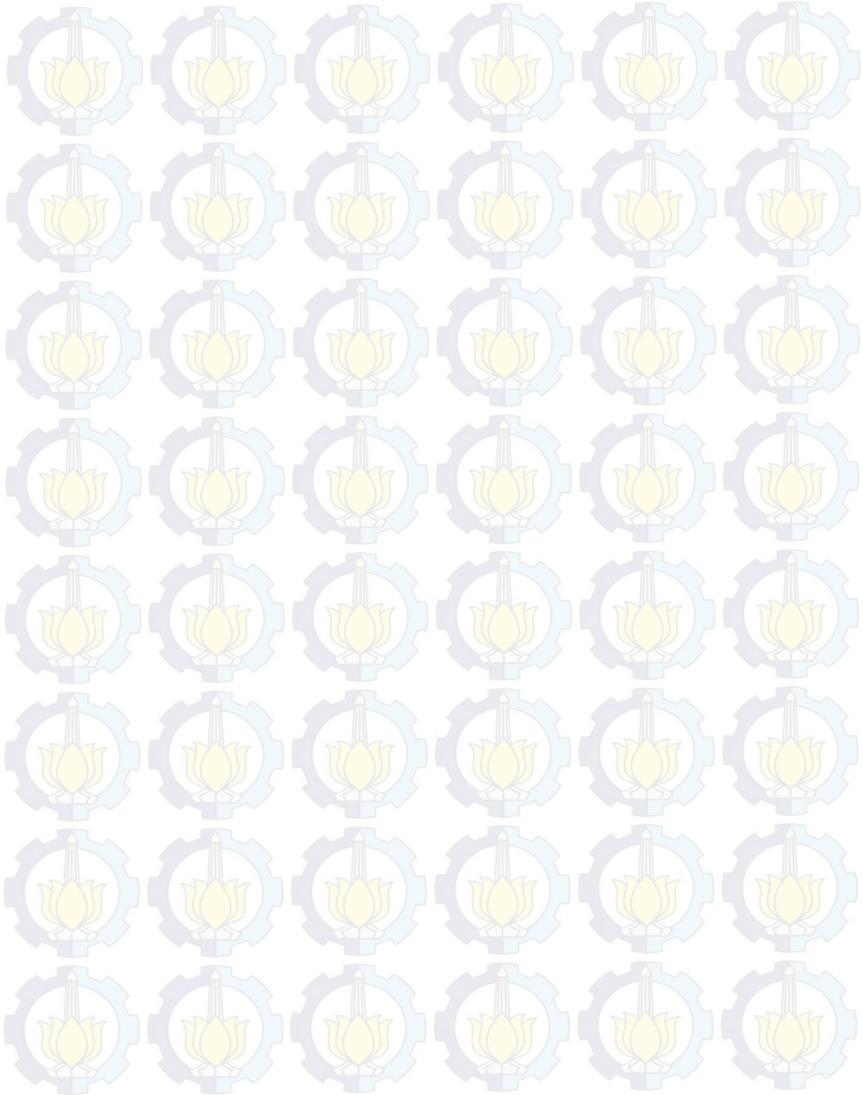
Buchory (2008)). Berikut mekanisme kerja sitokinin dalam proses pembelahan sel.



**Gambar 2.3** Siklus Sitokinin dalam Pembelahan Sel (D'Agustino, 1999)

Proses pensinyalan hormon sitokinin bersamaan dengan proses mitosis. sinyal sitokinin aktif pada saat proses transisi fase G1 menuju fase S dan Fase G2 menuju M. Sitokinin meningkatkan aktivitas fosforilasi sel, dimana pada saat itu juga meningkatnya kuantitas organela dan volum sitoplasma. Setelah fase G1 siap maka sel melanjutkan ke fase S. Fase S merupakan fase untuk sintesis DNA yang menghasilkan replikasi DNA yang identik dengan DNA induk. Fase S diikuti oleh fase G2 dimana sel mempersiapkan diri untuk melakukan mitosis. Pada Fase M (fase mitosis) terjadi pembelahan inti dan pemisahan sitoplasma (D'Agostino, 1999).

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***



## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2011 November 2011 di laboratorium Kultur Jaringan Kebun Raya Purwodadi - LIPI. Eksplan biji *Dendrobium capra* diperoleh dari Koleksi Greenhouse Kebun Raya Purwodadi - LIPI.

### **3.2. Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat – alat gelas, botol kultur, gelas Beaker, labu ukur, Erlenmeyer, Petri dish, *laminar air flow*, timbangan analitik, kompor gas, autoklaf, pH meter, scalpel, pinset, oose, alumunium foil, plastik, parafilm, kertas saring, serbet, tissue, keranjang, stiker/label, penggaris dan alat tulis.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan adalah media ½ Murashige and Skoog (MS) (disajikan pada lampiran 1), zat pengatur tumbuh NAA dan BAP, air kelapa, alkohol 70%, Bayclin (Clorox/NaOCI), aquades dan biji *D. capra*.

### **3.3 Cara Kerja**

#### **3.3.1 Sterilisasi Alat**

Sterilisasi dilakukan pada scalpel, Petridish, dan pinset dengan menggunakan sabun cuci, dibilas, kemudian dikeringkan. Alat dibungkus dengan kertas coklat, (Santoso (2003) dalam Desriatin (2010)). Semua alat tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 45 menit (Andaryani, 2010). Sterilisasi aquades, dituang ke dalam botol (erlenmeyer) dan ditutup dengan plastik dan alumunium foil.

### 3.3.2 Pembuatan Media Kultur

#### a. Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP

Pembuatan larutan stok NAA (MERCK) 50 mg/L dilakukan dengan penimbangan bahan sebanyak 5 mg. padatan NAA dilarutkan dengan KOH 1 N sambil di aduk sampai larut lalu ditambahkan 50 ml aquades steril ke dalam erlenmeyer 100 ml (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Setelah larutan homogen, larutan ditambahkan aquades kembali hingga volumenya mencapai 100 ml.

Pembuatan larutan stok BAP 50 mg/L yaitu bahan ditimbang sebanyak 5 mg dan ditambahkan HCl 1 N lalu 50 ml aquades steril ke dalam erlenmeyer 100 ml. setelah bahan larut (homogen) larutan ditambahkan aquades steril sampai 100 ml. Stok zat pengatur tumbuh disimpan dalam erlenmeyer 100 ml dan permukaan botol ditutup dengan aluminium foil serta diberi label. Semua larutan stok ZPT disimpan dalam lemari pendingin.

Penghitungan volume larutan stok zat pengatur tumbuh yang dicari menggunakan rumus di bawah ini :

$$V1.M1 = V2.M2$$

(Hendaryono dan Wijayani  
(1994) dalam Desriatin (2010))

Keterangan :

V1 = volume larutan stok yang dicari

M1 = konsentrasi larutan stok yang tersedia

V2 = volume larutan stok yang akan dibuat

M2 = konsentrasi larutan stok yang akan dibuat

#### b. Pembuatan Larutan Stok Mikro

Bahan penyusun unsur mikro ditimbang satu persatu dengan 1000 kali konsentrasi, yaitu  $MnSO_{4.7}H_2O$  (22,3 g/l),  $ZnSO_{4.7}H_2O$  (8,6 g/l),  $H_3BO_3$  (6,2 g/l), KI (0,83 g/l),  $CuSO_{4.H_2O}$  (0,025 g/l),  $Na_2MoO_{4.2H_2O}$  (0,25 g/l),

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,025 g/l). Masing – masing padatan dilarutkan dalam aquades secara terpisah. Setelah padatan larut, larutan disatukan dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai tanda batas cekungan dibagian leher Erlenmeyer. Larutan dikocok dan dipindahkan pada botol dengan label Stok Mikronutrien. Setelah itu, larutan stok disimpan dalam lemari es.

### **c. Pembuatan Larutan Stok $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{Na}_2\text{EDTA}$**

Padatan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ditimbang sebanyak 2,78 g/l kemudian dilarutkan dalam aquades sedikit demi sedikit. Setelah padatan larut, larutan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan ukuran 1000 mL. larutan ditambah aquades hingga mencapai batas 1 L dalam Erlenmeyer. Larutan dikocok lalu dipindah dalam botol dengan di beri label stok  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan disimpan dalam lemari es.

Pembuatan larutan stok  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dilakukan dengan menimbang padatan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ditimbang sebanyak 3,73 g/l kemudian dilarutkan dalam aquades sedikit demi sedikit. Setelah padatan larut, larutan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan ukuran 1000 mL. larutan ditambah aquades hingga mencapai batas 1 L dalam Erlenmeyer. Larutan dikocok lalu dipindah dalam botol dengan di beri label stok  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dan disimpan dalam lemari es.

### **d. Pembuatan Media Kultur**

Unsur makro ditimbang dan dilarutkan menggunakan aquades. Unsur makro, larutan stok, sukrosa, agar, air kelapa dan zat pengatur tumbuh dituang kedalam gelas Beaker. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh ditambahkan ke dalam gelas Beaker sesuai perlakuan (Tabel 3.1). Larutan media ditambah aquades hingga mencapai volume 1L. pH diset 5,8 dengan penambahan NaOH atau HCl. Media dipanaskan di atas api dan diaduk hingga homogen dan mendidih. Media dituang kedalam tabung sterilisasi. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada

suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Setelah suhu autoklaf turun, media dikeluarkan dan dituang pada Petri dish diruang Laminar Air Flow.

### **3.3.3 Sterilisasi Ruang Inokulasi (Laminar Air Flow)**

Laminar Air Flow (LAF) disterilisasi dengan menggunakan handsprayer berisi alkohol 70%. Alat – alat yang dibutuhkan dalam inokulasi eksplan disemprot dengan alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam LAF. Kemudian lampu ultraviolet (UV) dinyalakan selama 1 jam. Saat akan digunakan lampu UV dimatikan, lampu neon dan kipas dinyalakan (Zulkarnain, 2009 dalam Desriatin (2010)).

### **3.3.4 Prosedur Sterilisasi Biji Anggrek *Dendrobium capra***

Biji yang akan digunakan sebagai bahan tanam dalam penelitian adalah biji yang telah masak (umur  $\pm$  2,5 bulan setelah penyerbukan (*hand pollination*)). Biji diletakkan di kertas saring kemudian dilipat dan ditutup rapat (menggunakan stapler). Setelah itu dimasukkan ke dalam larutan Bayclin 10% selama 30 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali masing – masing selama 10 menit. Setelah itu, kertas saring yang berisi biji diambil menggunakan pinset steril kemudian dipindah di atas Petri dish. Kertas saring dibuka menggunakan gunting dan pinset dan biji di dalam kertas saring siap untuk diinokulasi (McKendrick, 2000).

### **3.3.5 Prosedur Inokulasi Biji *Dendrobium capra* pada Petri dish**

Jarum oose disterilisasi dengan teknik pembakaran yaitu dilewatkan diatas api bunsen dan didinginkan pada kertas saring yang steril. Biji anggrek diambil dengan jarum Oose dan disebar pada permukaan medium dalam Petri dish. Petri dish ditutup kemudian dililitkan parafilm pada bagian tepinya. Media yang berisi biji diinkubasi di rak kultur dan diberi penyinaran 16 jam photoperiod suhu 25°C.

### 3.4 Rancangan Penelitian dan Hipotesis

#### 3.4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan faktor kombinasi NAA dan BAP. Masing – masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Tabel rancangan penelitian ditunjukkan sebagai berikut:

**Tabel 3.1** Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP

- Kontrol (Tanpa Perlakuan NAA dan BAP)

NAA(N) BAP(B)	0,1 mg/L (N <sub>1</sub> )	0,2 mg/L (N <sub>2</sub> )	0,3 mg/L (N <sub>3</sub> )	0,4 mg/L (N <sub>4</sub> )	0,5 mg/L (N <sub>5</sub> )
0,1 mg/L (B <sub>1</sub> )	N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	N <sub>4</sub> B <sub>1</sub>	N <sub>5</sub> B <sub>1</sub>
0,3 mg/L (B <sub>2</sub> )	N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	N <sub>4</sub> B <sub>2</sub>	N <sub>5</sub> B <sub>2</sub>
0,5 mg/L (B <sub>3</sub> )	N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	N <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	N <sub>5</sub> B <sub>3</sub>

#### 3.4.2 Uji Kuantitatif

Persentase biji yang tumbuh dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ pertumbuhan biji} = \frac{\text{jumlah biji yang membentuk protocorm}}{\text{Jumlah biji yang ditabur}} \times 100\%$$

(Hossain, 2010)

Jumlah *protocorm* dalam Petri dish dihitung menggunakan "hand tally counter" kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan jika ada pengaruh beda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kesalahan 5% menggunakan SPSS 16.

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

H<sub>0</sub> = Tidak ada pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith

H<sub>1</sub> = Ada pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith

Sedangkan variabel yang digunakan adalah :

Variabel bebas : perbandingan konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP

Variabel terikat : Persentase pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith

**Tabel 3.2** Pengamatan Rerata Persentase Pertumbuhan Biji *D. capra* umur 4 MSI

NAA(N) BAP(B)	0,1 mg/L (N <sub>1</sub> )	0,2 mg/L (N <sub>2</sub> )	0,3 mg/L (N <sub>3</sub> )	0,4 mg/L (N <sub>4</sub> )	0,5 mg/L (N <sub>5</sub> )
0,1 mg/L (B <sub>1</sub> )					
0,3 mg/L (B <sub>2</sub> )					
0,5 mg/L (B <sub>3</sub> )					

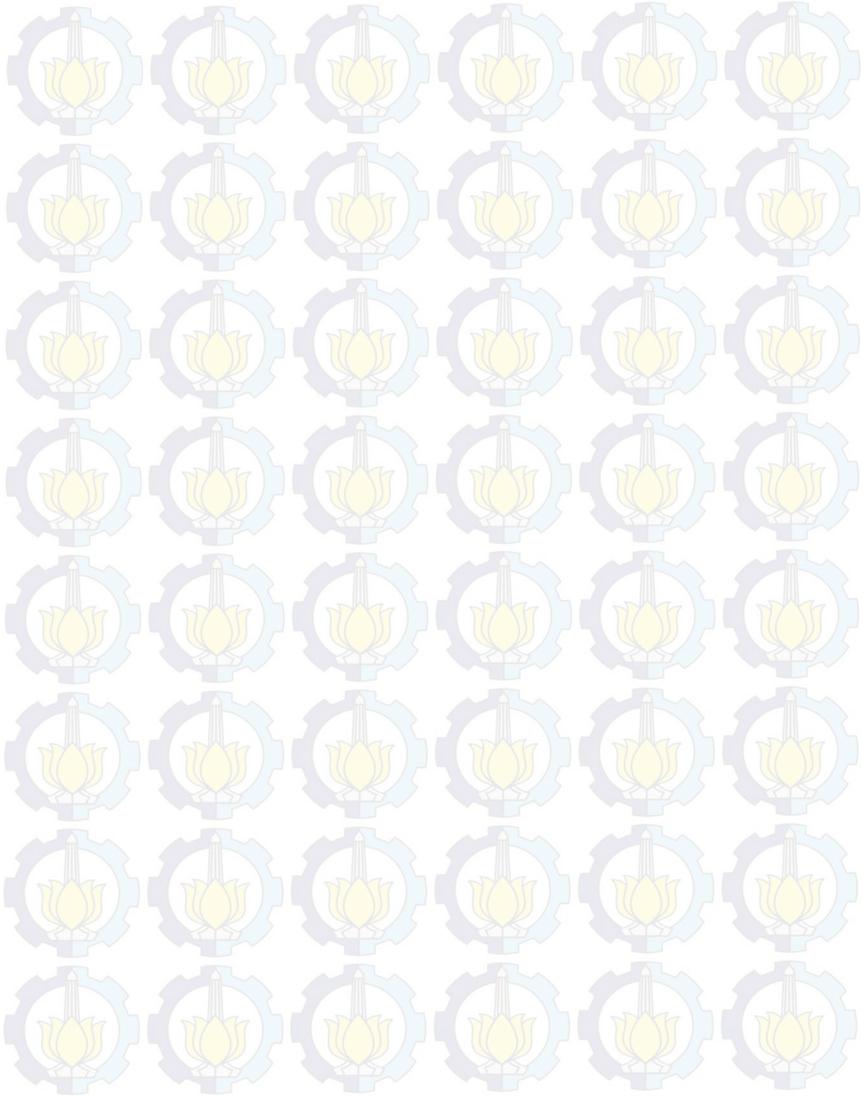
**Tabel 3.3** Pengamatan Respon Warna Protocorm

NAA(N) BAP(B)	0,1 mg/L (N <sub>1</sub> )	0,2 mg/L (N <sub>2</sub> )	0,3 mg/L (N <sub>3</sub> )	0,4 mg/L (N <sub>4</sub> )	0,5 mg/L (N <sub>5</sub> )
0,1 mg/L (B <sub>1</sub> )					
0,3 mg/L (B <sub>2</sub> )					
0,5 mg/L (B <sub>3</sub> )					

Keterangan:

1,2,3: ulangan

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***



## BAB IV PEMBAHASAN

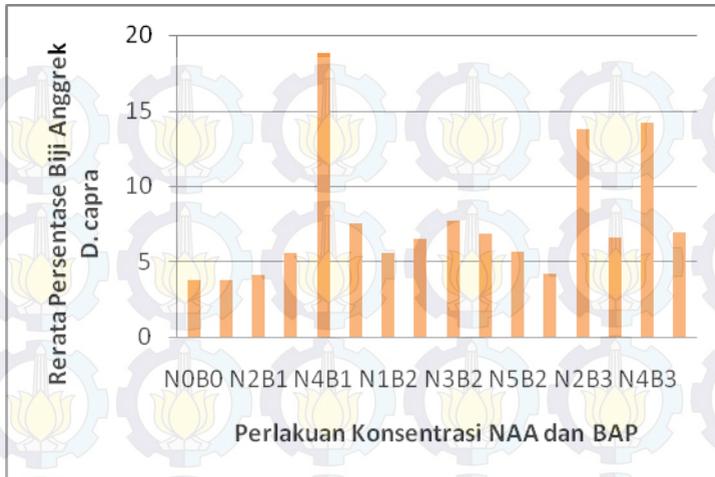
### 4.1. Persentase pertumbuhan biji *Dendrobium capra*

Parameter respon kuantitas pertumbuhan biji anggrek *Dendrobium capra* pada media ½ MS dengan variasi kombinasi konsentrasi NAA dan BAP diukur melalui persentase pertumbuhan biji selama 4 MSI (Minggu Setelah Inokulasi). Kultur biji *D. capra* pada media ½ MS (kontrol) dan media ½ MS dengan perlakuan penambahan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA (0.1; 0.2; 0.3; 0.4; dan 0.5 ppm) dan BAP (0.1; 0.3; dan 0.5 ppm). Data rata – rata persentase pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith setelah 4 MSI berkisar 3.75% sampai 18,79% yang disajikan pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.1

**Tabel 4.1** Rerata Persentase Pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith umur 4 MSI (Minggu Setelah Inokulasi)\*

NAA(N) BAP(B)	0,1 ppm (N <sub>1</sub> )	0,2 ppm (N <sub>2</sub> )	0,3 ppm (N <sub>3</sub> )	0,4 ppm (N <sub>4</sub> )	0,5 ppm (N <sub>5</sub> )
0,1 ppm (B <sub>1</sub> )	3.8a	4.103a	5.56a	18.787a	7.527a
0,3 ppm (B <sub>2</sub> )	5.56a	6.503a	7.663a	6.813a	5.623a
0,5 ppm (B <sub>3</sub> )	4.167a	13.723a	6.59a	14.167a	6.907a

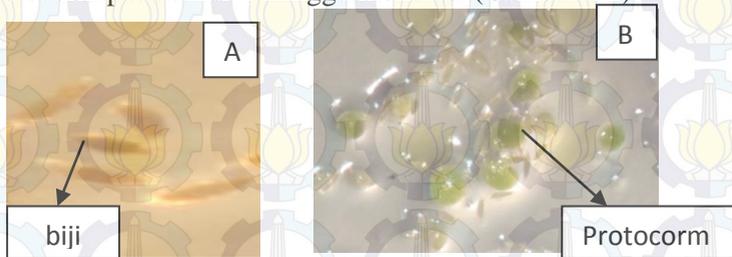
\* Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berpengaruh secara signifikan dengan uji Annova ( $\alpha = 0.05$ ).



**Gambar 4.1** Grafik Rerata persentase pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith pada media  $\frac{1}{2}$  MS dengan variasi kombinasi konsentrasi NAA dan BAP

Persentase pertumbuhan biji pada media tanpa ZPT (kontrol) lebih rendah dibandingkan dengan persentase pertumbuhan biji pada media dengan penambahan ZPT, dengan persentase pertumbuhan biji tertinggi pada perlakuan 0,4 mg/L NAA dan 0,1 mg/L BAP yaitu (18.79%) (Grafik 4.1). Tetapi, uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan penambahan ZPT NAA dan BAP tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan biji *D. capra* (disajikan dalam Lampiran IX). Kondisi ini diduga ZPT NAA dan BAP yang ditambahkan memiliki interval konsentrasi rendah (0,1 mg/L) sehingga persentase pertumbuhannya tidak memberikan pengaruh secara signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian Hosain (2010) yang menggunakan biji anggrek *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. sebagai objek penelitiannya dengan pemberian perlakuan pengaruh media dan penambahan ZPT Auksin (2,4D) dan Sitokinin (BAP) (0; 1; 2 ppm), diketahui bahwa penambahan auksin dan sitokinin tidak berpengaruh nyata terhadap persentase germinasi. Aplikasi penambahan ZPT NAA dan BAP tidak

berpengaruh, namun biji angrek *D. capra* pada penelitian ini tetap menunjukkan kemampuan untuk tumbuh secara *in vitro*. Pertumbuhan tersebut ditunjukkan dengan adanya pembentukan protocorm pada umur 4 minggu inokulasi (Gambar 4.2).



**Gambar 4.2.** Pertumbuhan biji *D. capra* A) biji *D. capra* berumur 0 MSI; B) protocorm *D. capra* berumur 4 MSI.

Protocorm adalah struktur berbentuk bulat yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm (Bey, 2006).

Pertumbuhan biji angrek *D. capra* memiliki karakteristik yang hampir sama dengan pertumbuhan biji angrek lainnya, yang ditandai dengan terbentuknya protocorm, yang merupakan sebuah fase transisi dari biji ke plantlet. Pembentukan protocorm biji angrek *D. capra* tergolong cepat dibandingkan pertumbuhan biji *Vanda coerulea* yang membutuhkan waktu untuk membentuk protocorm selama 8 MSI, *Arachnis labrosa* 16-18 MSI, *Odontoglossum gloriosum* Rchb.F. 16 MSI, *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. 4 MSI (atau 25 hari setelah inokulasi), *Cymbidium marorhizon* 120 HST, 8-9 MSI pada *Malaxis khasiana* (Roy et al, 2011; Temjengsangba & Deb, 2005; Pedroza-Manrique, 2006; Kong et al, 2007; Vij dan Pathak, 1988 dalam Sungkumlong dan Deb, 2008; Deb dan Temjengsangba, 2006), namun pembentukan protocorm *D. capra* lebih lambat dibandingkan *Ansellia africana* Lindl. 2 MSI telah membentuk protocorm (Vasudevan dan Staden, 2010).

Perbedaan lamanya pembentukan protocorm disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah respon masing – masing spesies serta faktor eksternal yang lain. Faktor eksternal lain yang ikut membantu pertumbuhan meliputi komposisi media. Setiap spesies memiliki kemampuan untuk merespon bermacam – macam komposisi media yang ada di lingkungannya. Begitu pula sebaliknya, komposisi media memberikan pengaruh yang bervariasi terhadap spesies yang ditanam.

Biji anggrek *D. capra* mampu merespon karena ketersediaan nutrisi di lingkungan tercukupi. Secara umum biji anggrek berukuran kecil seperti debu. Biji anggrek memiliki panjang 0.05 – 6.0 mm dengan lebar 0.01 – 0.9 mm dan berat mulai dari 0.31 – 24  $\mu\text{g}$  (Arditti & Ghani, 1999). Kuantitas produksi biji anggrek dalam satu kapsul berkisar 50 hingga 4 juta biji (Arditti, 1992). Karakteristik biji anggrek yang unik, yaitu dari testa dan embrio saja tanpa memiliki endosperm mengharuskan biji ditumbuhkan dalam media buatan. Media buatan untuk pertumbuhan biji anggrek sangat bervariasi, diantaranya media VW, KC, Phytamax, MS,  $\frac{1}{2}$  MS, B5 dan lainnya. Pada biji anggrek *D. capra* J.J. Smith mampu tumbuh pada media MS berkonsentrasi  $\frac{1}{2}$  yang mengandung nutrisi kompleks dengan konsentrasi mineral yang tinggi dimana terdiri dari unsur makro dan unsur mikro  $\frac{1}{2}$  MS (Lampiran X) yang merupakan hara esensial bagi pertumbuhan embrio anggrek . Penggunaan media  $\frac{1}{2}$  MS untuk biji anggrek *D. capra* J.J. Smith mampu mendukung pertumbuhan embrio menjadi protocorm pada 4 Minggu Setelah Inokulasi. Respon komposisi media ini sesuai dengan beberapa penelitian mengenai pertumbuhan biji *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. (Yuan et al, 2007), *Dendrobium tosaense* (Lo et al, 2004).

Proses germinasi biji anggrek *D. capra* diawali ketika proses biji dimasukkan kedalam sodium hypochlorit (NaOCl) sebagai bahan pensteril. Larutan hypochlorit memiliki dua pengaruh terhadap biji anggrek yaitu (1), mensterilkan biji anggrek dari mikroorganisme dan (2) untuk menghilangkan

suberin pada bagian integumen sehingga biji mampu mengalami difusi dan permeabel terhadap air (Ramsay & Dixon, 2003). Suberin adalah zat lilin yang berfungsi sebagai pelindung biji angrek dari proses pematangan dormansi. Hilangnya suberin menyebabkan testa biji menipis dan mengalami imbibisi. Imbibisi adalah masuknya air pada ruang interseluler dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (Gardner, 1991). Pengaruh imbibisi pada biji angrek *D. capra* dapat diketahui ketika sel mengalami perubahan ultrastruktural yaitu pembengkakan testa. Setelah testa biji mengalami pembengkakan maka testa pecah dan aktivitas mitosis dimulai di bagian sel meristematik embrio. Sel meristematik meluas dan akhirnya membentuk protocorm (Arditti, 1981; Rännbäck, 2007). Ketika proses imbibisi terjadi, serangkaian proses metabolisme pada biji mulai aktif.

Metabolisme adalah suatu reaksi kimia yang terjadi dalam organisme untuk mempertahankan hidup. Metabolisme yang terjadi antara lain metabolisme lipid, protein dan karbohidrat. Pada proses germinasi, pengangkutan nutrisi dari media untuk proses metabolisme kedalam tubuh biji dilakukan secara difusi dan osmosis dari sel satu ke sel lainnya.

Metabolisme karbohidrat pada perkecambahan biji terjadi ketika sukrosa mengalami hidrolisis oleh enzim  $\alpha$  &  $\beta$  amylase menjadi glukosa (gugus monosakarida). Glukosa mengalami proses glikolisis menjadi asam piruvat dan dilanjutkan ke siklus krebs menjadi energi berupa ATP. Sedangkan pada protein, pemecahan protein dibantu oleh enzim peptidase menjadi asam amino yang akan diangkut ke embrio (Gardner, 1991).

Selama perkecambahan, yang paling berperan adalah lipid. Pada perkecambahan biji angrek, lipid mengalami lipolisis. Lipolisis adalah hal yang penting dalam perkecambahan biji angrek (Manning & Van Staden, 1987). Lipolisis merupakan pemecahan lemak oleh enzim hidrolase menjadi asam lemak dan gliserol. Pada saat pembentukan protocorm tingkat lipolisis dibutuhkan lebih tinggi. Gliserol yang terbentuk kemudian

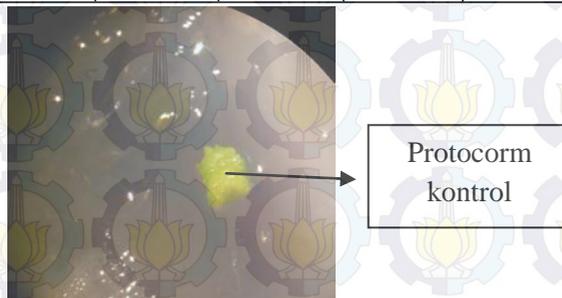
diangkut ke embrio sedangkan asam lemak mengalami oksidasi lebih lanjut melalui proses daur Krebs. Pada daur Krebs, residu asam lemak bereaksi dengan substrat yaitu Asetil Co-A terurai menjadi karbon dioksida, air dan energi berupa ATP. Pada saat inilah, cytokinin memainkan peranan penting yaitu membantu proses mobilisasi (Dimalla dan van Staden (1977) dalam Kauth, 2005).

#### 4.2 Respon Warna

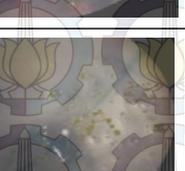
Selain rerata persentase pertumbuhan, respon warna protocorm merupakan parameter penting dalam pertumbuhan biji *D. capra*. Berikut hasil pengamatan disajikan pada tabel respon warna protocorm sebagai respon warna protocorm yang terbentuk pada media (Tabel 4.2 dan Gambar 4.3 serta Gambar 4.4 )

**Tabel 4.2** Respon warna protocorm *D. capra*

NAA(N)	0,1 mg/L (N <sub>1</sub> )	0,2 mg/L (N <sub>2</sub> )	0,3 mg/L (N <sub>3</sub> )	0,4 mg/L (N <sub>4</sub> )	0,5 mg/L (N <sub>5</sub> )
BAP(B)					
0,1 mg/L (B <sub>1</sub> )	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau
0,3 mg/L (B <sub>2</sub> )	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau
0,5 mg/L (B <sub>3</sub> )	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau

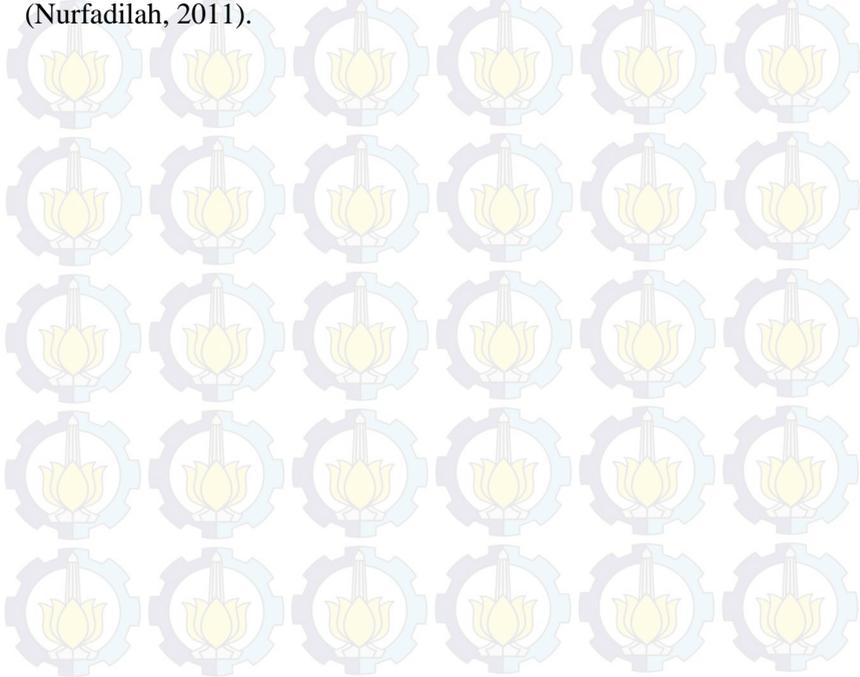


**Gambar 4.3** Warna Protocorm pada media tanpa ZPT (kontrol)

NAA(N)	0,1 ppm	0,2 ppm	0,3 ppm	0,4 ppm	0,5 ppm
BAP(B)	(N <sub>1</sub> )	(N <sub>2</sub> )	(N <sub>3</sub> )	(N <sub>4</sub> )	(N <sub>5</sub> )
0,1 ppm (B <sub>1</sub> )					
0,3 ppm (B <sub>2</sub> )					
0,5 ppm (B <sub>3</sub> )					

**Gambar 4.3** Warna Protocorm yang muncul

Warna protocorm yang baik adalah berwarna hijau (Shin, 2011). Karena warna hijau pada protocorm diduga mengandung klorofil. Menurut Mulyani (2006), klorofil terdapat pada kloroplas. Kloroplas merupakan plastid yang mengandung pigmen klorofil. Kloroplas yang mengandung klorofil bersama-sama dengan enzim dan molekul lain yang berfungsi dalam produksi makanan dengan cara fotosintesis untuk proses pertumbuhan dan perkembangan protocorm. Adapun fase pada proses pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek setelah membentuk protocorm yaitu fase dimana protocorm mulai membentuk primordial daun kemudian dilanjutkan pembentukan beberapa daun dan primordial akar dan menjadi planlet. Proses pertumbuhan dari protocorm menjadi planlet ini memerlukan waktu 3-9 bulan, mengingat laju pertumbuhan dan perkembangan anggrek yang relatif lambat (Nurfadilah, 2011).

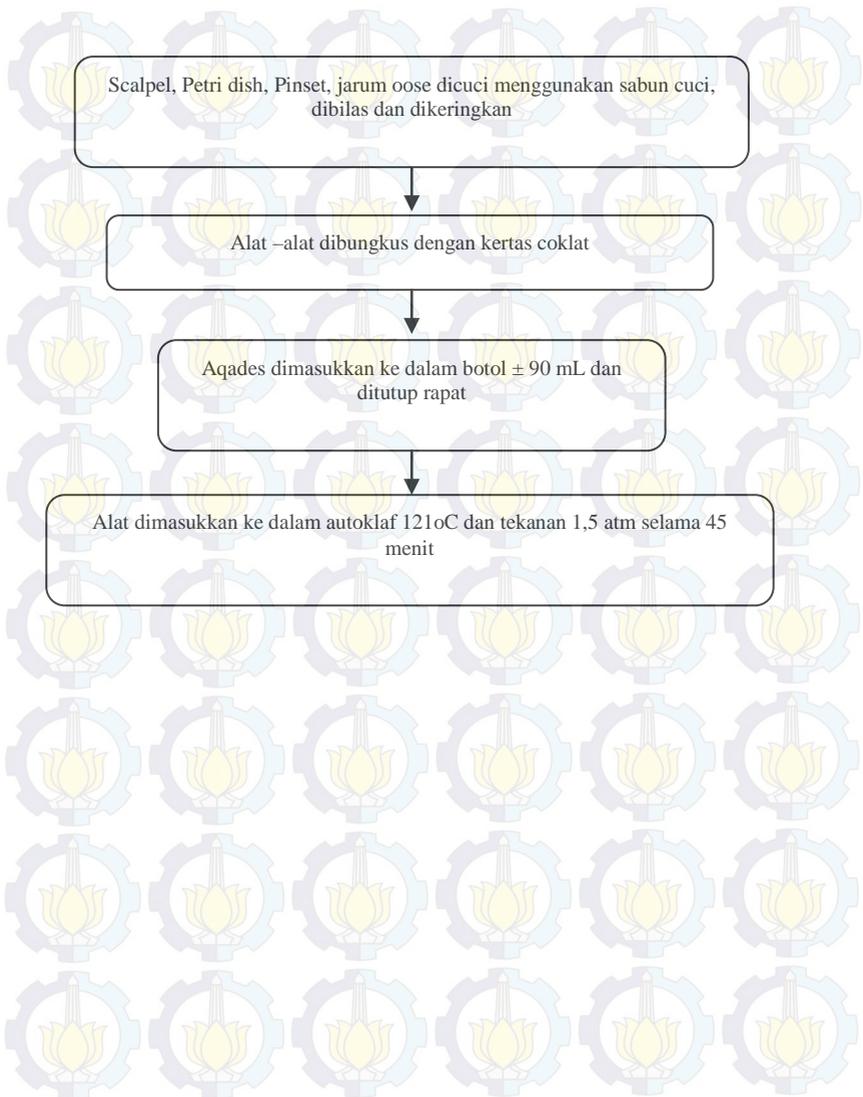


## LAMPIRAN

### Lampiran I Medium Dasar Murashige And Skoog (MS MEDIUM) (1962)

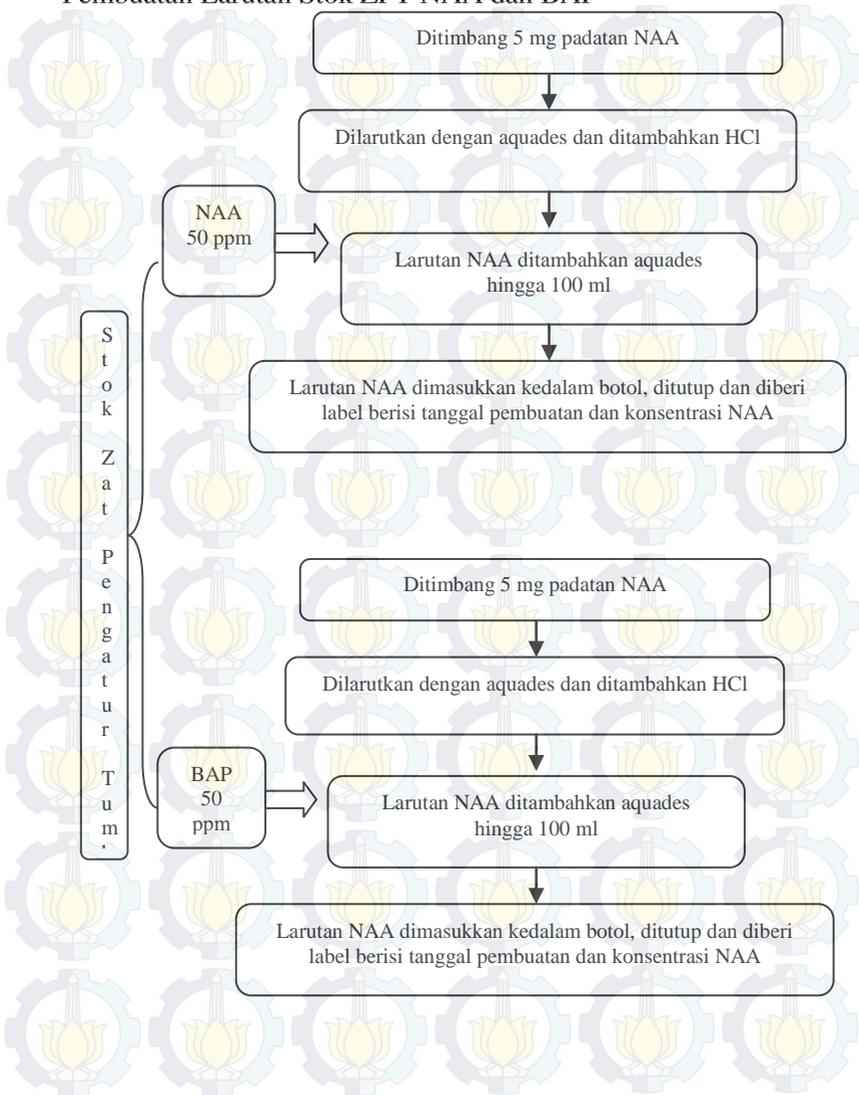
Komposisi Unsur	MS	½ MS
<b>MAKRONUTRIEN:</b> - KNO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> - KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O - MgSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	1900 mg/l 1650 mg/l 170 mg/l 440 mg/l 370 mg/l	950 mg/L 825 mg/L 85 mg/L 220 mg/L 185 mg/L
<b>MIKRONUTRIEN:</b> FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O Na EDTA MnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O      ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> KI <sub>3</sub> CuSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O      CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	27,8 mg/l 37,3 mg/l 22,3 mg/l 8,6 mg/l 6,2 mg/l 0,83 mg/l 0,025 mg/l 0,25 mg/l 0,025 mg/l	27,8 mg/l 37,3 mg/l 22,3 mg/l 8,6 mg/l 6,2 mg/l 0,83 mg/l 0,025 mg/l 0,25 mg/l 0,025 mg/l
<b>SUKROSA</b>	30.000 mg/l	20.000mg/L
<b>VITAMIN:</b> - THIAMIN – HCl      ASAM NIKOTINAT      PYRIDOXIN – HCl MYO INOSITOL	0,5 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l 100 mg/l	0,5 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l 100 mg/l
<b>pH`</b>	5,8 (Fitrianti, 2006)	5,8
<b>Air Kelapa</b>	-	150ml/L

## Lampiran II Sterilisasi Alat

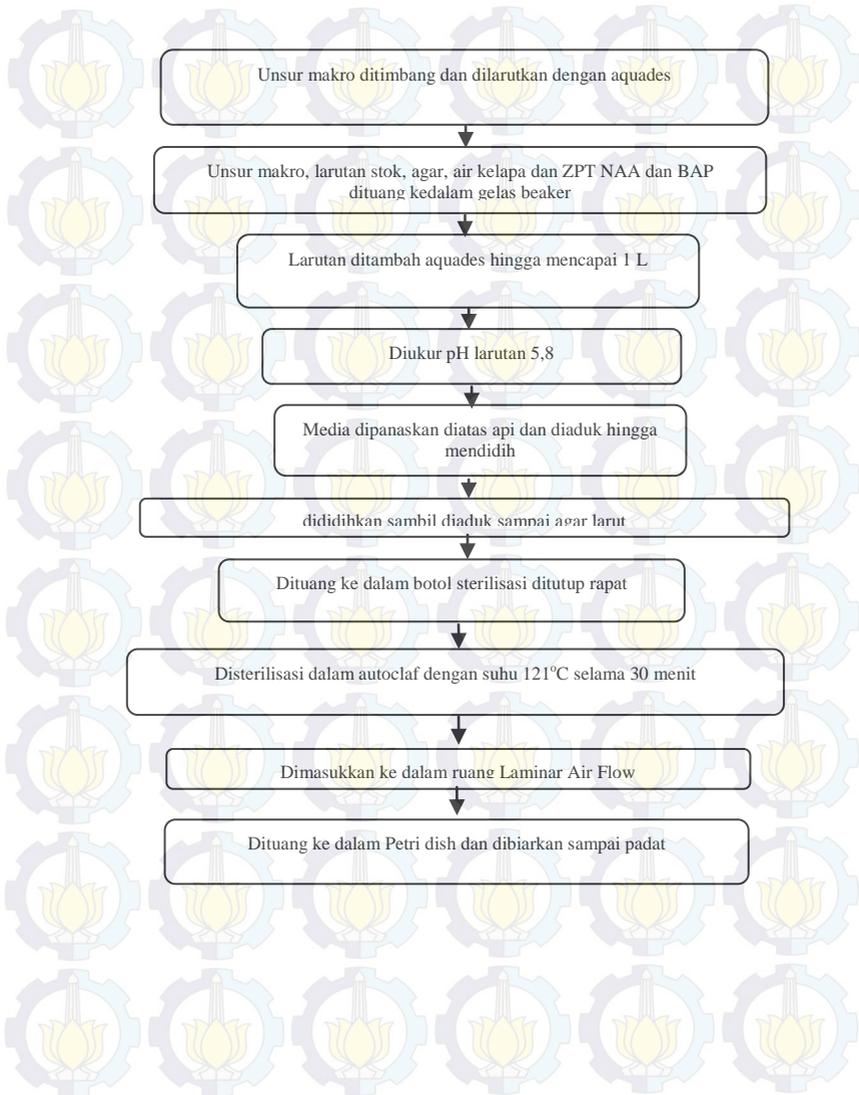


### Lampiran III Pembuatan Larutan Stok

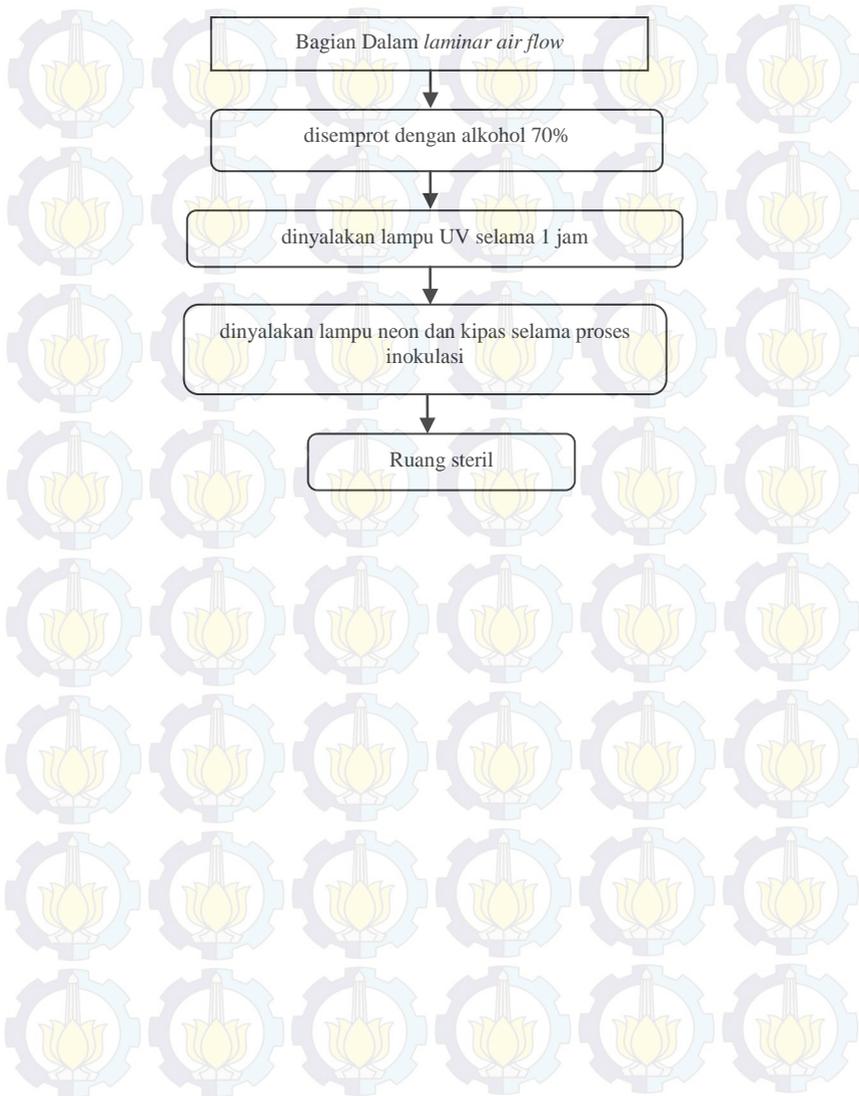
#### Pembuatan Larutan Stok ZPT NAA dan BAP

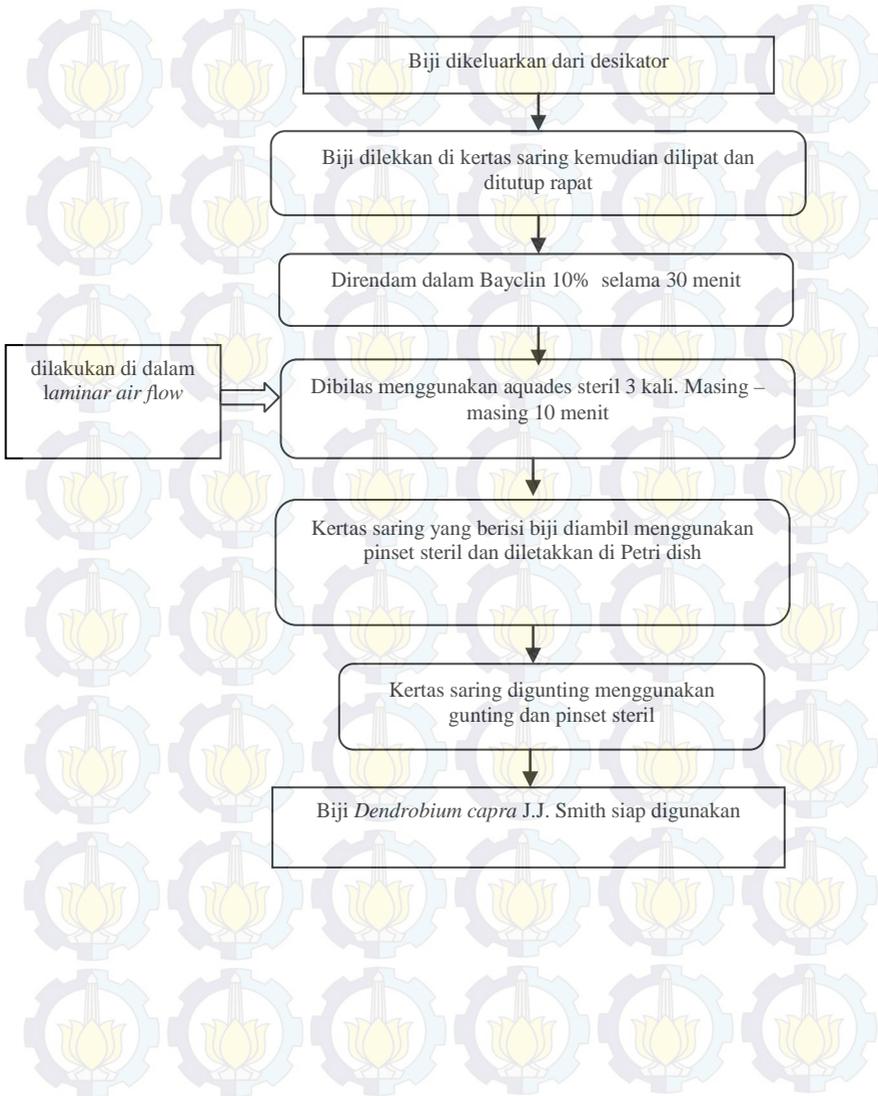


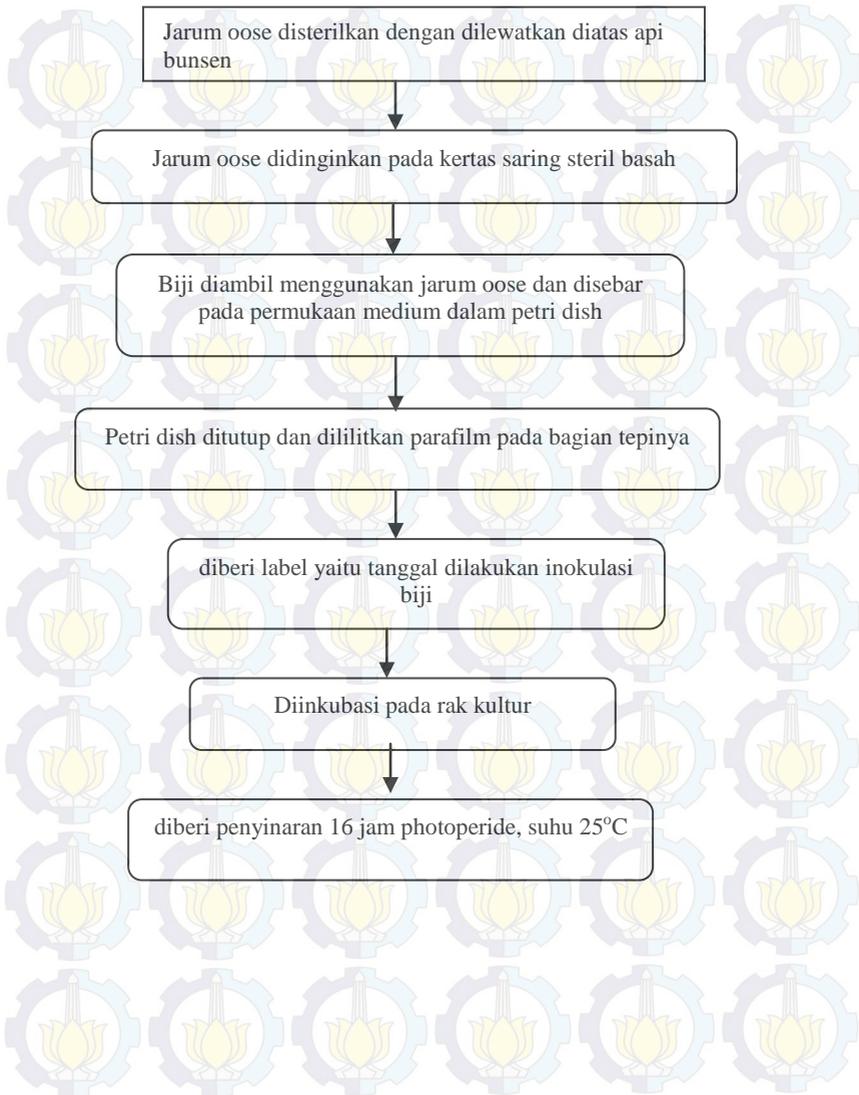
## Pembuatan Media Kultur



## Lampiran IV Sterilisasi Ruang Inokulasi



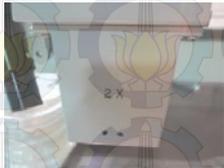
**Lampiran V. Prosedur Sterilisasi Biji Anggrek *D. capra***

**Lampiran VI. Prosedur Inokulasi Biji *D. capra* Pada Petri Dish**

**LAMPIRAN VII**

Proses Pengamatan Persentase Pertumbuhan Biji Angrek *D. capra* J.J. Smith

**Tahap Persiapan Pengamatan**

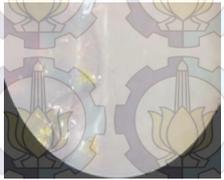
		
Hand Tally Counter	Mikroskop Stereo 2X	Lensa Okuler 10X
		
Lensa Objektif 2X	Petri dish Perlakuan	Proses Pengamatan dibawah mikroskop

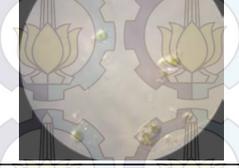
## Hasil Pengamatan

Perlakuan	Gambar	
Kontrol		
$N_1B_1$		
$N_2B_1$		

$N_3B_1$		
$N_4B_1$		
$N_5B_1$		

$N_1B_2$		
$N_2B_2$		
$N_3B_2$		

$N_4B_2$		
$N_5B_2$		
$N_1B_3$		

$N_2B_3$		
$N_3B_3$		
$N_4B_3$		
$N_5B_3$		

**Lampiran VIII** Data Hasil Pengamatan Persentase Pertumbuhan Biji Anggrek *D. capra*

Perlakuan Kombinasi ZPT (NAA-BAP)	Rata – rata Persentase Pertumbuhan biji <i>D. capra</i>
N <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	3.75
N <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	3.8
N <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	4.103333333
N <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	5.56
N <sub>4</sub> B <sub>1</sub>	18.78666667
N <sub>5</sub> B <sub>1</sub>	7.526666667
N <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	5.56
N <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	6.503333333
N <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	7.663333333
N <sub>4</sub> B <sub>2</sub>	6.813333333
N <sub>5</sub> B <sub>2</sub>	5.623333333
N <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	4.166666667
N <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	13.72333333
N <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	6.59
N <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	14.16666667
N <sub>5</sub> B <sub>3</sub>	6.906666667

## Anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	823.767	15	54.918	.248	.997
	Linear Contrast	68.332	1	68.332	.309	.582
	Term Deviation	755.435	14	53.960	.244	.996
Within Groups		7075.639	32	221.114		
Total		7899.405	47			

## DAFTAR PUSTAKA

Amilah dan Astuti Y. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge Dan Kacang Hijau Pada Media Vacin And Went (Vw) Terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*, L). *Bulletin Penelitian No.09 Tahun 2006*

Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Secara In Vitro. *Skripsi*. Agronomi Fakultas Pertanian UNS : Surakarta

Arditti, J., Ernst, R., 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley and sons, New York.

Arditti, J. & Ghani, A.K.A. 1999 Numerical And Physical Properties Of Orchid Seeds And Their Biological Implications. *Tansley Review No. 110. New Phytologist 145: 367-421*.

Badhra, S.K dan Hossain, M.M. 2003. In vitro Germination and Micropropagation of *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr., an Endangered Orchid Species. *Plant Tissue Cult. 13(2) : 165-171*

Bey Y, Syafii W dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (Ga3) Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis* B1) Secara In Vitro. *Jurnal Biogenesis Vol. 2(2):41-46. ISSN : 1829-5460*.

Comber, J. B. 1990. *Orchids of Java*. Kew England: Royal Botanic Gardens.

D'Agostino, Ingrid B dan Kieber, Joseph J. 1999. Molecular Mechanisms Of Cytokinin Action. Department of Biological Sciences, Laboratory for Molecular Biology, University of Illinois USA; *Current Opinion in Plant Biology* 1999, 2:359–364.

Deb dan Temjensangba. 2006. Effect Of Different Factor On Non-symbiotic Seed Germination, Formation Of Protocorm Like Bodies And Planlet Morphology Of *Cleisostoma racemiferum* (Lindl.) Garay. Departement Of Botany. Nagaland University: India. *Indian Journal Of Biotechnology*. Vol 5, pp 223-228

Desriatin, N.L. 2010. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Iaa Dan Kinetin Terhadap Morfogenesis Pada Kultur In Vitro Tanaman Tembakau (*Nicotiana Tabacum* L. Var. *Prancak-95*). *Skripsi*. Biologi FMIPA ITS : Surabaya

Dutra, Daniela. 2008. Reproductive Biology And Asymbiotic Seed Germination Of *Cyrtopodium punctatum*, An Endangered Florida Orchid. *Thesis*. University Of Florida : Florida

Dutta S. et al. 2011. In vitro multiplication and protocorm development of *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) CEC Fisher. Assam University Journal of Science & Technology : Biological and Environmental Sciences. Vol. 7 Number 1 57-62, 2011. ISSN 0975-2773.

Gardner F.P. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI Press. Jakarta

Hendaryono, D. P. 1994. *Teknik Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif-Modern)*. Kanisius : Yogyakarta

Hendaryono, D. P. 2000. *Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Kanisius : Yogyakarta

Hendriyani, E. 2007. *Uji Media Pada Perkecambahan Biji Anggrek *Phapiopedilum javanicum* (Reinw. ex Lindl.) Pfitzer. Secara In Vitro*. UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya' Bali-LIPI : Bali

Hossain M.M. et al. 2010. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. *Scientia Horticulturae* 123 (2010) 479–48.

Karjadi, A.K. dan Buchory A. 2008. *Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran : Bandung

Kauth, Philip. 2005. *In Vitro Seed Germination And Seedling Development Of *Calopogon tuberosus* And *Sacoila lanceolata* var. *lanceolata*: Two Florida Native Terrestrial Orchids*. Thesis. University Of Florida. Florida

Kong Q. et al. 2007. Micropropagation of an orchid *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. *International Journal of Horticultural Science* 2007, 13 (1): 61–64. Agroinform Publishing House, Budapest, Printed in Hungary. ISSN 1585-0404

Luan V.Q. et al. 2006. *In Vitro Germination Capacity And Plant Recovery Of Some Native And Rare Orchids*. Nong Lam

University Ho Chi Minh City, Vietnam. *Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture*

Lo et al. 2004. Asymbiotic Germination Of Immature Seeds, Plantlet Development And Ex Vitro Establishment Of Plants Of *Dendrobium tosaense* Makino – A Medicinally Important Orchid. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 40:528–535 DOI: 10.1079/IVP2004571. Society for In Vitro Biology

Manning, J.C. and J. van Staden. 1987. *The development and mobilization of seed reserves in some African orchids*. Australian Journey of Botany

McKendrick, Sheena. 2000. *In vitro germination of orchids : a manual*. Copyright Ceiba Foundation for Tropical Conservation

Miryam A., Suliansyah I., dan Amril D. 2006. Multiplikasi Jeruk Kacang (*Citrus nobilis* L.) Pada Beberapa Konsentrasi NAA DAN BAP Pada Media Wpm Secara In Vitro. Jurusan Budidaya Pertanian, Universitas Andalas. Padang. ISSN 1979-0228

Mulyani. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Kanisius : Yogyakarta

Nurfadilah, Siti. 2011. The Effect of light on the germination and the growth of the seeds of *Dendrobium spectabile* Bl (Orchidaceae) *in vitro*. *Prosiding Makalah Seminar Kebun Raya Cibodas-LIPI*

Pedroza-Manrique J. dan Gutie´ rrez Y.M, 2006. Asymbiotic Germination Of *Odontoglossum Gloriosum* Rehb.F. (Orchidaceae) Under In Vitro Conditions. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 42:543–547.

Pedroza-Manrique, J., Fernandez-Lizarazo, C., Suarez-Silva, A. 2005. Evaluation of the effect of three growth regulators in the germination of *Compartmentia falcata* seeds under in vitro conditions. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant* 44, 838–843.

Ramsay M. Margaret dan Dixon W. K. 2003. *Propagation Science, Recovery, And Translocation Of Terrestrial*. Copyright Of Orchid Conservation.

Rännbäck, Linda-Marie. 2007. Propagation, cultivation and breeding of terrestrial temperate orchids, with focus on *Cypripedium* spp. *Bachelor project*. Danish-Swedish Horticulture programme. SLU. Alnarp

Risna R.A, et al. 2010. *Spesies Prioritas Untuk Konservasi Tumbuhan Indonesia. Seri I*. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI.

Roy, et al. 2011. Asymbiotic seed germination, mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griff ex.Lindl. (Blue Vanda): An in vitro protocol for an endangered orchid. Division of Horticulture, I.C.A.R. Research Complex for NEH Region, Umiam, Meghalaya 793 103, India. *Scientia Horticulturae* 128 (2011) 325–331.

Santoso dan Nursandi, Fatimah. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang

Shin Y-K. et al. 2011. Effects of activated charcoal, plant growth regulators and ultrasonic pre-treatments on *in vitro* germination and protocorm formation of *Calanthe* hybrids. *Australian Journal Of Crop Science. AJCS* 5(5):582-588 (2011). ISSN:1835-2707

Stewart, S.L., Kane, M.K., 2006. A symbiotic seed germination and invitro seedling development of *Habernaria macroceratitis* (Orchidaceae) a rare Florida terrestrial orchid. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 86, 147–158.

Sugiyanti, E. 2008. Pengaruh Kombinasi BAP (*Benzil Amino Purine*) Dan NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Tunas Zodia (*Euodia Suaveolens* Scheff.) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Agronomi Fakultas Pertanian UNS : Surakarta

Sungkumlong dan Deb. 2008. Effects Of Different Factors On Immature Embryo Culture, PLBs Differentiation And Rapid Mass Multiplication Of *Coelogyne suaveolens* (Lindl.) Hook. *Indian Journal Of Experimental Biology*. Vol. 46, pp. 243 – 248.

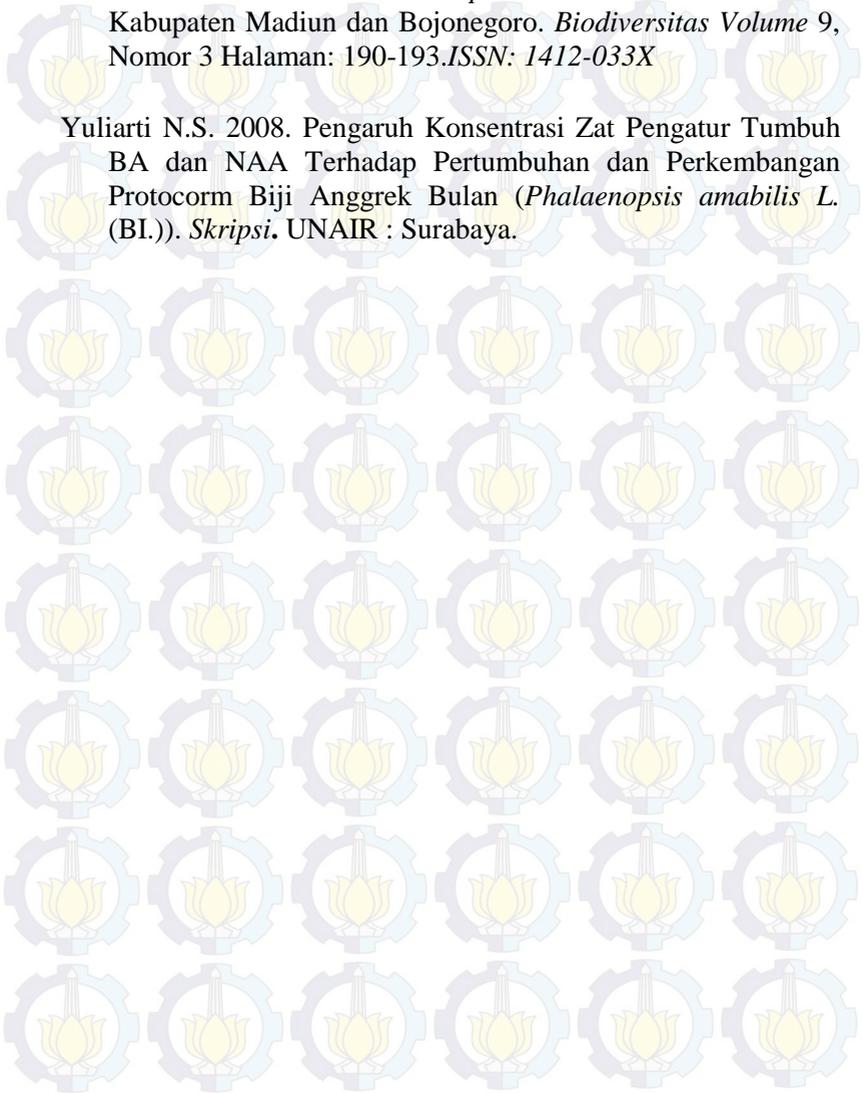
Temjengsangba dan Deb, C. R. 2005. Regeneration And Mass Multiplication of *Arachnis labrosa* (Lind. Ex Paxt.) Reichb A rare And Threatened Orchid. *Curr Science* 88-1966

Thompson Dave I dan Edward T. J. 2006. Evaluating Asymbiotic Seed Culture Methods And Establishing Disa (Orchidaceae) Germinability *In Vitro*: Relationships, Requirements And First-Time Reports. *Review Paper. Plant Growth Regul* (2006) 49:269–284. DOI 10.1007/s10725-006-9137-z.

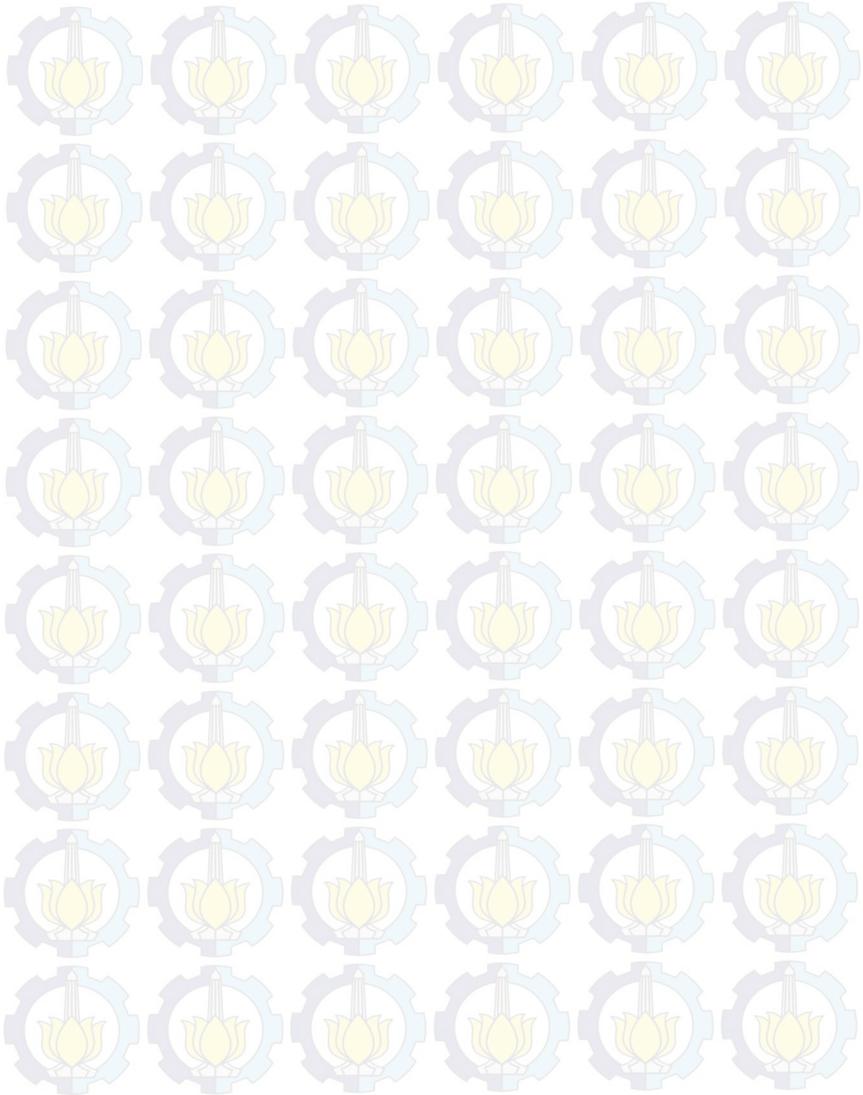
Vasudevan R. dan Staden J. V. 2010. In vitro asymbiotic seed germination and seedling growth of *Ansellia africana* Lindl. University of KwaZulu-Natal Pietermaritzburg. South Africa. *Scientia Horticulturae* 123 (2010) 496–504

Yulia, N. D. dan Ruseani S. Nur. 2008. Studi Habitat dan Inventarisasi *Dendrobium capra* J.J. Smith J.J. Smith di Kabupaten Madiun dan Bojonegoro. *Biodiversitas Volume 9*, Nomor 3 Halaman: 190-193. *ISSN: 1412-033X*

Yuliarti N.S. 2008. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Protocorm Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L. (Bl.)). *Skripsi*. UNAIR : Surabaya.



*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*



## BIODATA PENULIS



Liza Febby Kurnianti (Liza) lahir di Pamekasan pada tanggal 01 Februari 1989, merupakan putri pertama dari empat bersaudara dari pasangan Zainollah dan Lilies Ratnasari. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Almunawarah Pamekasan (1994-1995), SDN Lawangan Daya II Pamekasan (1995-2001), SLTP Negeri II Pamekasan (2001-2004), SMA Negeri I Pamekasan (2004-2007). Dengan

melalui jalur PMDK regular, penulis diterima di jurusan Program Studi Biologi FMIPA-ITS pada tahun 2007 yang terdaftar dengan NRP 1507100012. Selama menempuh pendidikan di Biologi ITS, penulis berkesempatan menjadi Asisten praktikum Taksonomi Tumbuhan. Penulis juga aktif di beberapa organisasi kemahasiswaan selama kurang lebih dua tahun dalam skala Jurusan, seperti Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (HIMABITS) sebagai Staff Departemen Kewirausahaan (Tahun Pertama) hingga Kepala Departemen Kewirausahaan (Tahun Kedua). Serta sebagai OC dan IC KORAL BITS (Kegiatan Orientasi Awal Biologi ITS). Penulis dapat dihubungi melalui email di [kurnianti.liza@gmail.com](mailto:kurnianti.liza@gmail.com).

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

