

Induksi tunas krisan “Sakuntala” secara kultur *in vitro*

Induction of “Sakuntala” chrysanthemum bud using in-vitro culture

Tutut Wirawati, Ari Wijayani dan Rina Srilestari**
Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta

ABSTRACT

The research was to determine the best combination of Chrysanthemum explant and concentrations of BAP (6 - benzyl amino purine), the effect of the explant material and the effect concentrations of BAP (6 - benzyl amino purine) in vitro culture by Murashige and Skoog medium. The experimental method was Completely Randomized Design (CRD) which consisted of two factors. The first factor is the explant material, consisting of three standards are: P1 = node, P2 = shoots, P3 = leaf. The second factor is the concentration of BAP which consists of four levels, namely: B1 = 0.5 ppm, 1.0 ppm = B2, B3 = 1.5 ppm, B4 = 2.0 ppm. The results showed there were significant interaction on fresh weight, dry weight, number of shoots and length of shoots. The treatment combination between bud explants with BAP 0.5 ppm, showed the best results on fresh weight, number of shoots and long shoots. Use of explant shoots, can accelerate the current growth of shoots, expanding the number and length of root buds. The addition of plant growth regulators BAP 0.5 ppm in the tissue culture medium, can spur the rapid growth of shoots, root number and length of root best.

Key words : in vitro, chrysanthemum, kinds of eksplant, the concentration of BAP

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk menentukan kombinasi bahan eksplan dan konsentrasi BAP (6 – benzyl amino purine) terbaik dalam kultur in vitro krisan (Chrysanthemum morifolium L.) pada media Murashige dan Skoog., pengaruh eksplan dan pengaruh konsentrasi BAP (6 - benzyl amino purine). Metode penelitian percobaan laboratorium yang disusun secara faktorial. Rancangan lingkungan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Faktor pertama adalah bahan eksplan, terdiri atas tiga taraf yaitu : P₁ = nodus, P₂ = pucuk, P₃ = daun. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri atas empat taraf, yaitu : B₁ = 0,5 ppm, B₂ = 1,0 ppm, B₃ = 1,5 ppm, B₄ = 2,0 ppm. Hasil penelitian menunjukkan terdapat interaksi yang nyata pada bobot basah, bobot kering, jumlah tunas dan panjang tunas. Eksplan pucuk dan bap 0,5 ppm merupakan kombinasi terbaik untuk bobot basah, jumlah tunas dan panjang tunas. Pucuk merupakan eksplan terbaik untuk saat tumbuh tunas, jumlah dan panjang akar penambahan zat pengatur tumbuh BAP 0,5 ppm pada media kultur merupakan konsentrasi terbaik untuk saat tumbuh tunas, jumlah dan panjang akar..

kata kunci : in vitro, krisan, macam eksplan, konsentrasi BAP

*Alamat korespondensi, email: tututwirawati@yahoo.com;
Fax:+62 274 486693

Pendahuluan

Krisan (*Chrysanthemum sp.*) merupakan salah satu jenis tanaman hias. Nilai estetika tinggi yang dimiliki oleh krisan terletak pada warna bunga dan bentuk bunganya yang beraneka ragam, sehingga hal ini menjadikan krisan mempunyai daya tarik tersendiri bagi konsumen (Broto *et al.*, 1994).

Di pasaran dunia dan pasar dalam negeri krisan termasuk salah satu jenis bunga potong yang penting. Kebutuhan akan bunga krisan yang semakin bertambah dari tahun ketahun ternyata tidak diimbangi dengan hasil produksi bunga krisan di Indonesia yang masih rendah, sehingga belum dapat memenuhi kebutuhan permintaan masyarakat. Untuk mengimbangi permintaan konsumen, Indonesia harus mengimpor dari negara lain senilai 4.068.000 us \$ (dir. Bina prod. Hort., 1992 *cit* andrisari, 2003). Peningkatan permintaan tidak hanya terhadap kuantitasnya melainkan juga kualitas yang lebih baik salah satu kultivar krisan yang banyak ditanam petani bunga adalah kultivar sakuntala. Keunggulan dari kultivar sakuntala terletak pada tipe bunganya termasuk dekoratif, berwarna kuning cerah, diameter bunga mekar cukup besar (12,8 cm), serta jumlah bunga pita mencapai 230 helai per kuntum (Anonim, 2000).

Salah satu usaha untuk meningkatkan produksi krisan adalah dengan menggunakan teknik kultur jaringan (*in vitro*) yaitu perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian jaringan tanaman pada media tanam buatan dan dalam lingkungan steril (Soeryowinoto, 1987). Keuntungan kultur jaringan yaitu dapat diperoleh bibit bebas hama dan patogen, mempunyai sifat sama dengan induknya dan dapat tersedia dalam jumlah yang berlipat dalam waktu relatif singkat (widarto, 1996). Sebaliknya perbanyakan tanaman secara *in vitro* mempunyai keterbatasan, salah satunya keterlambatan pertumbuhan akibat medium dan bahan eksplan yang digunakan tidak cocok

untuk pertumbuhannya. George dan Sherrington (1984), faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro* dapat dikelompokkan dalam bagian penting yaitu bahan eksplan, media, zpt dan lingkungan.

Pada teknik *in vitro* semua jenis sel dapat ditumbuhkan, namun sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda, ujung akar, ujung batang atau keping biji karena pada jaringan muda ini terdapat hormon yang mengatur pembelahan sel sehingga keadaannya masih meristematik (Yusnita, 2003). Eksplan melati dari tangkai muda menghasilkan pertumbuhan kalus yang lebih baik dibanding eksplan dari daun muda (Wahyurini, 2002). Pemakaian zat pengatur tumbuh dalam media kultur *in vitro* dapat merangsang terjadinya pembesaran dan pembelahan sel, sehingga terbentuk suatu massa sel yang disebut kalus. Menginduksi kalus merupakan salah satu langkah penting untuk merangsang terjadinya diferensiasi sel menjadi akar dan tunas. Menurut Pierik (1987), auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang biasanya dibutuhkan dalam media kultur *in vitro* dan diberikan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan. Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang mempunyai peranan dalam proses pembelahan sel, pembesaran sel dan diferensiasi jaringan bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (6-aminopurine) (Lakitan, 1996). Hidayat (2002), penambahan auksin 0,5 ppm dan sitokinin 1,0 ppm pada media murashige dan skoog memberikan pertumbuhan yang baik eksplan pisang kepok kuning. Penambahan naa 0,5 ppm dan bap 2 ppm pada media alami kentang menunjukkan perkembangan terbaik terhadap eksplan batang bawah tanaman anggrek *Dendrobium sp* (Luthfika, 2001).

Meldia *et al.* (1992), menginformasikan bahwa pada media ms yang ditambah 2,0 ppm bap dapat menginduksi kalus eksplan malai bunga

pisang sebanyak 20%. Setyati *et al.* (1986), penggunaan iaa 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan bap 5 mg/l menunjukkan adanya peningkatan jumlah tunas dan *protocorm like bodies (plb)* pada pertumbuhan dan perkembangan eksplan tanaman anggrek *cattleya* sp. Wijayani (1993), menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 2,4 d 2 mg/l dengan kinetin 3 mg/l memberikan pengaruh tercepat dalam pembentukan kalus pada kultur jaringan umbi akar wortel (*daucus carota* l.).

Penelitian-penelitian tersebut diatas membuktikan bahwa untuk menginduksi pertumbuhan tanaman secara *in vitro* sangat spesifik untuk setiap jenis tanaman. Macam eksplan dan penambahan zat pengatur tumbuh dalam media merupakan permasalahan yang akan diteliti.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kombinasi terbaik dari bahan eksplan dan konsentrasi BAP dalam kultur *in vitro* krisan.

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Yogyakarta sejak Desember 2008 sampai Oktober 2009.

Bahan yang digunakan adalah krisan kultivar sakuntala terdiri atas tunas pucuk, daun, dan nodus, media padat *murashige* dan *skoog*, akuades, NAA (*naphtaline acetic acid*), bap (6 – *benzyl amino purine*), spiritus, alkohol 96%,

kertas ph, koh (0,1 n), HCl (0,1 n), *clorox* 5 %. Alat yang digunakan antara lain; *laminair air flow (laf)*, *alumunium foil*, *autoklaf*, gelas ukur, *erlenmeyer*, cawan petri, pinset, kertas saring, pipet, pisau *blade* botol kultur, kertas tisu, deterjen, lampu bunsen, kompor gas, timbangan analitik dan *sprayer*.

Penelitian merupakan percobaan laboratorium disusun secara faktorial dalam rancangan acak lengkap (RAL). Faktor pertama adalah bahan eksplan ($P_1 = \text{nodus}$, $P_2 = \text{pucuk}$, $P_3 = \text{daun}$). Faktor kedua adalah konsentrasi BAP ($B_1 = 0,5 \text{ ppm}$, $B_2 = 1,0 \text{ ppm}$, $B_3 = 1,5 \text{ ppm}$, $B_4 = 2,0 \text{ ppm}$).

Hasil pengamatan dianalisis keragamannya pada jenjang nyata 5%, kemudian diuji lanjut dengan uji jarak berganda duncan pada taraf 5 %. (Gomez and Gomez, 1995).

Hasil dan Pembahasan

Selama masa inkubasi yang dilakukan sejak eksplan ditanam hingga dilakukan pengamatan terakhir, teramati adanya berbagai perubahan pada eksplan. Perubahan tersebut meliputi bertambahnya ukuran eksplan, terbentuknya tunas dan akar pada eksplan yang ditanam.

Saat tumbuh tunas (hari)

Respon awal yang terjadi pada sebagian besar eksplan setelah ditanam adalah terjadinya pembengkakan jaringan eksplan. Menurut Andrini (1993)

Tabel 1. Saat tumbuh tunas krisan secara *in vitro* (hari)

Perlakuan	B1 (BAP 0,5 ppm)	B2 (BAP1,0 ppm)	B3 (BAP1,5 ppm)	B4 (BAP 2,0 ppm)	Rerata
P1 (Nodus)	74	86	94	96	87,5 c
P2 (pucuk)	23	30	35	40	32,0 a
P3 (daun)	34	43	49	60	46,5 b
Rerata	43,67 p	53 q	59,33 r	65,33 s	(-)

Keterangan : Rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. (-): Tidak ada interaksi

perubahan pada eksplan ini terkait dengan tingkat osmolaritas dari media yang digunakan karena pengaruh faktor nutrisi dan penambahan zat pengatur tumbuh.

Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan macam bahan tanam dan konsentrasi BAP. Perlakuan pucuk menunjukkan saat tumbuh

tunas yang paling cepat (32,0 hari) dibandingkan pada perlakuan nodus (87,5 hari) dan daun (46,5 hari). Perlakuan BAP 0,5 ppm memunculkan tunas tercepat (43,67 hari) dibandingkan perlakuan yang lain.

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Dalam media kultur jaringan diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh yang tepat untuk mendukung pertumbuhan eksplan. Semakin meningkat konsentrasi BAP pada medium, saat muncul tunas akan semakin lama. Eksplan pada pucuk tanaman mampu memunculkan tunas tercepat karena pada pucuk tanaman banyak terdapat auksin endogen yang diduga dapat memacu pembelahan sel dengan cepat (Holland, 1997).

Panjang akar (mm)

Pertumbuhan eksplan krisan diawali dengan tetap segarnya eksplan yang terjadi pada tahap inisiasi, menunjukkan adanya hubungan timbal balik antara macam eksplan dan media. Kondisi eksplan mulai membengkak karena menyerap nutrisi yang ada pada

media. Secara fisiologis pertumbuhan eksplan tersebut mengalami proses fisis dan biokimia (Widiastoety *et al.*, 1991).

Pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa pada eksplan nodus dan daun ternyata menghasilkan panjang akar yang tidak berbeda nyata tetapi keduanya nyata menghasilkan akar yang lebih panjang dibandingkan eksplan pucuk. Sependapat dengan Gunawan (1995) bahwa auksin endogen yang terdapat pada nodus dan daun berperan dalam pembentukan akar, dengan demikian juga berperan dalam pemanjangan akar dalam kultur jaringan. Pada perlakuan konsentrasi BAP ternyata pada konsentrasi 0,5 ppm dan 1,0 ppm menghasilkan akar yang terpanjang dibanding perlakuan yang lain yaitu masing – masing 9,16 mm dan 9,3 mm.

Diinformasikan bahwa sitokinin yang dibutuhkan bagi pemanjangan akar dibutuhkan hanya dalam jumlah kecil, ada kemungkinan kebutuhan sitokinin untuk keperluan pemanjangan akar telah terpenuhi dari sitokinin endogen. Sesuai dengan pendapat Holland (1997) bahwa penggunaan sitokinin dalam jumlah sedikit membantu pembentukan akar, sedangkan akar yang sudah terbentuk akan mensintesis sitokinin endogen sehingga pemberian sitokinin eksogen sering tidak menampakkan pengaruhnya pada panjang akar.

Jumlah Akar

Jumlah dan panjang akar penting bagi pertumbuhan eksplan *in vitro*. Jumlah akar yang banyak dan panjang,

Tabel 2. Panjang akar krisan secara *in vitro* (hari)

Perlakuan	B1 (BAP 0,5 ppm)	B2 (BAP1,0 ppm)	B3 (BAP1,5 ppm)	B4 (BAP 2,0 ppm)	Rerata
P1 (Nodus)	9,5	9,5	8,5	7,3	8,7 a
P2 (pucuk)	9	9,1	6,8	6,7	7,9 b
P3 (daun)	9	9,3	8,7	8,3	8,8 a
Rerata	9,16 p	9,3 p	8 q	7,43 r	(-)

Keterangan : Rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. (-): Tidak ada interaksi

Tabel 3. Jumlah akar krisan secara *in vitro* (hari)

Perlakuan	B1 (BAP 0,5 ppm)	B2 (BAP1,0 ppm)	B3 (BAP1,5 ppm)	B4 (BAP 2,0 ppm)	Rerata
P1 (Nodus)	22	20	20	18	20 b
P2 (pucuk)	26	26	25	21	24,5 a
P3 (daun)	23	20	19	17	19,75 b
Rerata	23,67 p	22 q	21,33 q	18,67 r	(-)

Keterangan : Rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. (-): Tidak ada interaksi

baik untuk penyerapan nutrisi dari media. Semakin banyak dan semakin panjang akar maka bidang penyerapan nutrisi dari media akar semakin luas.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa pada jumlah akar tidak terdapat interaksi antara perlakuan eksplan dan konsentrasi BAP. Eksplan pucuk tanaman menghasilkan jumlah akar terbanyak (24,5) dibandingkan dengan eksplan nodus (20) dan daun (19,75). Konsentrasi BAP 0,5 ppm menginduksi jumlah akar terbanyak yaitu 23,67. Eksplan berupa tunas pucuk yang berasal dari tunas generatif maupun tunas vegetatif mempunyai sifat totipotensi, diantaranya disebabkan sel – sel meristematik pada jaringan ujung lebih aktif membelah, karena zat – zat yang menstimulus pertumbuhan lebih banyak terdapat pada bagian ujung dibandingkan dengan bagian bawahnya (Widiastoety *et al.*, 1991).

Proses diferensiasi dalam kultur jaringan pada eksplan yang ditanam dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh dalam media. Jumlah akar akan berguna untuk aklimatisasi tanaman di rumah kaca, sehingga dengan meningkatnya jumlah akar akan meningkatkan pula bidang serapan hara.

Bobot Basah, Bobot Kering, Jumlah Tunas dan Panjang Tunas

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa pada parameter bobot basah, bobot kering, jumlah tunas dan panjang tunas terdapat interaksi antara perlakuan macam eksplan dan konsentrasi BAP.

Kombinasi eksplan pucuk tanaman dan konsentrasi BAP 0,5 ppm

menghasilkan bobot basah, jumlah tunas dan panjang tunas paling tinggi dibandingkan dengan kombinasi perlakuan yang lain berturut – turut adalah 4,12 g, 109 dan 24 mm. George dan Sherrington (1984), menyatakan bahwa eksplan yang dikulturkan mengalami beberapa tahapan yaitu adaptasi pada media kultur, proliferasi, diferensiasi, multiplikasi dan aklimatisasi. Komposisi media tumbuh yang sesuai akan memacu eksplan untuk diferensiasi sel membentuk tunas, kalus atau akar. Kombinasi eksplan pucuk tanaman dengan penambahan 0,5 ppm BAP pada media ternyata menghasilkan tunas terbanyak (Tabel 4), karena pertumbuhan eksplan pada kultur jaringan dipengaruhi oleh media yang digunakan dan konsentrasi zat pengatur tersebut. Adanya kombinasi antara penggunaan eksplan (pucuk) tanaman dengan BAP yang diberikan maka akan meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan (Gambar 1).

Panjang tunas merupakan salah satu variabel penting dalam pengamatan multiplikasi tanaman. Tunas yang panjang dengan nodus yang banyak, akan memberikan eksplan yang banyak pula. Holand (1997), menyatakan bahwa pembentukan organ pada kultur *in vitro* disebabkan oleh kandungan nitrogen pada media dasar. Nitrogen merupakan komponen protein, asam nukleat, dan substansi penting lainnya yang diperlukan untuk pembentukan protoplasma dan berfungsi memperbaiki

Tabel 4. Bobot basah, bobot kering, jumlah tunas dan panjang tunas

Perlakuan	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Jumlah Tunas	Panjang Tunas (mm)
P1B1(nodus ,BAP 0,5 ppm)	2,48 d	0,18c	48d	11,8c
P1B2 (nodus, BAP 1,0 ppm)	1,78 c	0,17c	28bc	8,8b
P1B3 (nodus, BAP 1,5 ppm)	1,50 b	0,13bc	26ab	7,6b
P1B4 (nodus, BAP 2,0 ppm)	1,26 a	0,28e	20a	5,9a
P2B1 (pucuk, BAP 0,5 ppm)	4,12 g	0,28e	109f	24f
P2B2 (pucuk, BAP 1,0 ppm)	2,76 e	0,18c	76e	17,8e
P2B3 (pucuk, BAP 1,5 ppm)	2,19 d	0,16bc	46d	15d
P2B4 (pucuk ,BAP 2,0 ppm)	1,52 b	0,12b	33bc	12,1c
P3B1 (daun, BAP 0,5 ppm)	3,26 f	0,23d	78e	18,4e
P3B2 (daun, BAP 1,0 ppm)	2,39 d	0,18c	42d	15,7de
P3B3 (daun, BAP 1,5 ppm)	1,83 c	0,12b	34c	13,2c
P3B4 (daun, BAP 2,0 ppm)	1,28a	0,07a	32bc	8,9b
Interaksi	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : Rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT 5%. (+) : ada interaksi



Gambar 1. Pertumbuhan eksplan bagian pucuk pada berbagai konsentrasi BAP

pertumbuhan vegetatif (Widiastoety dan Kartikaningrum, 2003). Bobot basah dan bobot kering tertinggi pada kombinasi pucuk tanaman dan 0,5 ppm BAP pada penelitian ini disebabkan karena panjang tunas dan jumlah tunas yang terbentuk adalah yang paling tinggi sehingga menghasilkan bobot basah. paling tinggi.

Kesimpulan

Terbatas pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penggunaan eksplan

pucuk tanaman dan penambahan BAP 0,5 ppm menghasilkan kombinasi yang terbaik pada bobot basah, jumlah tunas dan panjang tunas. Sedangkan bahan eksplan berasal dari pucuk memberikan pengaruh terbaik untuk menginduksi saat tumbuh tunas, panjang akar dan jumlah akar tunas.. Konsentrasi BAP 0,5 ppm akan memberikan pengaruh terbaik untuk menginduksi saat tumbuh tunas dan jumlah akar.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada LPPM UPN "Veteran" Yogyakarta yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Andrini. 1993. Pengaruh jenis media dan konsentrasi bap terhadap multiplikasi adenium (*Adenium sp*) secara *in vitro*. Skripsi UNS. Surakarta.
- Andrisari, D. 2003. Penggunaan beberapa media pupuk daun terhadap pertumbuhan krisan (*Chrysanthemum morifolium* (L.) Ramat) Laporan KKL. Fak. Pertanian UPN "Veteran"

- “Yogyakarta. (Tidak dipublikasikan)
- Anonim, 2000. Presiden minta peneliti hasilkan bibit hortikultura unggul. *Yogya post*. 13 Januari 2000, Surat Kabar Harian Yogyakarta.
- Broto, W., Sjaifullah, Sastijati, T. Sutater, F.A. Bahar, Y.Krisnawati dan S. Suliharti. 1994. Hasil Penelitian Tan. Hias *dalam* Hasil Penelitian Hortikultura Pelita V. Hal 73-78
- Evans, D.A. and J.E.Bravo.1983. Plant Protoplast Isolation and Culture,33-53; In : K.L Giles (Ed), International Review of Cytology, Academic Press, A. Sub-Sidiary of Handout Brace Javanovic Publisher,New York.
- Wahyurini, E. 2002. Pengaruh bahan eksplan dan zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan kalus melati (*Jasminum sambac* Ait) secara in vitro. *Agrivet* 6 (1).
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories Exegenic Limited. England
- Gomez, K.A & A.A.Gomez, 1995. Prosedur Statistika Untuk Penelitian Pertanian. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 698 Hal.
- Gunawan, L.W, 1985. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. 165 Hal.
- Holand, M. A. 1997. Occam, s razor applied to homonology: are cytokinins produced by plants. *Plant. Physiol.* 115 : 865 – 868.
- Lakitan, 1996. Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 142 Hal.
- Luthfika, I. 2001. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Perkembangan Dua Macam Eksplan Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp. pada Media Alami Kentang. (Tidak Dipublikasikan). Skripsi Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta. 49 Hal.
- Meldia, Y., E. Mansyah, Ismiyati. 1994. Kultur Ujung Malai Bunga Pisang secara *Invitro*. Simposium Hortikultura Nasional. Balai Penelitian Hortikultura Solok. 6 Hal.
- Setyati, Rukmana, H.S., L.G. Gunawan, G.A. Wattimena, 1986. Penelitian Kultur Jaringan Beberapa Tanaman Hortikultura Penting. Institut Pertanian Bogor. Hal 29-40.
- Soeryowinoto, M. 1987. Pemuliaan Tanaman Secara *invitro*. Kanisius. Yogyakarta. 252 hal.
- . 1987. Budidaya jaringan dan manfaatnya. Fakultas biologi. Ugm. Yogyakarta. Hal. 57.
- Widarto,l., 1996. Perbanyak Tanaman dengan Biji, Stek, Cangkok, Sambung, Okulasi dan Kultur Jaringan. Kanisius. Yogyakarta. 78 Hal.
- Widiastoety, D., Syafril., B. Haryanto, 1991. Kultur invitro anggrek *Dendrobium* dalam medium cair. *Jurnal Hortikultura* I (3).
- Widiastoety, D. & Kartikaningrum. 2003. Pengaruh air kelapa terhadap pembentukan *protocorm like bodies* (plbs) dari anggrek *Vanda* dalam medium cair. *Jurnal Hortikultura*. 4 (2) : 71-73.
- Wijayani, A., 1993. Pengaruh ZPT auxin dan sitokinin dengan konsentrasi menurut metode Mohr terhadap pertumbuhan kalus umbi akar wortel (*Daucus carota* l). *Wimaya* no 16 (X). Hal 24-34.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia pustaka. Jakarta.