

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

**LIZA FEBBY KURNIANTI**

*Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Jl. Raya ITS, Sukolilo-Surabaya 10111  
Email : kurnianti.liza@gmail.com*

**ABSTRACT**

The research aims to investigate the effect of the combination of concentrations NAA and BAP on the percentage of *Dendrobium capra*. The seeds were grown on ½ MS medium with combination treatments of plant growth regulators NAA (0.1: 0.2: 0.3: 0.4, 0.5 ppm) and BAP (0.1; 0.3, 0.5 ppm). The results showed that the percentage of seed germination ranges from 3.75% - 18.79%. The percentage of seed germination on 0,4 NAA dan 0,1 BAP was 18.79% while the percentage of seed germination on medium without plant growth regulator (control) that was 3.75%. ANOVA test showed that the combination concentrations of PGR of NAA and BAP did not significantly affect the germination of *D. capra*. The research of this study focuses on optimizing the growth and development of seed *Dendrobium capra* J.J. Smith with the influence of a combination of NAA and BAP as well as to support the conservation of rare orchids in particular *D. capra* J.J. Smith.

**The key words:** NAA, BAP, protocorm, persentase growing of seed, *Dendrobium capra* and conservation

**PENDAHULUAN**

Anggrek merupakan tanaman hias yang mempunyai nilai estetika tinggi dengan bentuk dan warna bunga anggrek serta karakteristik unik lainnya menjadi daya tarik tersendiri untuk mengoleksi 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 alam endemic 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.

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. Hal ini disebabkan tingkat permintaan yang tinggi sehingga banyak kolektor dan pebisnis tanaman hias melakukan eksploitasi langsung dari habitat aslinya secara besar-besaran. 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.

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 Temjensangka, 2006).

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 angrek (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 angrek. Luan V.Q., et al (2006) melaporkan bahwa penggunaan kombinasi NAA 1 mg.L-1 dan BAP 0,5 mg.L-1 baik untuk perkecambahan *Dendrobium sp.* secara *in vitro*. Shin et al. (2011) juga melaporkan bahwa penambahan 0,1 mg l-1 NAA atau 0,5 mg l-1 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 perbanyak *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*.

## METODOLOGI

### 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* J.J. Smith diperoleh dari Greenhouse Kebun Raya Purwodadi - LIPI.

### Cara Kerja

#### Tahap Persiapan

##### a. Sterilisasi Ruang

Laminair Air Flow (LAF) disteriliasi 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)).

##### b. 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 aluminium foil.

##### c. Sterilisasi Media

Media yang digunakan adalah media Murashige and Skoog atau MS (lampiran 1) di masukkan ke dalam botol kultur dan disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

##### d. Sterilisasi Biji *D. capra*

Biji yang akan digunakan sebagai bahan tanam dalam penelitian adalah biji yang telah masak (umur + 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).

## Pembuatan Media

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

Pembuatan larutan stok NAA (MERCK) 50 ppm 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 ppm 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  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$  (22,3 g/l),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (8,6 g/l),  $H_3BO_3$  (6,2 g/l), KI (0,83 g/l),  $CuSO_4 \cdot H_2O$  (0,025 g/l),  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  (0,25 g/l),  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  (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 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dan $Na_2EDTA$

Padatan  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  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  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  dan disimpan dalam lemari es.

Pembuatan larutan stok  $Na_2EDTA$  dilakukan dengan menimbang padatan  $Na_2EDTA$  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  $Na_2EDTA$  dan disimpan dalam lemari es.

### d. Pembuatan Media Kultur ( $1/2$ MS)

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

### Inokulasi Eksplan

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  $25^\circ C$ .

### Rancangan Penelitian dan Hipotesis

#### 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)	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> )
BAP(B)					
0,1 ppm (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 ppm (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 ppm (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 NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith

### Uji Kualitatif

#### a. Respon Warna Protocorm *D. capra*

Pengamatan warna protocorm dilakukan untuk mengetahui kualitas protocorm untuk perkembangan ke fase selanjutnya.

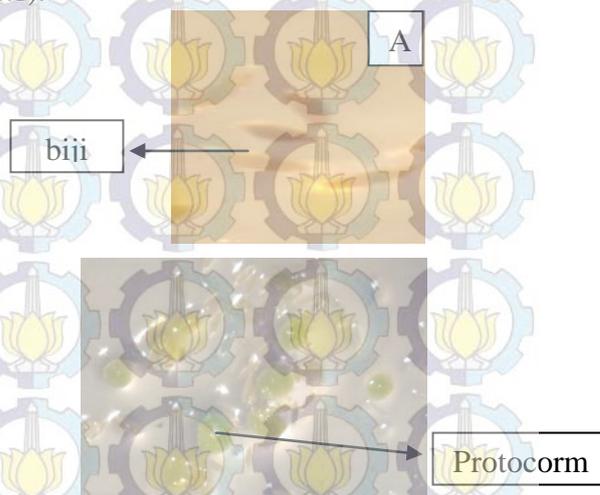
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase pertumbuhan biji *Dendrobium capra*

Parameter respon kuantitas pertumbuhan biji anggrek *D. capra* J.J. Smith pada media ½ MS dengan variasi kombinasi konsentrasi NAA dan BAP diukur melalui persentase pertumbuhan biji selama 4 MSI (Minggu Setelah Inokulasi). Kultur biji *Dendrobium capra* J.J. Smith 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% (data not shown).

Berdasar uji ANOVA rerata persentase pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith secara *in vitro* menunjukkan bahwa perlakuan penambahan ZPT NAA dan BAP tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith (disajikan dalam Lampiran IX). Kondisi ini diduga hormon endogen pada biji *D. capra* J.J. Smith mencukupi untuk proses pertumbuhan sehingga penambahan hormon eksogen 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 anggrek *D. capra* J.J. Smith pada penelitian ini tetap menunjukkan kemampuan untuk tumbuh secara *in vitro*. Pertumbuhan tersebut ditunjukkan dengan adanya pembentukan protocorm pada umur 4 minggu inokulasi yang diamati pada mikroskop stereo 20X (Gambar 4.1).



**Gambar 4.1.** Pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith A) biji *D. capra* J.J. Smith berumur 0 MSI; B) protocorm *D. capra* J.J. Smith 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 anggrek *D. capra* J.J. Smith memiliki karakteristik yang hampir sama dengan pertumbuhan biji anggrek lainnya, yang ditandai dengan terbentuknya protocorm, yang merupakan sebuah fase transisi dari biji ke *plantlet*. Pembentukan protocorm biji anggrek *D. capra* J.J. Smith 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* J.J. Smith 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* J.J. Smith 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 µg (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, ½ MS, B5 dan lainnya. Pada biji anggrek *D. capra* J.J. Smith mampu tumbuh pada media MS berkonsentrasi ½ yang mengandung nutrisi kompleks dengan konsentrasi mineral yang tinggi dimana terdiri dari unsur makro dan unsur mikro ½ MS (Lampiran X) yang merupakan hara esensial bagi pertumbuhan embrio anggrek. Penggunaan media ½ 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), *Dendrobium formosum* (Nasiruddin, 2003).

Proses germinasi biji anggrek *D. capra* J.J. Smith diawali ketika proses biji dimasukkan kedalam sodium hypoclorit (NaOCl) sebagai bahan pensteril. Larutan hypoclorit 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 anggrek 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. Ada dua kondisi yang diperlukan untuk terjadinya imbibisi yaitu adanya gradien, potensial air antara permukaan adsorban dengan senyawa yang diimbibisi dan adanya affinitas (daya gabung) antara komponen adsorban dengan senyawa yang diimbibisi (Gardner, 1991). Pengaruh imbibisi pada biji anggrek *D. capra* J.J. Smith dapat diketahui ketika sel mengalami perubahan ultrastruktural yaitu pembengkakan testa. Setelah testa biji mengalami pembengkakan maka testa pecah dan aktivitas metabolisme terjadi.

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. Pada protein mengalami hidrolisis menjadi asam amino dan diangkut ke embrio (Gardner, 1991).

## Pertumbuhan Biji *Dendrobium capra* secara *in vitro*

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

Selain proses metabolisme, aktivitas mitosis dimulai di bagian sel meristematik embrio. Sel meristematik meluas dan akhirnya membentuk protocorm (Arditti, 1981; Rännbäck, 2007).

### Respon Warna Protocorm *D. capra*

Selain rerata persentase pertumbuhan, respon warna protocorm merupakan parameter penting dalam pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith. Berikut disajikan Tabel respon warna protocorm (Tabel 4.2)

**Tabel 4.2** Respon Warna Pertumbuhan biji anggrek *D. capra* J.J. Smith

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

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 (Nurfadilah, 2011).

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith selama 4 MSI sebesar 3,75% -18,79%.
2. Berdasar hasil Anova bahwa penambahan kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan biji *D. capra* J.J. Smith..

## DAFTAR PUSTAKA

- Amilah dan Astuti Y. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge Dan Kacang Hijau Pada Media Vacin And Went (Vw) Terhadap Pertumbuhan Kecambah Angrek 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 Angrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis* Bl) 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 I 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 Angrek dalam Botol**. Kanisius : Yogyakarta
- Hendriyani, E. 2007. **Uji Media Pada Perkecambahan Biji Angrek *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
- Nasiruddin, K.M, Begum R. dan S. Yasmin. 2003. Protocorm Like Bodies and Planlet Regeneration from *Dendrobium formosum* Leaf Callus. **Asian Journal of Plant Sciences** **2** (13):955-957. ISSN 1682-3974.
- 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* Rchb.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 *Compantia 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.

Pietermaritzburg. South Africa. **Scientia Horticulturae** 123 (2010) 496–504

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

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**

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 AJCS 5(5):582-588 (2011). ISSN:1835-2707**

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.**

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