

# Kajian dan Induksi Tunas Tanaman Anggur Merah (*Vitis vinifera* L. var. Prabu Bestari) dengan Beberapa Jenis Sitokinin Secara *In Vitro*

KADEK PEBRIYANI  
RINDANG DWIYANI \*)  
IDA AYU PUTRI DARMAWATI

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana  
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80321 Bali  
\*)Email: rindangdwiyani@unud.ac.id

## ABSTRACT

### Study of Sterilization and Induction of Red Grape Shoots (*Vitis vinifera* L. var. Prabu Bestari) with Several Types of Cytokinins *In Vitro*

This study aims to determine the most suitable sterilization method for the sterilization of red grape explants and to determine the effect of giving growth regulators BAP, 2iP, and TDZ in the induction of red grape shoots. This research was conducted from January to June 2020 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Udayana University. The design used in this study used a completely randomized design (CRD). The parameters observed in this study were the percentage of contamination, when the shoots appeared, when the roots appeared, the percentage of shoot growth explants, the percentage of root growth explants, and the percentage of leaf growth explants. This research is discussed descriptively. The results of the analysis of the research on the sterilization method showed that the sterilization method I through the maintenance of mother plants with 80% mankozeb and the use of clorox immersion in gradual concentrations was able to reduce the percentage of contamination to 61.2% and the use of TDZ 1 ppm growth regulators in combination with 0.01 ppm NAA on WPM medium was able to induce shoots and roots in red wine explants.

Keywords: *bud induction, sterilization method, grape plants, cytokinins*

## 1. Pendahuluan

### 1.1 Latar Belakang

Buah anggur dikenal sebagai buah yang kaya akan nutrisi karena mengandung banyak senyawa polifenol dan resveratol yang berperan aktif dalam berbagai metabolisme tubuh. Sentra budidaya tanaman anggur di Bali terdapat di Kabupaten Buleleng. Berdasarkan data statistika Dinas Pertanian Kabupaten Buleleng, produksi buah anggur dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Pada tahun 2016 produksi anggur adalah 0,54 kuintal per pohon dan meningkat menjadi 0,67 kuintal per pohon

pada tahun 2017 (BPS Kab. Buleleng, 2017). Berdasarkan dari Sensus Penduduk dan Monografi Desa Dencarik (2010), bahwa petani di Desa Dencarik memiliki kendala yaitu keterbatasan dalam jumlah serta kualitas bibit dari tanaman anggur. Para petani di Desa Dencarik masih melakukan perbanyakan tanaman anggur dengan cara stek dan hasilnya cukup baik, tetapi jumlah yang dihasilkan sedikit dibandingkan dengan kebutuhan bibit tersebut.

Kultur jaringan adalah suatu teknik untuk menumbuhkan sel, jaringan ataupun irisan organ tanaman pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi yang steril untuk menjadi anakan baru (planlet). Jumlah tanaman baru yang dihasilkan tidak hanya satu, tapi bisa puluhan hingga ratusan (dari satu bahan tanam atau eksplan). Teknologi perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan membutuhkan media tanam yang mengandung nutrisi, zat pengatur tumbuh dan glukosa yang membantu pertumbuhan eksplan (Dwiyani, 2015). Menurut Mariskan dan Ragapadmi (2001) media WPM merupakan media yang cocok digunakan untuk tanaman tahunan atau berkayu. Penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam media sangat penting untuk membantu proses organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar pada eksplan.

Auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan untuk perpanjangan sel, pembentukan akar adventif, dan menghambat pembentukan tunas adventif dan tunas ketiak. Salah satu contoh zat pengatur tumbuh dari golongan auksin adalah Naphtalene acetic acid (NAA). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh dalam metabolisme sel, dan merangsang sel dorman serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel (Karjadi dan Buchory, 2008). Beberapa contoh zat pengatur tumbuh dalam golongan sitokinin adalah Benzyl Amino Purine (BAP), isopentenyl adenine (2iP), dan thidiazuron (TDZ). Mengingat belum adanya protokol sterilisasi khususnya untuk tanaman anggur (*Vitis vinifera* L. var. Prabu Bestari), maka penelitian ini diawali dengan percobaan metode sterilisasi. Menurut Dwiyani (2015), metode sterilisasi terhadap eksplan dalam teknik kultur jaringan bersifat *genetic dependent*.

## **2. Bahan dan Metode**

### **2.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Juni 2020. Lokasi penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian, Universitas Udayana yang bertempat di Jalan Pulau Moyo, Denpasar.

### **2.2 Bahan dan Alat**

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Eksplan berupa buku (nodus) tanaman anggur merah (*Vitis vinifera* L. var. Prabu Bestari), woody plant medium (WPM), bio agar, gula, larutan stok ZPT (NAA, BAP, 2iP dan TDZ), polyvinylpyrrolidone (PVP), plant preservative mixture (PPM), mankozeb 80%, benlate,

sunlight, clorox, alkohol, aquadest, dan spritus. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian nodus tanaman anggur merah.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *magnetic stirrer*, *autoclave*, botol steril, *beaker glass*, *micropipette*, plastik, karet, cawan petri, tisu, *scalpel blade*, pinset, aluminium foil, Ph meter, lampu bunsen, korek, *plastic wrap*, *hand sprayer*, *handscoon*, *nurse cap*, dan jas laboratorium.

### 2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dibagi atas dua tahap yaitu (I) Metode sterilisasi eksplan tanaman anggur merah (*Vitis vinifera* L.) dan (II) Efektivitas zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan tunas tanaman anggur merah (*Vitis vinifera* L.) dalam kultur *in vitro*.

#### 2.3.1 Penelitian I: Metode Sterilisasi Eksplan

Metode sterilisasi eksplan tanaman anggur merah dibagi menjadi 3 percobaan yaitu :

Metode I : (a) Diluar LAFC : Pemeliharaan tanaman induk menggunakan fungisida (Dithane-M45) seminggu sebelum pengambilan bahan eksplan. Eksplan dicuci menggunakan air mengalir, kemudian direndam menggunakan deterjen selama 5 menit. Eksplan dibilas menggunakan air mengalir tiga kali, kemudian eksplan direndam didalam larutan fungisida 1,5gr/l selama 30 menit. Eksplan dibilas menggunakan air mengalir dan digosok pelan menggunakan sikat. (b) Didalam LAFC : Eksplan direndam dalam larutan clorox 40% selama 7 menit sambil digoyang, kemudian eksplan dibilas menggunakan air mengalir empat kali. Eksplan direndam kembali dalam larutan clorox 20% selama 15 menit sambil digoyang, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades tiga kali. Eksplan dipotong dengan ukuran 1x1cm.

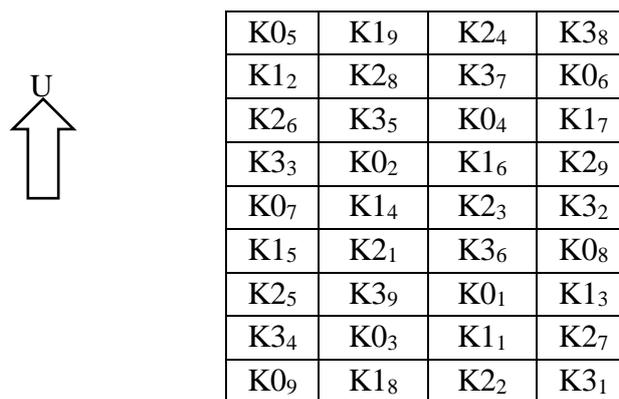
Metode II : (a) Diluar LAFC : Eksplan direndam dalam larutan berisi deterjen selama 5 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan air mengalir. Eksplan direndam didalam larutan clorox 20% selama 10 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan air mengalir. (b) Didalam LAFC : Eksplan direndam didalam larutan clorox 10% selama 15 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades. Eksplan direndam didalam larutan clorox 15% selama 10 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades. Eksplan dipotong dengan ukuran 1x1cm.

Metode III : (a) Diluar LAFC : Eksplan direndam menggunakan deterjen selama 5 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades tiga kali. Eksplan direndam didalam larutan clorox 30% selama 10 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades dua kali. (b) Didalam LAFC : Eksplan direndam didalam larutan clorox steril 20% selama 10 menit, kemudian eksplan dibilas menggunakan akuades tiga kali. Eksplan direndam didalam larutan clorox steril 10% selama 15 menit, kemudian eksplan

dibilas menggunakan akuades dua kali. Eksplan dipotong dengan ukuran 1x1cm.

### 2.3.2 Penelitian II: Efektivitas Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pembentukan Tunas Tanaman Anggur Merah

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu penggunaan 3 jenis sitokinin dengan 4 jenis perlakuan yaitu K0 = wpm + 0,01 ppm NAA, K1 = K0 + 1 ppm BAP, K2 = K0 + 1 ppm 2ip, K3 = K0 + 1 ppm TDZ. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 9 kali pengulangan. Satu ulangan diwakili oleh 1 botol kultur yang berisi 1 eksplan (Gambar 2).



Gambar 1. Denah Rancangan Penelitian

## 2.4 Pelaksanaan Penelitian

### 2.4.1 Sterilisasi Tempat Kerja

Sterilisasi tempat kerja dilakukan dengan cara menyapu, mengepel serta membersihkan ruangan dan alat-alat laboratorium dari debu. Selain membersihkan ruangan dan alat-alat laboratorium, penggunaan alat pun harus dijaga kebersihannya, seperti *laminar air flow cabinet* (L AFC), sebelum dan sesudah menggunakan L AFC semprot terlebih dahulu menggunakan alkohol, kemudian tahap selanjutnya menyalakan sinar ultra violet (UV) selama 75 menit.

### 2.4.2 Sterilisasi Alat, Media dan Eksplan

Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci menggunakan sabun cuci piring kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan temperatur 121° C selama 90 menit. Selanjutnya untuk cawan petri, pinset, scalpel, dan mata pisau dibungkus menggunakan kertas lalu diikat menggunakan karet gelang. Sterilisasi media dilakukan dengan memasukkan media ke dalam autoclave selama 25-30 menit. Sterilisasi eskplan dilakukan sesuai dengan penelitian I.

### 2.4.3 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media WPM yang diberikan zat pengatur tumbuh NAA, BAP, 2IP dan TDZ sesuai dengan perlakuan. Dalam pembuatan media WPM 1 liter (1000 ml) dibutuhkan wpm 2 g/l, gula 30 g/l, bio agar 7 g/l, kemudian dilarutkan ke dalam aquadest 1 liter menggunakan magnetic stirrer. Selanjutnya masukan larutan media ke dalam panci ditambah 10 µL ppm dan dipanaskan diatas kompor selama 7 menit. Selanjutnya larutan tersebut diukur menggunakan pH meter hingga mencapai kondisi 5,8 – 6,3. Jika pH media tersebut kurang dari 5,8 maka ditambahkan NaOH untuk menaikkan pH dan HCL untuk menurunkan pH. Kemudian media dibagi menjadi 4 gelas ukur dengan ukuran 250 ml per gelas. Masing-masing gelas ukur diisi dengan zpt yang diperlukan.

### 2.4.4 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Lamniar Air Flow Cabinet*. Sebelum dilakukan penanaman eksplan, LAFC dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Alat dan bahan yang digunakan untuk penanaman dilakukan penyemprotan menggunakan alkohol 70% lalu dimasukkan ke dalam LAFC. Tutup laminar kemudian nyalakan UV selama 90 menit.

### 2.4.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan setiap melakukan pengamatan yaitu setiap hari dengan menyemprotkan alkohol 70% kebotol yang telah berisi eksplan.

## 2.5 Parameter Pengamatan

Adapun parameter pengamatan yang dilakukan sebagai tolak ukur pertumbuhan akibat pemberian media wpm dengan beragam jenis sitokinin adalah sebagai berikut:

1. Persentase kontaminasi (%)

$$\text{Persentase kontaminasi} = \frac{\text{Eksplan yang terkontaminasi}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%.. \quad (1)$$

2. Persentase eksplan hidup (%)

$$\text{Persentase eksplan hidup} = \frac{\text{Eksplan hidup}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%.. \quad (2)$$

3. Saat muncul tunas (HST)

4. Saat muncul akar (HST)

5. Persentase eksplan tumbuh tunas (%)

$$\text{Persentase eksplan tumbuh tunas} = \frac{\text{Eksplan yang tumbuh tunas}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%.. \quad (3)$$

6. Persentase eksplan tumbuh akar (%)

$$\text{Persentase eksplan tumbuh akar} = \frac{\text{Eksplan yang tumbuh akar}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%.. \quad (4)$$

7. Persentase eksplan tumbuh daun (%)

$$\text{Persentase eksplan tumbuh daun} = \frac{\text{Eksplan yang tumbuh daun}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%.. \quad (5)$$

## 2.6 Analisis Data

Hasil data pengamatan dibahas secara deskriptif karena tidak memungkinkan dilakukan analisis secara statistik dengan keterbatasan jumlah data.

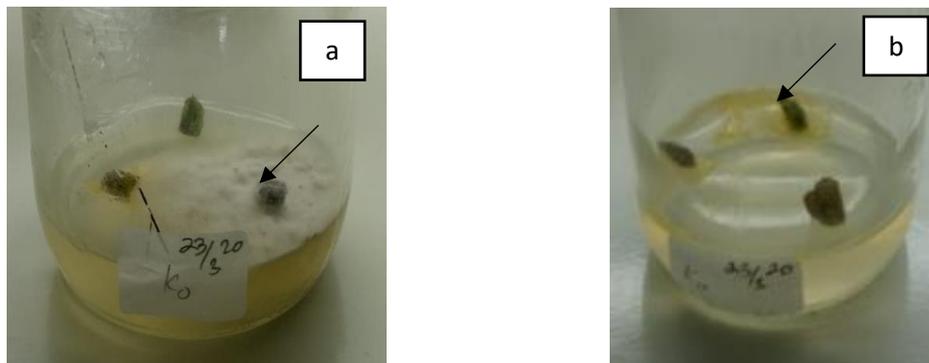
## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Penelitian I: Metode Sterilisasi Eksplan

Salah satu faktor penghambat dalam teknik kultur jaringan adalah terjadinya kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri atau jamur Gambar 1. Menurut Armila (2014) tingkat keberhasilan dalam pelaksanaan kultur jaringan sangat ditentukan oleh sejumlah faktor, terutama sterilisasi dan komposisi media yang digunakan.

Tabel 1. Pengaruh metode sterilisasi terhadap pertumbuhan eksplan

Metode Sterilisasi	Kontaminasi (%)	Eksplan Hidup (%)
Metode I	38,8	61,1
Metode II	100	-
Metode III	100	-



Gambar 2. Kondisi kontaminasi di dalam botol kultur (a) kontaminasi oleh jamur dan (b) kontaminasi oleh bakteri

Kontaminasi yang sering terjadi pada kultur *in vitro* terdiri dari dua jenis yaitu kontaminasi oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur ditandai dengan adanya benang-benang hifa yang berwarna putih dan putih kehitaman di permukaan media yang terkontaminasi. Sedangkan kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri ciri-ciri terbentuknya lapisan lendir berwarna putih kecoklatan di bagian permukaan media yang terkontaminasi. Kontaminan yang disebabkan oleh bakteri diduga berasal dari eksplan itu sendiri yang kurang sterilnya alat yang digunakan dalam melakukan penanaman eksplan. Gambar 2 menunjukkan bakteri telah menutupi permukaan media dan bakteri berasal dari bawah media. Bakteri tidak sepenuhnya dapat dihilangkan karena berasal dari jaringan eksplan.

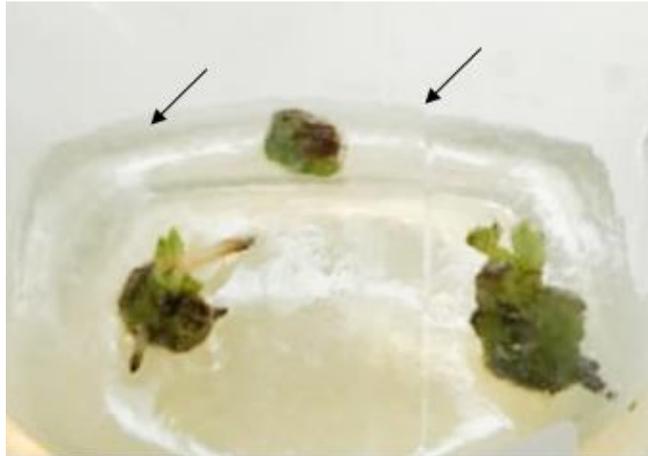
Rendahnya tingkat kontaminasi pada metode sterilisasi I ini karena dilakukannya penyemprotan menggunakan fungisida pada tanaman induk seminggu sebelum tanaman induk dijadikan bahan eksplan. Menurut Taji *et al.* (2006) menyatakan bahwa pemberian pra-perlakuan atau penanganan tanaman induk dapat sangat mengurangi investasi dari mikroorganisme sehingga eksplan yang berasal dari tanaman sehat dan kuat memiliki peluang keberhasilan kultur yang lebih besar daripada eksplan yang berasal dari tanaman sakit dan lemah. Selain dengan menggunakan fungisida menggunakan clorox dengan konsentrasi yang berbeda yaitu (40% dan 20%) terbukti mampu mengurangi persentase terjadinya kontaminasi, sedangkan menggunakan clorox dengan konsentrasi 10% hingga 20% dengan belum mampu menekan terjadinya kontaminasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Hidayat (2018) menyatakan bahwa pencucian eksplan menggunakan clorox bertingkat (20% - 30%) terbukti sangat mengurangi persentase kontaminasi dibandingkan dengan pemakaian clorox 10% maupun 20% hanya sekali rendam kurang mampu mengurangi persentase kontaminasi.

### 3.2 Efektifitas Zat Pengatur Tumbuh dalam Pembentukan Tunas Tanaman Anggur Merah

Saat muncul tunas diamati setiap hari setelah tanam. Waktu pertumbuhan tunas terjadi pada minggu ke-5 setelah tanam pada perlakuan K3 yaitu pada konsentrasi 1 ppm TDZ dikombinasikan menggunakan 0,01 ppm NAA Tabel 2.

Tabel 2. Saat tumbuh tunas, persentase eksplan tumbuh tunas, dan persentase eksplan tumbuh daun pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Saat tumbuh tunas (HST)	Persentase jumlah eksplan tumbuh tunas (%)	Persentase jumlah eksplan tumbuh daun (%)
K0	Kontaminasi	-	-
K1	0	0	0
K2	0	0	0
K3	37	22,2	44,4



Gambar 3. Pertumbuhan tunas pada media WPM dengan penambahan 1 ppm TDZ dan 0,01 ppm NAA

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan 1 ppm TDZ dikombinasikan dengan 0,01 ppm NAA (K3) mampu untuk menginduksi tunas pada eksplan tanaman anggur merah dibandingkan perlakuan K0, K1, dan K2. Hal ini diduga bahwa pemberian TDZ pada konsentrasi 1 ppm mampu menginduksi pembentangan sel sehingga mempercepat waktu munculnya tunas. Hal ini sejalan dengan penelitian Supriyadi *et al.* (2014), yang dimana kombinasi 1 mg/l TDZ + 0,01 mg/L NAA merupakan perlakuan yang terbaik yang ditunjukkan oleh parameter persentase eksplan hidup 100%, persentase eksplan bertunas 100% dan jumlah tunas 2 buah. Winarsih dan Priyono (2000), menyatakan bahwa kombinasi perlakuan sitokinin dan auksin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan jumlah daun dan tunas. Sitokinin mampu memicu pembelahan sel pada jaringan dibantu oleh auksin pada konsentrasi optimal. Hal ini membuktikan bahwa auksin dan sitokinin berperan dalam memicu pembentukan tunas lateral.

Persentase eksplan tumbuh tunas pada perlakuan K3 yaitu 22,2% memberikan nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya, pertumbuhan tunas pada perlakuan K3 terjadi pada 37 hari setelah tanam Tabel 2. Perbedaan yang terjadi antara perlakuan K0, K1, K2, dan K3 dikarenakan adanya perbedaan jenis sitokinin yang diberikan. Menurut Huettman dan Preece dalam Anwar (2007) menyatakan bahwa sitokinin tipe urea seperti TDZ, memiliki aktivitas lebih kuat dibanding tipe urea jenis BAP. Menurut Bilal *et al.* (2011) TDZ merupakan zpt yang berperan dalam menstimulasi produksi sitokinin endogen dan memiliki peran sebagai inhibitor sitokinin oksidase. Menurut Pierik (1997), posisi eksplan yang horisontal waktu melakukan penanaman secara kultur *in vitro* dapat mendukung pembentukan tunas pada beberapa tanaman.

Jumlah daun yang terbentuk pada eksplan juga bergantung dari kecepatan pertumbuhan dan laju pembentukan tunas-tunas baru. Selanjutnya dijelaskan bahwa kecepatan pertumbuhan dan laju pembentukan tunas-tunas baru sangat dipengaruhi oleh kemampuan penyerapan hara dan zat pengatur tumbuh, terutama sitokinin dari

media (Widyastuti dan Tjokrokusumo, 2001). Pada penelitian ini daun mulai muncul saat 3 hari setelah eksplan mengalami pertumbuhan pada bagian tunas.

### 3.3 Efektifitas Zat Pengatur Tumbuh dalam Pembentukan Akar Tanaman Anggur Merah

Pengamatan saat munculnya akar diamati setiap hari. Pertumbuhan akar terjadi pada hari ke 7 setelah tanam pada perlakuan K3 Tabel 3.

Tabel 3. Saat tumbuh akar, dan persentas eksplan tumbuh akar pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Saat muncul akar (HST)	Persentase jumlah eksplan tumbuh akar (%)
K0	-	-
K1	0	0
K2	0	0
K3	7	44,4



Gambar 4. Pertumbuhan akar pada media WPM dengan penambahan 1 ppm TDZ dan 0,01 ppm NAA

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan 1 ppm TDZ dikombinasikan dengan 0,01 ppm NAA telah mampu untuk menginduksi pertumbuhan pada tunas dan akar. Persentase eksplan tumbuh akar pada perlakuan K3 yaitu 44,4% Tabel 3. Pertumbuhan akar mulai terlihat pada saat 7 hari setelah tanam. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa untuk menginduksi akar pada eksplan anggur tidak membutuhkan zat pengatur tumbuh golongan auksin dalam jumlah besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Wetherell (1982) bahwa untuk pembentukan akar diperlukan perbandingan auksin dan sitokinin yang rendah.

Pada perlakuan K3 telah menunjukkan adanya pertumbuhan pada tunas dan akar sedangkan pada perlakuan K0 mengalami kontaminasi dan pada perlakuan K1 dan K2 masih belum menunjukkan hasil hingga eksplan berumur 40 HST. Menurut Harahap *et al.* (2014) menyatakan bahwa konsentrasi BAP yang sesuai akan bekerja dengan optimal pada tanaman tertentu dalam hal induksi tunas. Namun dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi 1 ppm BAP dikombinasikan dengan 0,01 ppm NAA belum mampu untuk menginduksi tunas pada eksplan tanaman anggur merah. Sedangkan untuk zpt NAA yang dikombinasikan dengan BAP akan memberikan pengaruh pada pertumbuhan tunas jika konsentrasi NAA mencapai 1 ppm. Sedangkan untuk zpt 2iP merupakan sitokinin yang mempunyai daya aktivitas lebih lemah dibandingkan dengan sitokinin lainnya sehingga perlakuan menggunakan 2iP tidak menunjukkan hasil apapun. Namun pada penelitian Seswita *et al.* (1996) penggunaan 2iP pada tanaman nilam mampu menghasilkan tunas, namun tunas tersebut lemah dan kurus. Zat pengatur tumbuh umumnya akan mempunyai pengaruh yang baik pada konsentrasi yang relatif rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tuhturu *et al.* (2012) bahwa perbandingan antara sitokinin dan auksin yang rendah dapat mendorong pembentukan akar. Selanjutnya menurut hasil penelitian Yan *et al.* (2014), bahwa penggunaan NAA dengan konsentrasi tinggi menekan pertumbuhan akar pada stek tanaman *Hemarthria compressa*. Hal ini disebabkan karena NAA dalam konsentrasi tinggi bersifat toksik bagi tanaman.

#### **4. Kesimpulan dan Saran**

##### **4.1 Kesimpulan**

Metode sterilisasi I melalui pemeliharaan tanaman induk dengan mankozeb 80% dan penggunaan perendaman clorox konsentrasi bertahap mampu menekan persentase kontaminasi hingga 61,2%. Zat pengatur tumbuh TDZ 1 ppm dengan dikombinasikan 0,01 ppm NAA pada media WPM mampu untuk menginduksi tunas dan akar pada eksplan anggur merah.

##### **4.2 Saran**

Sebelum tanaman dijadikan bahan eksplan hendaknya untuk melakukan pemeliharaan terhadap tanaman induk terlebih dahulu, dan memahami litellatur dalam melaksanakan perbanyakan secara kultur *in vitro*.

#### **Daftar Pustaka**

- Armila, N. K. P., M. U. Bustami, dan Z. Basri. 2014. Sterilisasi dan induksi kalus bawang merah (*Allium ascalonicum*) lokal palu secara *in vitro*. e-J Agrotekbis 2 (2) : 129 – 137
- B,G., Bilal, H.A., Amir, Z., L, L. X., & Y, H. W. (2011). Thidiazuron: A multidimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984-9000.
- Dwiyani R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Palawa Sari. Bali

- George, E.F. and P.D. Sherrington, 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd, England. p. 709.
- Pierik, R. L. M. 1997. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Dordrech: Kluwer Academic Publishers.
- Sembiring, K. W. 2008. Efektivitas mancozeb dan metalaxyl dalam menghambat pertumbuhan *Cylindrocladium scoparium*.
- Supriyadi, I, A, Rineksane dan B, H, Isnawan. 2014. Pengaruh Thidiazuron dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Biji Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Secara In vitro. Makalah. Fakultas Pertanian. UMY.
- Taiz, L., dan E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. Edisi Ketiga. Massachusetts: Sinauer Associates Ink.
- Taji, A.M., Dodd, W.A., dan Williams, R. 2006. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Edisi Ke-tiga. Terjemah: Zulkarnain.
- Tuhuteru, S. M., Hehanussa, dan S.H.T Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan perkembangan anggrek (*dendrodium anosmum*) pada media kultur in vitro dengan beberapa konsentrasi air kelapa. Agologia.
- Wattimena, G.A., L.V. Gunawan, A. Makmur, R. Suseno, dan S.H. Sutjahjo. 1986. Kultur Jaringan Tanaman Pembiakan Mikro dan Manipulasi Genetika pada Beberapa Tanaman Budidaya (laporan penelitian). Fakultas Pertanian IPB. Bogor. 73 hal.
- Wetherell, D. F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro*. Terjemahan : Koensumardiyah. Avery Publishing Goup Inc., Wayne, New Jersey
- Yunita, R. 2004. Multiplikasi Tunas Melinjo (*Gnetum gnemon*) Secara *In Vitro*. Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta. Bumi Aksara