

Pertumbuhan dan Perkembangan Biji Anggrek *Dendrobium taurulinum* J. J. Smith Pada Beberapa Jenis Media dan Konsentrasi Sukrosa secara *In Vitro*

Lusia Hardiana¹, Dini Ermavitalini¹, dan Siti Nurfadilah²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

²UPT BKT Kebun Raya Purwodadi-LIPI Jl. Surabaya-Malang, Km. 65 Purwodadi, Pasuruan 67163

E-mail: dinierma@bio.its.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis media, konsentrasi sukrosa serta interaksi kedua faktor tersebut terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *Dendrobium taurulinum* J. J. Smith. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 Faktorial; faktor pertama yaitu jenis media (media VW, media KC, dan media MS). Faktor kedua yaitu konsentrasi sukrosa (0 g/l, 10 g/l, 20 g/l, dan 30 g/l). Pengamatan dilakukan setelah 12 MSI (Minggu Setelah Inokulasi). Hasil penelitian menunjukkan persentase pertumbuhan dan perkembangan biji 0 % sampai 2,7 %, yang didapatkan yaitu pada VW 0 g/l sebesar 1,3 %, VW 20 g/l sebesar 2,7 %, VW 30 g/l sebesar 1,3 %, KC 0 g/l sebesar 1,3 %, dan perlakuan yang lainnya hanya sebesar 0 % atau biji tidak mengalami pertumbuhan (fase 0).

Kata Kunci: jenis media, konsentrasi sukrosa, *Dendrobium taurulinum*, *in vitro*

Abstract

This research aimed to investigate the effect of media, sucrose concentration, and the interaction of these two factors on the growth and development of seeds of *Dendrobium taurulinum*. This research was designed with Completely Randomized Factorial Design, the first factor was media (VW, KC, and MS), and the second factor was the concentration of sucrose (0 g/l, 10 g/l, 20 g/l and 30 g/l). Data collection was conducted after 12 weeks after inoculation. Then the data were analyzed with ANOVA General Linear Models. The results showed that media, sucrose concentration and the interactions of that two factors did not affect the growth and development of *Dendrobium taurulinum* seeds. Some of the treatments showed that seeds grow and developed into protocorm (stage 1). The results showed the percentage of growth and development were 0 % - 2.7 % ie VW 0 g/l of 1.3%, VW 20 g/l of 2.7%, VW 30 g/l of 1.3% and KC 0 g/l of 1.3%, and the other treatments were 0 % or the seeds is not growth (stage 0).

Key Words: media, sucrose concentration

I. PENDAHULUAN

Dendrobium taurulinum merupakan salah satu jenis anggrek yang masuk dalam daftar jenis tanaman anggrek langka yang mendapatkan prioritas konservasi berdasarkan tingkat keterancamannya di alam. Hal ini berdasarkan hasil workshop di Kebun Raya Bogor pada tanggal 2-3 Juni 2009 oleh panel pakar *orchidaceae* [44]. *Dendrobium taurulinum* juga masuk dalam daftar CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*)

Apendiks II. Upaya konservasi anggrek *Dendrobium taurulinum* perlu dilakukan agar keberadaannya di alam tetap terjaga. Salah satu upaya konservasi adalah melalui perbanyakan untuk menghasilkan anggrek dengan jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat [18].

Perbanyakan anggrek melalui kultur biji tidak dapat dilakukan secara konvensional karena biji anggrek tidak memiliki endosperm (cadangan makanan), sehingga untuk perkecambahannya hanya dapat dilakukan dengan menumbuhkannya pada media buatan secara aseptis melalui kultur biji secara *in vitro*. Biji anggrek yang ditabur akan berkecambah dan membentuk planlet - planlet kecil

dalam waktu 2-3 bulan. Pada biji anggrek, perkecambahan ditandai dengan terbentuknya protocorm diikuti dengan munculnya plumula dan radikula [1].

Perkembangbiakan anggrek secara *in vitro* sendiri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah jenis media kultur beserta komponen yang ada di dalamnya. Salah satu komponen media yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan anggrek adalah sukrosa. Menurut [14] sukrosa merupakan sumber karbon penting yang digunakan sebagai penyusun sel. Dengan adanya sukrosa yang cukup, maka pembelahan, pembesaran dan diferensiasi sel selanjutnya dapat berlangsung dengan baik. 1-2% sukrosa, 2% fruktosa, 1-3% glukosa serta 2% gula pasir memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* dibandingkan media tanpa sumber karbohidrat sederhana [61].

Melalui pemaparan tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis media, konsentrasi sukrosa serta interaksi keduanya pada pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *Dendrobium taurulinum*.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober sampai bulan Desember 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan UPT BKT Kebun Raya Purwodadi – LIPI di Jalan Raya Surabaya-Malang KM. 65 Purwodadi, Pasuruan Jawa Timur.

B. Bahan

Biji *Dendrobium taurulinum* koleksi UPT BKT Kebun Raya Purwodadi - LIPI. Media VW (Vacint And Went), media MS (Murashige Skoog) dan media KC (Knudson C). Konsentrasi sukrosa 0g/l, 10 g/l, 20 g/l dan 30 g/l, alkohol 70%, clorox 20%.

C. Sterilisasi dan Inokulasi

Biji dipindahkan ke kertas saring dan dilipat untuk dilakukan sterilisasi secara kimiawi yaitu merendam biji dalam larutan clorox 20% yang berfungsi untuk mensterilisasi biji dan menipiskan integumen pada kulit biji sehingga mempermudah imbibisi air dan absorpsi nutrisi. Perendaman sambil dikocok secara pelan dilakukan selama 30 menit lalu dipindahkan ke aquades steril selama 5 menit dan diulangi sebanyak 3 kali. Pada saat biji dipindah dalam aquades steril, pemindahan dilakukan dalam keadaan steril yaitu pada LAF. Perlakuan dilakukan di Laminar Air Flow, biji dalam kertas saring yang telah disterilisasi kemudian diletakkan pada cawan Petri. Lalu biji diambil dengan menggunakan jarum oose dan diinokulasikan pada media cawan Petri. Selanjutnya eksplan diinkubasi dalam ruang kultur

pada suhu 25°C dengan fotoperiode 12 jam terang dan 12 jam gelap selama 3 bulan.

D. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor (faktor 1= jenis media, yaitu VW, KC, dan MS 2= konsentrasi sukrosa, yaitu; 0 g/l ; 10 g/l; 20 g/l; 30 g/l, masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

E. Pengolahan Data

Observasi dilakukan terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji yang pada umumnya meliputi beberapa fase pertumbuhan dari biji menjadi planlet. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah persentase pertumbuhan dan perkembangan biji. Data persentase pertumbuhan dan perkembangan biji dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan jika ada pengaruh maka dilanjutkan dengan uji Tukey. Berikut merupakan persentase pertumbuhan dan perkembangan biji

$$\% \text{ pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek} = \frac{\text{Jumlah biji yang tumbuh dan berkembang pada semua fase}}{\text{Jumlah biji yang diukur}} \times 100\%$$

III. HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini secara deskriptif diketahui biji yang tumbuh pada media VW relatif lebih banyak jika dibandingkan dengan biji anggrek yang ditumbuhkan pada media KC maupun MS. Hasil penelitian ini serupa dengan pernyataan yang dikemukakan oleh [5] bahwa Media tumbuh yang biasa digunakan untuk perkecambahan biji anggrek adalah media *Vacint and Went* (VW). Sedangkan pada hasil penelitian yang dilakukan oleh [63], menjelaskan bahwa media KC merupakan jenis media yang terbaik untuk pertumbuhan biji anggrek *D. capra* berdasarkan total persentase pertumbuhan dan perkembangan yang tertinggi. Sedangkan pada hasil penelitian yang dilakukan oleh [43] menjelaskan bahwa media dasar ½ MS (Murashige dan Skoog, 1962) menghasilkan persentase perkecambahan biji dan pertumbuhan protocorm anggrek *Phalaenopsis amabilis* terbaik dibandingkan formulasi media yang lain (Knudson C, Vacin dan Went, dan hyponex hijau).

Namun, pada penelitian ini secara deskriptif biji anggrek *Dendrobium taurulinum* merespon media *Vacint and Went* (VW) dan juga media Knudson C (KC), sehingga mampu tumbuh dan berkembang hingga mencapai fase 1 yaitu biji membentuk *protocorm*, akan tetapi secara statistika ketiga jenis media tersebut tidak memberikan pengaruh terhadap persentase pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. taurulinum*. Baik biji anggrek yang ditumbuhkan di media VW, KC, dan MS tidak berbeda nyata ($P \geq 0.05$). Pada media

VW rata-rata persentase perkecambahannya sebesar 1,3 %, pada media KC sebesar 0,3 % dan pada media MS sebesar 0 %. Semuanya menunjukkan persentase pertumbuhan biji yang rendah.

Hasil penelitian yang dilakukan pada biji anggrek *D. taurulinum* ini menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi sukrosa yang ditambahkan ke dalam media kultur tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. taurulinum* ($P \geq 0,05$). Rata-rata persentase pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. taurulinum* pada konsentrasi sukrosa 0 g/l sebesar 0,9 %, pada konsentrasi 10 g/l sebesar 0 %, pada konsentrasi 20 g/l sebesar 0,9 % dan pada konsentrasi 30 g/l sebesar 0,4 %.

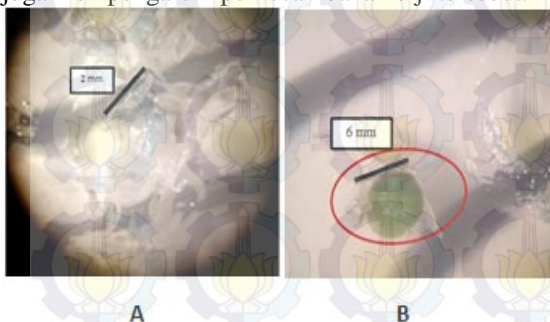
Pada tabel 2 dibawah ini menunjukkan bahwa interaksi antara jenis media dengan penambahan sukrosa pada beberapa tingkat konsentrasi tidak memberikan pengaruh dalam pertumbuhan *Dendrobium taurulinum*.

Tabel 2. Persentase Pertumbuhan Dan Perkembangan Biji *D. taurulinum* Secara In Vitro Pada Beberapa Jenis Media Dan Konsentrasi Sukrosa

Jenis Media	Konsentrasi Sukrosa			
	0 (g/l)	10 (g/l)	20 (g/l)	30 (g/l)
VW	1.3 A	0.0 A	2.7 A	1.3 A
KC	1.3 A	0.0 A	0.0 A	0.0 A
MS	0.0 A	0.0 A	0.0 A	0.0 A

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh secara signifikan dengan uji ANOVA ($P \geq 0,05$). Fase 0: fase dimana biji tidak tumbuh, Total persentase pertumbuhan dan perkembangan biji merupakan total dari persentase fase 1 (biji tumbuh menjadi *protocorm*).

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa secara deskriptif perlakuan interaksi antara jenis media dan konsentrasi sukrosa yang cocok untuk pertumbuhan anggrek pada penelitian ini adalah VW dengan tambahan 20 gr/l Sukrosa, seperti terlihat pada gambar 4 dibawah ini, pada perlakuan VW 20 memiliki hasil yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Telah dijelaskan sebelumnya bahwa sukrosa berperan penting pada pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman, termasuk perkecambahan. Akan tetapi, kadar sukrosa yang dibutuhkan biji untuk berkecambah juga mempengaruhi perkecambahan biji tersebut.



Gambar 5. Fase Pertumbuhan Biji Anggrek *Dendrobium taurulinum*. (A) Gambar Biji Sebelum Berkembang. (B) Biji Berkembang Membentuk *Protocorm* (Dokumentasi Pribadi).

Rendahnya persentase perkecambahan kemungkinan terjadi karena biji yang digunakan kurang viabel karena penyimpanan yang terlalu lama dimana berbeda jenis spesies yang digunakan berbeda juga masa simpan bijinya. Pada penelitian ini biji disimpan kurang lebih sekitar 2 bulan dari masa panen pada tanggal 8 Agustus 2012 hingga inokulasi pada tanggal 30 Oktober 2012. Lamanya penyimpanan biji juga mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dimana biji dapat mengalami kemunduran untuk pertumbuhan jika disimpan dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan penelitian Fadhilah (2012) yang menerangkan bahwa biji *D. capra* yang digunakan pada penelitian tersebut juga memiliki viabilitas menurun akibat biji disimpan selama 8 bulan. Umumnya biji dapat dipertahankan tetap baik dalam jangka waktu yang cukup lama apabila suhu dan kelembaban udara dapat dijaga.

IV. KESIMPULAN

Kisaran persentase pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. taurulinum* adalah 0% sampai 2,7%. Faktor jenis media dan faktor konsentrasi sukrosa tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *Dendrobium taurulinum*, namun secara deskriptif biji anggrek *Dendrobium taurulinum* mampu tumbuh sampai dengan fase 1 yaitu *protocorm*.

V. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Dini Ermavitalini, S.Si.,M.Si dan Ibu Siti Nurfadilah S.Si.,M.Sc., selaku dosen pembimbing. Terima kasih kepada Ibu Dra. Nurlita Abdulghani., S.Si., M.Si, Ibu Ir. Sri Nurhatika, MP dan Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si., Bapak Dr. R.Hendrian, M.Sc. selaku Kepala Kebun Raya Purwodadi-LIPI, Ibu Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si selaku ketua Jurusan Biologi, FMIPA ITS Surabaya beserta teman-teman Biologi ITS angkatan 2007 dan 2008 yang telah memberikan dukungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] 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.
- [2] Arditti, J. dan Abraham DK. 1996. *Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigators*. Botanical Journal of the Linnean Society. 122 : 183 – 241.

- [3] Bechtel, H., P. Cribb, and E. Launert. 1992. *The Manual of Cultivated Orchids Species*. Blandford Press, London. 585 pp.
- [4] Bechtel, H., P.J. Cribb, and E. Launert. 1992. *The Manual of Cultivated Orchid Species. 3rd edition*. Cambridge MA.: The MIT Press.
- [5] Bey Y, Syafii W dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Gibberelin (Ga3) Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* Bl) Secara In Vitro. Jurnal Biogenesis Vol. 2(2):41-46. ISSN : 1829-5460.
- [6] Chase, Mark W. 2009. An Update of The Angiosperm Phylogeny Group Classification for The Orders and Families of Flowering Plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2009, 161, 105–121.
- [7] Cribb, P.J. 1986. *Dendrobium* sect. *Spatulata* Lindl., the correct name for the 'Antelope' dendrobiums. *Orchadian*7(8): 189.
- [8] Damayanti, Farida. 2006. Pembentukan Beberapa Hibrida Anggrek serta Pengaruh Beberapa Media Perkecambahan dan Media Perbanyakannya Secara In Vitro pada Beberapa Anggrek Hibrida. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional.
- [9] Desriatin, Noer Laily. 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.
- [10] Dressler, R. and C. Dodson. 2000. *Classification and phylogeny in Orchidaceae*. *Annals of the Missouri Botanic Garden* 47: 25–67.
- [11] Fadhillah, Nur Aini, Tutik Nurhidayati, dan Siti Nurfadillah. 2012. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Karbohidrat terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji (*Dendrobium capra* J. J. Smith secara In Vitro. Skripsi. Biologi FMIPA ITS, Surabaya.
- [12] Gandawidjaya, D. dan S. Sastrapradja. 1980. *Plasma nutfah Dendrobium asal Indonesia*. Bull. Kebun Raya 4(4): 113–125.
- [13] Gerrits, M. M. dan G.J. De Klerk. 1992. Dry – matter partitioning between bulbs and leaves in plantlets of (*Lilium speciosum*) regenerated in vitro. *Acta Bot. Neerl.* 41(4), December:461–468.
- [14] George, E.F. dan T.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directionary of Commercial Laboratories. England.
- [15] Ginzburg, C and M. Ziv. 1973. *Hormonal regulation of cormel formation in Gladiolus stolons grown in vitro*. *Ann. Bot.*37:219–224.
- [16] Gunawan, L. W. 1990. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- [17] Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi. IPB, Bogor.
- [18] Gunawan, L.W. 2002. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- [19] Hendaryono, Daisy P. 1994. *Teknik Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakannya Tanaman Secara Vegetatif-Modern)*. Kanisius, Yogyakarta.
- [20] Hendaryono, D. P. 2000. *Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Kanisius, Yogyakarta.
- [21] Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 2012. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakannya Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- [22] 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.
- [23] Hoesen, Djadja., Witjaksono., dan Sukanto. 2008. *Induksi Kalus Dan Organogenesis Kultur In Vitro (Dendrobium lineale) Rolfe*. Berita Biologi. 9 (3).
- [24] Jawan, Roslina., Jualang Azlan Gansau., Janna Ong Abdullah. 2010. *In Vitro Culture of Borneo's Endemic Orchid, (Vanda dearei)*. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.* 2010. Vol. 18 (1) : 203-207.
- [25] Katuuk, J.R.P. 1984. *Teknik Kultur Jaringan Dalam Mikropropagasi Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta.
- [26] Katuuk, J.R.P. 2000. *Aplikasi Mikropropagasi Anggrek Macan (Grammatohyllum scriptum) dengan Menggunakan Air Kelapa*. *Jurnal Penelitian IKIP Manado*.1a (iv):290-298
- [27] Kauth, P.J., Vendrame, W.A. and Kane, M.E. 2006. *In vitro seed culture and seedlings development of (Calopogon tuberosus)*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 85: 91-102.
- [28] Knudson, L. 1954. *Storage and viability of orchid seed*. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 22: 260-260.
- [29] Lakitan, Benyamin. 2004. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- [30] Lauzer, S. Renaut, M. St-Arnaud, dan D. Barabe. 2007. "In Vitro Asymbiotic Germination, Protocorm Development, and Plantlet Acclimatization of (*Aplectrum hyemale*) (Muhl. Ex Willd.) Torr. (Orchidaceae)". *Journal of The Botanical Society*, Vol. 134, No. 3 (2007) 344-348
- [31] Luan V.Q., Nguyen Quoc Thien, Dinh Van Khiem, dan Duong Tan Nhut. 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*.
- [32] Majerowicz, N., Kerbauy, G.B., Nievola, C.C. and Suzuki, R.M. 2002. *Growth and nitrogen metabolism of (Cata-setum fimbriatum) (Orchidaceae) grown with different nitrogen sources*. *Environmental and Experimental Botany*. 44: 195-206.
- [33] Morel, G.M. 1974. *Clonal multiplication of Orchids.*, (C. Withner eds.) Scientific Wiley, New York. pp. 169-222.
- [34] Mursidawati, S. 2007. *Asosiasi Mikoriza dalam Konservasi Anggrek Alam*. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. Vol 10. No 1. Hal 24-30.
- [35] McKendrick, Sheena. 2000. *In vitro germination of orchids : a manual*. Copyright Ceiba Foundation for Tropical Conservation.
- [36] Nasruddin, 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.
- [37] 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*.
- [38] N. A. Campbell, J. B. Reece, dan L. G. Mitchell, "Biologi", Erlangga, Jakarta (2003).
- [39] Nowark, B., Miczyński, K. and Hudy, L. 2004. *Sugar uptake and utilization during adventitious bud differentiation on in vitro leaf explants of 'Wegierka Zwykla' plum (Prunus domestica)*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 76: 255-260.
- [40] Park, S., E. Yeung, D. Cakrabarty, K. Paek. 2002. *Efficient Induction of Protocorm Like Bodies from Leaf Subepidermal Cell of Doritaenopsis hybrid using Thin-Section Culture*. *Plant Cell Rep* 21:46-51. DOI 10.1007/s00299-002-0480-x.
- [41] *Phyto Technology Tech*. 2009. *Orchid Seed & Tissue Culture Media Recommendation Guide*. Shawnee Mission.
- [42] Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. MARTINUS Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- [43] Ramadiana, Sri, Rizka Dwi Hidayati, Dwi Hapsoro dan Yusnita. 2007. Pengaruh Pepton Terhadap Pengecambahan Biji Anggrek (*Phalaenopsis amabilis*) Dan *Dendrobium Hybrids* In Vitro. Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Lampung.
- [44] Risna R.A., Y.W.C. Kusuma., D. Widyatmoko., R. Hendrian., D.O. Pribadi . 2010. *Spesies Prioritas*

- Untuk Konservasi Tumbuhan Indonesia. Seri I.* Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI.
- [45] Roy, A. R., R.S. Patel, V.V. Patel, S. Sajeev, dan Bidyut C. Deka. 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.
- [46] Salisbury dan Ross. 1997. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2.* Bandung: Penerbit ITB.
- [47] Sallolo Santy Tresia, I Gusti R. Sadimantara, dan Teguh Wijayanto. 2012. *Pertumbuhan Anggrek (Dendrobium Candy Stripe Lasianthera) Pada media Sapih Vaccin Dan went Secara In Vitro Dengan Penambahan Ekstrak Pisang Raja Dan Fish Emulsion.* Penelitian Agronomi Vol. 1 No. 1, 2012 Hal. 58-62.
- [48] Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman.* Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- [49] Sarkar, Amita. 2009. *Plant Stem Cells.* Dept. Of Zoology Agra College. Agra (U.P.). Discovery Publishing House. India.
- [50] Sarwono, B. 2002. *Mengenal & Membuat Anggrek Hibrida.* Jakarta: Agro Media Pustaka.
- [51] Soeryowinoto, S. M. dan Moeso, S. 1977. *Perbanyakkan Vegetatif pada Anggrek.* Kanisius, Yogyakarta.
- [52] Seaton, Philip. T. 2007. *Establishing A Global Network Of Orchid Seed Banks.* Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3DS, U.K.
- [53] Srilestari, Rina. 2005. *Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah Pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa.* Ilmu Pertanian Vol. 12 No. 1, 2005 : 43-50.
- [54] Sriyanti, D. H. 2000. *Pembibitan Anggrek dalam Botol.* Kanisius, Yogyakarta.
- [55] 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.
- [56] Uesato, K. 1996. *Influences of temperature on the growth of ceratophalae type Dendrobium.* The Organizing Committee of 2nd Asia Pacific Orchid Conference, Ujung Pandang, p. 1–4.
- [57] Wattimena, G.A. 1987. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Lab Kultur Jaringan.* PAU Bioteknologi. IPB, Bogor.
- [58] Wetter, L. R. dan F. Constabel. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman.* Edisi Ke-2 Widiyanto MB, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dar: *Plant Tissue Culture Methods.*
- [59] Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In vitro.* Avery Publishing Group Inc., Wayne, New Jersey.
- [60] Widiastoety dan Purbadi. 2003. *Pengaruh Bubur Ubi Kayu Dan Ubi Jalar Terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek Dendrobium.* *Jurnal Hortikultura.* 13 (1): 1-6.
- [61] Widiastoety, D. dan F.A. Bahar. 1995. *Pengaruh Berbagai Sumber dan Kadar Karbohidrat terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek Dendrobium.* *Jurnal. Hortikultura.* 5(3):76-80.
- [62] Widiastoety, D. dan Surachmat Kusumo dan Syafni. 1997. *Pengaruh tingkat ketuaan air kelapa dan jenis kelapa terhadap pertumbuhan planlet anggrek Dendrobium.* *Jurnal Hortikultura.* 7 (3) : 768 – 772.
- [63] Widiyatmanto, Puput Perdana. 2012. *Pengaruh Jenis Media Dan Konsentrasi Naa (Naphthalene Acetic Acid) Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Biji (Dendrobium capra) J.J Smith Secara In Vitro.* Skripsi. Biologi FMIPA ITS, Surabaya.
- [64] Winata L. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan.* Lab. Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. IPB, Bogor.
- [65] Yukawa dan Uehara. 1996. *Angiosperm Phylogeny Website (Extant Seed Plants/ Spermatophyta).* Diakses melalui <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> pada 12 Agustus 2013, 14.00 WIB.
- [66] Yulia, N. D. dan Ruseani S. Nur. 2008. *Studi Habitat dan Inventarisasi (Dendrobium capra J.J. Smith) di Kabupaten Madiun dan Bojonegoro.* *Biodiversitas* Volume 9, Nomor 3 Halaman: 190-193. ISSN: 1412-033X.
- [67] Zakaria, Doddy. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan BAP (benzil amino purine) dalam Media Murashige Skoog (ms) Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Reserpin Kalus Pule Pandak (Rauwolfia verticillata Lour.).* Skripsi. Biologi FMIPA univ. Sebelas Maret, Surakarta.
- [68] Zulkarnain. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyakkan Tanaman Budi Daya.* PT. Bumi Aksara: Jakarta