

# Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Vitamin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *In Vitro*

Riska Amalia<sup>1</sup>, Tutik Nurhidayati<sup>1</sup>, dan Siti Nurfadilah<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>UPT BKT Kebun Raya Purwodadi-LIPI

Jl. Surabaya-Malang, Km. 65 Purwodadi, Pasuruan 67163

*E-mail:* tutik@bio.its.ac.id

**Abstrak**—Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi vitamin terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *Dendrobium laxiflorum* secara *in vitro*. Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 Faktorial. Faktor pertama adalah jenis vitamin yang terdiri dari thiamin, niasin dan piridoksin sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi vitamin yang digunakan adalah 0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm; 0,5 ppm. Pengamatan dilakukan setelah 3 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total persentase pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* berkisar antara 2,48%-75,66%. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa jenis vitamin dan konsentrasi vitamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* ( $P \leq 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji ANOVA tidak ada interaksi antara jenis dan konsentrasi vitamin.

**Kata Kunci**—Vitamin, *In vitro*, Biji, *Dendrobium laxiflorum*, pertumbuhan dan perkembangan.

## I. PENDAHULUAN

Keanekaragaman spesies anggrek di Indonesia sangat besar, diperkirakan sekitar 5000 spesies anggrek tersebar di hutan-hutan Indonesia [1]. Anggrek memiliki nilai ekonomis yang tinggi bila dibandingkan dengan tanaman hias lainnya. Iklim tropis Indonesia selain cocok untuk hidup anggrek juga sangat potensial untuk menghasilkan anggrek alam yang bermutu [2]. Anggrek *Dendrobium* adalah salah satu tanaman anggota famili Orchidaceae yang banyak digemari oleh konsumen tanaman hias. Popularitas anggrek ini disebabkan oleh aneka warna dan bentuk bunga yang indah, juga disebabkan periode bunga segar yang lebih panjang dibandingkan tanaman hias lainnya [3].

Keberadaan anggrek mulai terancam. Hal ini terjadi karena kolektor-kolektor dan pebisnis tanaman hias banyak yang melakukan pengambilan anggrek alam langsung dari habitat aslinya. Selain itu kerusakan shabitat karena kebakaran hutan, penebangan liar, bencana alam dan alih fungsi hutan menjadi pemukiman juga mendorong kepunahan anggrek alam [4]. Berdasarkan skor total hasil assessment panel pakar Orchidaceae dalam Workshop

Penetapan Spesies Prioritas Konservasi untuk Tumbuhan Indonesia Terancam Kepunahan di Kebun Raya Bogor pada tanggal 2-3 Juni 2009, terdapat 44 jenis anggrek yang terancam kepunahan. Anggrek *Dendrobium laxiflorum* merupakan salah satu anggrek Indonesia terancam kepunahan yang perlu segera mendapatkan aksi dan program konservasi [5].

Salah satu upaya untuk melestarikan anggrek langka *D. laxiflorum* dengan melakukan perbanyakan anggrek. Biji anggrek sulit berkecambah dan berkembang secara alami yang disebabkan oleh ukuran bijinya yang sangat kecil dan hanya terdiri dari embrio dengan beberapa ratus sel serta tidak mempunyai cadangan makanan. Dalam pertumbuhan dan perkembangannya biji anggrek memerlukan nutrisi eksternal. Di alam, biji anggrek hanya dapat tumbuh dan berkembang jika diinfeksi oleh jamur mikoriza yang mensuplai nutrisi ke biji anggrek [3]. Di laboratorium, biji anggrek dapat tumbuh jika disemai pada media yang kaya akan nutrisi melalui kultur biji secara *in vitro*. Metode kultur biji secara *in vitro* merupakan metode yang efektif untuk perbanyakan anggrek langka. Fase pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek melalui beberapa fase yaitu fase 0, dimana biji belum mengalami perkecambahan. Fase 1, terbentuk *protocorm*. Fase 2, *protocorm* dengan primordium daun. Fase 3, munculnya daun pertama. Fase 4, munculnya daun kedua diikuti tumbuhnya akar. Fase 5, pemanjangan daun dan perkembangan selanjutnya membentuk planlet.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek adalah vitamin [6]. Penambahan vitamin ke dalam media kultur biji anggrek yaitu Knudson C (KC) dapat meningkatkan pertumbuhan jaringan dan organ tanaman anggrek [7]. Vitamin berperan dalam proses pertumbuhan sebagai katalisator dalam proses metabolisme. Vitamin yang paling sering digunakan dalam kultur *in vitro* antara lain thiamin (vitamin B<sub>1</sub>), asam nikotinat (vitamin B<sub>3</sub>) dan piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>) [8]. Thiamin (vitamin B<sub>1</sub>) merupakan vitamin yang esensial untuk hampir semua kultur

*in vitro* untuk mempercepat pembelahan sel. Thiamin berfungsi sebagai koenzim dalam metabolisme karbohidrat serta meningkatkan aktivitas hormon yang terdapat dalam jaringan tanaman, selanjutnya hormon tersebut akan mendorong pembelahan sel-sel baru [9]. Asam nikotinat atau yang umum dikenal dengan niasin (vitamin B<sub>3</sub>) berfungsi sebagai komponen koenzim Nikotinamida Adenin Dinukleotida (NAD) dan Nikotinamida Adenin Dinukleotida Fosfat (NADP) yang berada di semua sel dan berperan sebagai faktor berbagai oksidoreduktase yang terlibat dalam glikolisis dan metabolisme asam lemak. Piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>) merupakan salah satu vitamin B<sub>6</sub> yang terdapat di alam. Piridoksin dengan asam nikotinat dan biotin mampu memacu proses perkecambahan [10]. Vitamin B<sub>6</sub> berperan penting dalam reaksi biokimia, khususnya dalam metabolisme asam amino [11].

Penelitian yang menggunakan thiamin (vitamin B<sub>1</sub>) dengan konsentrasi tertentu dalam kultur *in vitro* yaitu penelitian tentang thiamin antara 0,5-1,0 ppm pada media Vacin and Went dapat meningkatkan tinggi planlet, panjang akar, jumlah akar, jumlah daun dan luas daun anggrek *Oncidium* [8]. Penelitian lain menyebutkan bahwa keberadaan thiamin menentukan pengaruh kelangsungan hidup dan pertumbuhan protocorm sedangkan untuk kelompok piridoksin, niasin dan biotin mampu meningkatkan perkecambahan [12]. Pada penelitian yang menggunakan piridoksin dan niasin masih jarang ditemukan, oleh karena itulah penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi beberapa vitamin (thiamin, niasin dan piridoksin) terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. laxiflorum*.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai bulan Oktober 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 laxiflorum* koleksi UPT BKT Kebun Raya Purwodadi - LIPI. Media Knudson C. Jenis vitamin yang digunakan yaitu thiamin (vitamin B<sub>1</sub>), niasin (vitamin B<sub>2</sub>) dan piridoksin (vitamin B<sub>3</sub>), alkohol 70%, clorox 20%.

### C. Sterilisasi Biji 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 vitamin, yaitu thiamin, niasin, piridoksin dan faktor 2= konsentrasi vitamin, yaitu; 0 ppm (kontrol); 0,1 ppm; 0,3 ppm; 0,5 ppm, masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

### E. Pengambilan 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 [13].

$$\% \text{ Pertumbuhan Biji} = \frac{\text{Jumlah biji pada fase tertentu}}{\text{Jumlah total biji yang ditabur}} \times 100\%$$

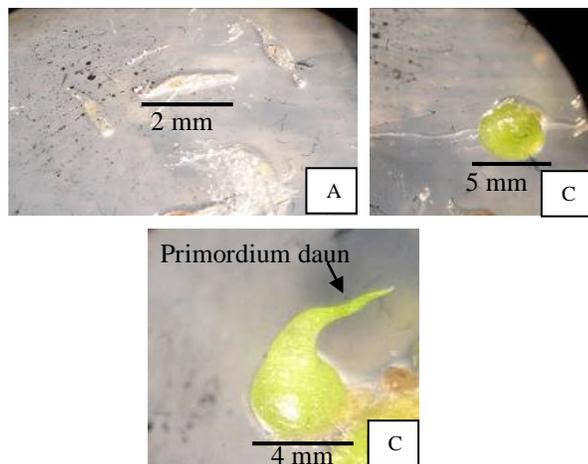
## III. HASIL DAN DISKUSI

Pertumbuhan dan perkembangan merupakan proses yang berkelanjutan mengarah ke karakteristik morfogenesis spesies. Respon pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek ketika ditabur pada media agar yang kaya akan nutrisi dapat berkecambah serta tumbuh dan berkembang menjadi planlet. Deskripsi fase pertumbuhan dan perkembangan biji mulai dari fase 0 sampai dengan fase 5. Pada fase 0, biji tidak mengalami pertumbuhan dan perkembangan karena masih berupa biji yang lengkap dengan pelindung biji. Pertumbuhan dan perkembangan dimulai pada fase 1 yaitu biji berkembang menjadi protocorm. Perkembangan selanjutnya yaitu terbentuknya primordium daun pada bagian atas protocorm (fase 2). Primordium daun berkembang menjadi daun pertama dan akar (fase 3). Kemudian diikuti dengan munculnya beberapa daun (fase 4). Tahap terakhir yaitu elongasi daun pertama dan perkembangan selanjutnya terbentuk planlet (fase 5) [14] (Gambar 1).

Biji *D. laxiflorum* pada penelitian ini berkembang melalui beberapa fase pertumbuhan dan perkembangan, seperti halnya anggrek lain pada umumnya. Berikut ini adalah hasil pengamatan terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek dalam waktu 3 bulan (90 hari) setelah inokulasi pada

Tabel 1.  
Rancangan percobaan pada jenis dan konsentrasi vitamin

Jenis Vitamin (V)	Thiamin (V <sub>1</sub> )	Niasin (V <sub>2</sub> )	Piridoksin (V <sub>3</sub> )
Konsentrasi (mg/L) (K)			
0,1 (K <sub>1</sub> )	V <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	V <sub>2</sub> K <sub>1</sub>	V <sub>3</sub> K <sub>1</sub>
0,3 (K <sub>2</sub> )	V <sub>1</sub> K <sub>2</sub>	V <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	V <sub>3</sub> K <sub>2</sub>
0,5 (K <sub>3</sub> )	V <sub>1</sub> K <sub>3</sub>	V <sub>2</sub> K <sub>3</sub>	V <sub>3</sub> K <sub>3</sub>



Gambar 1. Fase pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. a. tidak terjadi perkecambahan dan biji masih terlindung dengan pelindung biji; b. protocorm melalui proses pembesaran biji dan pecahnya pelindung biji; c. protocorm dengan primordium daun [14].

media KC. Dalam waktu 3 bulan biji tumbuh dan berkembang sampai dengan fase 2.

Pada penelitian ini, respon pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* yang ditanam pada media Knudson C dengan perlakuan penambahan jenis vitamin (thiamin, niasin dan piridoksin) dan konsentrasi vitamin (0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm; 0,5 ppm) diamati setelah 3 bulan inokulasi biji. Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* pada tiap fasenya disajikan dalam Tabel 2.

Pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek melalui kultur biji secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu diantaranya adalah vitamin (bahan organik). Vitamin berperan penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Pada penelitian ini, rata-rata persentase pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* berkisar antara 2,48% - 75,66% (Tabel 2). Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji pada media tanpa penambahan vitamin memiliki persentase yang lebih rendah dibandingkan media dengan penambahan vitamin. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin merupakan senyawa organik yang mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*.

Tabel 2.  
Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* setelah 3 bulan inokulasi

Perlakuan	Pertumbuhan dan Perkembangan Biji (%)		
	Fase 1	Fase 2	Fase 3
V <sub>1</sub> K <sub>0</sub>	1,59 (±1,94)b	0,89 (±1,09)b	2,48c
V <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	51,60 (±11,42)a	24,06 (±8,98)a	75,66a
V <sub>1</sub> K <sub>2</sub>	42,92 (±3,53)a	13,30 (±3,94)ab	56,22b
V <sub>1</sub> K <sub>3</sub>	47,60 (±0,31)a	18,22 (±5,69)a	65,82ab
V <sub>2</sub> K <sub>0</sub>	1,59 (±1,94)b	0,89 (±1,09)b	2,48c
V <sub>2</sub> K <sub>1</sub>	42,41 (±8,00)a	11,05 (±0,59)ab	53,47b
V <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	33,80 (±2,80)a	15,08 (±0,02)ab	48,88b
V <sub>2</sub> K <sub>3</sub>	47,84 (±2,95)a	10,93 (±2,46)ab	58,77ab
V <sub>3</sub> K <sub>0</sub>	1,59 (±1,94)b	0,89 (±1,09)b	2,48c
V <sub>3</sub> K <sub>1</sub>	42,68 (±2,18)a	13,34 (±4,47)ab	57,69b
V <sub>3</sub> K <sub>2</sub>	40,75 (±3,65)a	12,68 (±2,31)ab	5a3,43b
V <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	43,88 (±5,37)a	9,76 (±1,27)ab	54,83b

Vitamin merupakan senyawa organik yang dibutuhkan oleh makhluk hidup dalam jumlah sedikit karena bekerja sebagai katalisator pada proses metabolisme [15]. Vitamin berfungsi sebagai komponen koenzim atau gugus prostetik enzim lainnya [15]. Koenzim adalah senyawa organik yang membantu fungsi enzim namun tidak terikat kuat pada molekul protein penyusun enzim dan bersifat tidak permanen sedangkan gugus prostetik adalah senyawa organik yang terikat erat pada molekul protein enzim untuk aktivitas katalisis enzim [16]. Jenis vitamin yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin B yang larut dalam air, meliputi thiamin (vitamin B<sub>1</sub>), niasin (vitamin B<sub>3</sub>) dan piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>).

Pada semua perlakuan di penelitian ini, biji yang ditabur dalam media KC selama 3 bulan mampu tumbuh dan berkembang sampai dengan fase 2. Pada fase 0 biji masih terlindungi oleh kulit biji dan belum mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Selanjutnya pada fase 1, biji mengalami pertumbuhan yang ditandai dengan terjadinya imbibisi air yang menyebabkan pecahnya kulit biji sehingga air dapat diserap oleh biji dan membentuk bulatan-bulatan berwarna hijau kekuningan yang disebut protocorm. Pada fase ini, persentase pertumbuhan dan perkembangan biji pada tiap perlakuan tidak berbeda nyata. Hal ini terlihat dengan adanya notasi yang sama pada tiap perlakuan kecuali pada kontrol (Tabel 2). Berdasarkan tabel tersebut dapat dikatakan bahwa pada fase 1 untuk semua perlakuan kecuali pada kontrol, semua jenis dan konsentrasi vitamin yang diberikan efektif untuk mendorong terbentuknya protocorm. Sedangkan pada fase 2 merupakan tahapan dimana biji anggrek tumbuh dan berkembang menjadi primordium daun. Pada fase ini, protocorm mengalami diferensiasi membentuk primordium daun sehingga akan tumbuh menjadi daun yaitu pada fase 3. Protocorm membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm [2]. Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji pada fase 2 terlihat berbeda nyata yaitu pada perlakuan thiamin 0,1

ppm dan thiamin 0,5 ppm memiliki notasi yang berbeda dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Perbedaan notasi ini terjadi karena kedua perlakuan tersebut memiliki persentase pertumbuhan dan perkembangan biji yang lebih tinggi yaitu 24,06% dan 18,22% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dapat dikatakan bahwa pada fase 2, thiamin dengan konsentrasi 0,1 ppm dan 0,5 ppm mampu memacu proses terbentuknya primordium daun.

Pada penelitian ini biji *D. laxiflorum* hanya mampu tumbuh dan berkembang sampai dengan fase 2. Hal ini terjadi karena kemampuan kecepatan tumbuh dan berkembang dari biji berbeda antara spesies yang satu dengan spesies lainnya. Salah satu faktor internal yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan yaitu pengaruh langsung gen [17]. Pada proses pertumbuhan dan perkembangan, program-program yang dapat diwariskan yang berbentuk DNA menentukan pola pertumbuhan dan perkembangan sehingga memproduksi organisme dengan karakteristik yang hanya dimiliki oleh spesiesnya [18]. Dalam genus yang sama belum tentu memiliki kemampuan tumbuh dan berkembang dalam waktu yang sama.

Perlakuan penambahan thiamin (vitamin B<sub>1</sub>) dengan konsentrasi 0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm 0,5 ppm menunjukkan persentase pertumbuhan biji *D. laxiflorum* berturut-turut yaitu 2,48%; 75,66%; 56,22%; 65,82% dengan pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* hanya mencapai fase 2. Fase 2 merupakan tahapan dimana biji anggrek tumbuh dan berkembang menjadi protocorm dengan primordium daun. Dari persentase tersebut terlihat bahwa penambahan thiamin dengan konsentrasi rendah (0,1 ppm) mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. Pada media tanpa adanya penambahan vitamin, biji mampu menjadi protocorm tetapi secara pelan-pelan muncul tanda-tanda nekrosis karena thiamin dalam bentuk thiamin pirofosfat sangat berperan dalam proses respirasi yang diperlukan untuk pembentukan kloroplas [8].

Penambahan niasin (vitamin B<sub>3</sub>) dengan konsentrasi 0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm 0,5 ppm menunjukkan persentase pertumbuhan biji *D. laxiflorum* berturut-turut yaitu 2,48%; 53,47%; 48,88%; 58,77%. Dari data tersebut terlihat bahwa pada semua perlakuan (kontrol maupun dengan penambahan vitamin) mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. Persentase pertumbuhan dan perkembangan terendah pada kontrol sedangkan persentase tertinggi pada perlakuan niasin 0,5 ppm. Berbeda dengan perlakuan thiamin, pemberian thiamin dengan konsentrasi rendah mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan biji. Media dengan penambahan niasin dan kontrol mampu tumbuh dan berkembang sampai dengan fase 2 yaitu pada tahap protocorm dengan primordium daun. Kecepatan pertumbuhan dan perkembangan biji pada kontrol dan perlakuan penambahan niasin memberikan perbedaan persentase pertumbuhan dan perkembangan biji. Pemberian niasin dengan konsentrasi tertinggi yaitu 0,5 ppm mampu

memacu pertumbuhan dan perkembangan biji yang optimal sehingga mencapai persentase pertumbuhan dan perkembangan yang tertinggi yaitu 58,77%.

Perlakuan penambahan piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>) dengan konsentrasi 0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm 0,5 ppm menunjukkan persentase pertumbuhan biji *D. laxiflorum* berturut-turut yaitu 2,48%; 57,69%; 53,43%; 54, 83%. Berdasarkan hasil persentase yang diperoleh terlihat bahwa piridoksin mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. Persentase pertumbuhan dan perkembangan tertinggi pada konsentrasi 0,1 ppm yaitu 57,69%. Hal ini sama dengan pemberian thiamin dengan konsentrasi 0,1 ppm mampu memberikan pengaruh optimal pada pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*.

Berdasarkan hasil uji ANOVA (Analysis of Variance) menunjukkan bahwa jenis vitamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* secara *in vitro* ( $P \leq 0,05$ ). Pada penelitian ini, masing-masing jenis vitamin (thiamin, niasin, piridoksin) memberikan respon pertumbuhan dan perkembangan yang berbeda pada biji *D. laxiflorum*. Persentase pertumbuhan biji tertinggi pada pemberian vitamin jenis thiamin dibandingkan dengan niasin dan piridoksin.

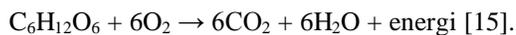
Hasil uji ANOVA juga menunjukkan bahwa konsentrasi vitamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* ( $P \leq 0,05$ ). Pemberian vitamin dengan konsentrasi 0 ppm; 0,1 ppm; 0,3 ppm; 0,5 ppm memberikan pengaruh yang berbeda-beda tergantung pada interaksinya dengan jenis vitamin (thiamin, niasin, piridoksin). Penambahan vitamin dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol) mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* sampai dengan fase 2 (protocorm dengan primordium daun) namun memiliki persentase pertumbuhan dan perkembangan biji yang sangat rendah yaitu 2,48%. Persentase pertumbuhan dan perkembangan biji yang rendah diduga karena metabolisme tidak berjalan dengan maksimal tanpa adanya vitamin dalam media tersebut. Pada penelitian ini, perlakuan thiamin menunjukkan persentase total pertumbuhan dan perkembangan tertinggi yaitu 75,66% dengan konsentrasi rendah yaitu 0,1 ppm. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi 0,5 ppm persentase pertumbuhan dan perkembangan biji menurun yaitu 65,82%. Perlakuan niasin dengan konsentrasi tinggi 0,5 ppm mampu memberikan persentase total pertumbuhan dan perkembangan yang tertinggi yaitu 58,77%. Sedangkan pada konsentrasi rendah 0,1 ppm persentase pertumbuhan dan perkembangan menurun yaitu 53,47%. Perlakuan piridoksin pada konsentrasi rendah 0,1 ppm memberikan persentase pertumbuhan dan perkembangan biji tertinggi yaitu 57,69%. Sedangkan persentase pertumbuhan dan perkembangan biji terendah pada konsentrasi 0,2 ppm yaitu 53,43%. Pada perlakuan thiamin, niasin maupun piridoksin, konsentrasi 0,3 ppm memberikan pengaruh persentase pertumbuhan dan perkembangan biji terendah. Setelah konsentrasi ditambahkan menjadi 0,5 ppm, persentase pertumbuhan dan perkembangan biji menjadi meningkat. Hal ini dapat

dikatakan bahwa, konsentrasi thiamin, niasin dan piridoksin yang optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* yaitu 0,1 ppm dan 0,5 ppm.

Selanjutnya untuk interaksi antara jenis dan konsentrasi vitamin berdasarkan uji ANOVA nilai  $P \geq 0,05$  tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pemberian interaksi jenis dan konsentrasi vitamin pada tiap perlakuan tidak berbeda nyata. Perbedaan persentase total pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum* yang mencolok hanya terlihat pada kontrol. Sedangkan pada perlakuan vitamin untuk tiap perlakuan yang diberikan tidak memiliki perbedaan yang nyata.

Pada proses perkecambahan biji angrek, keberadaan thiamin berperan dalam mengoptimalkan aktivitas respirasi yang penting untuk menghasilkan energi yang mutlak diperlukan dalam metabolisme untuk pertumbuhan dan perkembangan.

Secara umum proses respirasi seluler terlihat pada reaksi berikut :



Respirasi seluler memiliki beberapa tahapan, diantaranya adalah glikolisis, siklus Krebs, rantai transpor elektron dan fosforilasi oksidatif [18]. Dua tahapan pertama, glikolisis dan siklus Krebs merupakan jalur katabolik yang menguraikan glukosa dan bahan organik lainnya. Koenzim yang berasal dari thiamin adalah thiamin pirofosfat (TPP) yang dibutuhkan untuk dekarboksilasi oksidatif yaitu piruvat menjadi asetil KoA dan memungkinkan masuknya substrat yang dapat di oksidasi ke dalam siklus Krebs untuk pembentukan energi [16]. Siklus Krebs merupakan oksidasi (lepasnya  $CO_2$ ) dari piruvat (hasil reaksi glikolisis) [19]. Kemudian unit asetat dengan 2-C yang tersisa bergabung dengan suatu koenzim A untuk membentuk asetil KoA. Di samping kehilangan  $CO_2$ , juga dibebaskan 2 atom H dari asam piruvat selama pembentukan asetil KoA. Enzim yang berperan dalam pembentukan reaksi asetil KoA ini adalah asam piruvat dehidrogenase. Siklus Krebs menyempurnakan proses ini dengan menguraikan turunan piruvat menjadi karbon dioksida [18]. Dengan demikian karbon dioksida yang dihasilkan oleh respirasi merupakan fragmen molekul organik yang teroksidasi. Sebagian tahap glikolisis dan siklus Krebs ini merupakan reaksi redoks dimana enzim dehidrogenase mentransfer elektron dari substrat ke  $NAD^+$  dan membentuk NADH. Pada langkah ketiga respirasi, rantai transport elektron menerima elektron dari produk hasil perombakan kedua langkah yang pertama tersebut (biasanya melalui NADH) dan melewatkan elektron ini dari satu molekul ke molekul lain. Pada akhir rantai ini, elektron digabungkan dengan ion hidrogen dan oksigen molekuler untuk membentuk air. Energi yang dilepas pada setiap langkah tersebut disimpan dalam suatu bentuk yang digunakan oleh mitokondria untuk membuat ATP.

Tempat transport elektron dan fosforilasi oksidatif ialah membran dalam mitokondria. Fosforilasi bertanggung jawab atas hampir 90% ATP yang dihasilkan oleh respirasi.

Respirasi menukar satuan energi yang besar yang ditumpuk dalam glukosa dengan satuan perubahan kecil ATP yang lebih praktis untuk digunakan sel dalam melakukan kerjanya [18].

Pemberian niasin pada media kultur mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan biji *D. laxiflorum*. Niasin memiliki turuna alami yaitu nikotinamida. Nikotinamida merupakan gugus aktif dari koenzim NAD dan NADP. Koenzim-koenzim ini terdapat dalam bentuk teroksidasi ( $NAD^+$  dan  $NADP^+$ ) dan tereduksi (NADH dan NADPH). Komponen nikotinamida koenzim ini berperan sebagai pembawa sementara ion hidrida (pentransfer gugus H) yang dipindahkan secara enzimatik dari molekul substrat oleh kerja dehidrogenase tertentu. Reaksi enzimatik tersebut adalah reaksi yang dikatalisa oleh dehidrogenase malat yang menyebabkan dehidrogenase malat menghasilkan oksaloasetat. Tahap ini terjadi pada oksidasi karbohidrat dan asam lemak. Enzim ini mengkatalisa pemindahan balik ion hidrida dari malat ke  $NAD^+$  membentuk NADH. Sedangkan atom hidrogen lainnya meninggalkan gugus hidroksil malat dan muncul sebagai ion  $H^+$  bebas. Pada kebanyakan dehidrogenase NAD atau NADP hanya sementara terikat pada protein enzim selama proses katalitik tetapi pada beberapa dehidrogenase koenzim terikat erat pada sisi aktif enzim secara permanen [20]. Dengan demikian niasin merupakan komponen kunci pada banyak lintasan metabolik seperti pada metabolisme karbohidrat dan lipid.

Piridoksin berperan dalam metabolisme protein. Piridoksin yang diberikan dalam bentuk piridoksin HCl memiliki bentuk aktif yaitu piridoksal fosfat. Piridoksal fosfat berfungsi sebagai gugus prostetik yang berikatan kuat pada sejumlah enzim yang mengkatalisa reaksi asam amino. Reaksi paling umum yaitu reaksi transaminasi yang melibatkan pemindahan balik gugus amino dari suatu asam  $\alpha$  amino ke atom  $\alpha$  karbon pada asam  $\alpha$  keto. Pada reaksi tersebut yang dikatalisa oleh enzim yang disebut transaminase atau aminotransferase, Piridoksal fosfat yang terikat kuat berfungsi sebagai pembawa sementara gugus amino dari senyawa donor, yaitu asam  $\alpha$  amino, menuju senyawa penerima gugus amino, yaitu asam  $\alpha$  keto. Pada siklus katalitik transaminase, gugus amino dari substrat  $\alpha$  amino dipindahkan ke piridoksal fosfat yang terikat enzim. Turunan amino dari koenzim yang dihasilkan piridoksamin fosfat memberi gugus amino ke substrat kedua, asam  $\alpha$  keto dan koenzim kembali ke bentuk piridoksal fosfatnya. Transaminasi seperti ini dapat terjadi pada salah satu dari berbagai jenis asam amino ke  $\alpha$  ketoglutarat yang bekerja sebagai penerima gugus amino secara umum untuk menghasilkan asam glutamat, suatu metabolit pusat di dalam metabolisme asam amino [20].

Beberapa senyawa dalam reaksi-reaksi respirasi (baik glikolisis maupun siklus Krebs) merupakan senyawa awal untuk sintesis berbagai senyawa yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman. Beberapa senyawa yang disintesis

tersebut adalah makromolekul seperti lipid, protein, klorofil dan asam nukleat yang membutuhkan ATP pada proses sintesisnya [19]. Adanya proses metabolisme maka akan terjadi pertumbuhan. Reaksi metabolisme dalam tanaman menghasilkan ribuan senyawa untuk membentuk organ seperti daun, batang dan akar, dan struktur lain yang terdapat pada tanaman [21].

#### IV. KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah jenis vitamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. laxiflorum* secara *in vitro*, vitamin yang dapat menginduksi persentase pertumbuhan biji tertinggi adalah thiamin, diikuti dengan niasin dan piridoksin. Sedangkan konsentrasi vitamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji anggrek *D. laxiflorum*. Pada konsentrasi 0 ppm (kontrol) pertumbuhan dan perkembangan rendah (2,48%) dibandingkan dengan penambahan vitamin (0,1; 0,3 dan 0,5) memiliki persentase pertumbuhan yang tinggi yaitu 48,88%-75,66%. Jenis dan konsentrasi vitamin yang terbaik yaitu 0,1 ppm. Tidak terdapat interaksi antara jenis vitamin dan konsentrasi ( $P \geq 0,05$ ).

#### V. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ibu Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si dan Ibu Siti Nurfadilah S.Si., M.Sc., selaku dosen pembimbing. Terima kasih kepada Bapak Mukhammad Muryono, S.Si., M.Si, Ibu Ir. Sri Nurhatika, MP dan Ibu Dini Ermavitalini, 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 2008 yang telah memberikan dukungannya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] E. Panjaitan, *Respon Pertumbuhan Tanaman Anggrek Dendrobium sp. terhadap Pemberian BAP dan NAA secara in Vitro*, Medan: Fakultas Pertanian UMI (2005).
- [2] Y.Bey, W. Syafii dan Sutrisna, *Pengaruh Pemberian Giberelin (GA<sub>3</sub>) dan Air Kelapa terhadap Perkecambah Bahan Biji Anggrek Bulan Phalaenopsis amabilis BL secara In Vitro*, Riau: Laboratorium Botani Jurusan PMIPA FKIP Universitas Riau (2006).
- [3] Marveldani, *Pengaruh Formulasi Media Kultur terhadap Pertumbuhan Protocorm Anggrek Dendrobium secara In Vitro*, Bandar Lampung: Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan Politeknik Negeri Lampung (2009).
- [4] N.D Yulia dan N.S. Ruseani, *Studi Habitat dan Inventarisasi Dendrobium capra J.J. Smith di Kabupaten Madiun dan Bojonegoro*, Pasuruan: UPT BKT Kebun Raya Purwodadi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) (2008).
- [5] A. R. Risma, Y.W.C. Kusuma., D. Widyatmoko., R. Hendrian., D.O. Pribadi, *Spesies Prioritas untuk konservasi tumbuhan Indonesia*. Seri I, Bogor: Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor LIPI (2010).
- [6] J.Arditti, *Micropropagation of Orchids*, California: Universitas of California (1967).
- [7] R. Vasudevan, dan J. Van Staden, *In Vitro Asymbiotic Seed Germination and Seedling Growth of Ansellia africana Lindl.*, Pietermaritzburg: *Research Centre for Plant Growth and Development School of*

- Biological and Conservation Sciences University of KwaZulu-Natal* (2010).
- [8] D.Widiastoety, N. Solvia dan S. Kartikaningrum, *Pengaruh Thiamin terhadap Pertumbuhan Anggrek Oncidium secara in Vitro*, Cianjur: *Balai Penelitian Tanaman Hias* (2008).
- [9] R. Srilestari, *Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa*, Yogyakarta: Fakultas Pertanian UPN "Veteran" (2005).
- [10] M.M. Hossain, Madhu S., Jaime A. Teixeira da Silva, Promila P, *Seed Germination and Tissue Culture of Cymbidium giganteum Wall. ex Lindl.*, Bangladesh: *Department of Botany University of Chittagong 4331* (2010).
- [11] Havaux, M., Brigitte, Agnieszka S., Dominique R., Fabrice F., Stefano C., Christian T, *Vitamin B<sub>6</sub> Deficient Plants Display Increased Sensitivity to High Light and Photo-Oxidative Stress*, France: *BMC Plant Biology* (2009).
- [12] Mead, J. W. and C. Bulard, *Vitamins and Nitrogen Requirements of Orchis laxiflora Lamk*, France: *Laboratoire de Physiologie Vegetale Universite de Nice 28 Avenue Valrose 06034 Nice Cedex* (1979).
- [13] Roy, A.R., R.S. Patel, V.V. Patel, S. Sajeev, Bidyut C.D, *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, India: Research Complex for NEH Region Umiam Meghalaya 793 103* (2011).
- [14] S.Nurfadilah, *The Effect of light on the germination and the growth of the seeds of Dendrobium spectabile Bl (Orchidaceae) in vitro*, Pasuruan: *Purwodadi Botanic Gardens-Indonesian Institute of Sciences* (2011).
- [15] F. B.Salisbury dan C. W. Ross, *Fisiologi Tumbuhan Jilid I* (di terjemahkan oleh Diah R, Lukman dan Sumaryono). Bandung: ITB (1995).
- [16] R.S. Iswari dan A. Yuniastuti, *Biokimia*, Yogyakarta : Graha Ilmu (2006).
- [17] F. P.Gardner, R. B. Pearce, dan R.L. Mitchell, *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Jakarta: UI Press (1991).
- [18] A. Campbell, Neil, J. B. Rece, L. G. Mitchell, *Biologi*, Jakarta: Erlangga (2002).
- [19] B. Lakitan, *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*, Jakarta: PT Raja Grafindo (1993).
- [20] A.L. Lehninger, *Principles of Biochemistry*. Maryland: Worth Publisher Inc (1982).
- [21] Amilah dan Yuniastuti, *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin and Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan Phalaenopsis amabilis, L., Jakarta: Universitas Mercu Buana* (2006).