

Optimasi Induksi Tunas Aksiler *Dendrobium nobile* Melalui Kombinasi 2-iP dan 2,4-D *In Vitro*

Sofiatul Milah, Lili Sugiyarto, Ratnawati, Suyitno Aloysius, Ixora Sartika Mercuriani^{*)}
 Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta

^{*)}Email korespondensi: ixomerc@uny.ac.id

ABSTRACT

This research aims to determine optimum combination of addition 2-iP and 2,4-D with different concentration and the nodus position for induction Dendrobium Red Emperor 'Prince' axial shoots. The research employed a CFR design with two factors, namely: variation of combined concentration 2-iP and 2,4-D (A: 1 ppm 2-iP + 2 ppm 2,4-D; B: 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D; C: 3 ppm 2-iP + 1 ppm 2,4-D; D: 4 ppm 2-iP + 0,5 ppm 2,4-D) each treatment was repeated 6 times and the nodal position (top, middle, bottom). The basic medium is NP+CW. The axillary bud growth is measured based on the time of bud emerge, shoot growth, explant percentage which form axillary bud, root growth, and plantlet wet weight. Data obtained were analyzed using ANOVA and continued with DMRT 5%. Results show that B treatment give fastest bud emerging time, and highest stem diameter, buds height, leaves length, leaves width, roots length. A treatment shows best results on shoots number, plantlet wet weight, number of leaves, and number of roots. The optimum combined concentration of 2-iP and 2,4-D to induce axillary shoots is 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D, whilst best nodus position is the top one.

Keywords: *Dendrobium Red Emperor 'Prince'; Axillary Bud; Variation of combined concentration (2-iP and 2,4-D); Nodal Position.*

PENDAHULUAN

Anggrek *Dendrobium* merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak digemari masyarakat dan banyak dibudidayakan sebagai tanaman hias. Selain sebagai tanaman hias, beberapa jenis anggrek juga berpotensi obat. Hal ini berdasarkan data jenis anggrek berpotensi obat di Kebun Raya Bogor tahun 2016 tercatat 34 jenis *Orchidaceae* dengan jenis terbanyak dari marga *Dendrobium* ada 6 jenis, salah satunya adalah *Dendrobium nobile*. *Dendrobium nobile* mengandung bahan aktif berupa dendrobin, nobilonine, dendrine, dan dendroxime. Jenis ini dimanfaatkan untuk mengobati penyakit disentri dan kulit serta penghilang rasa sakit (Pant, 2013).

Pemanfaatan anggrek potensial dapat dilakukan dengan perbanyak kultur *in vitro* yakni proliferasi tunas lateral atau tunas aksiler (Kosmiatin, *et al.*, 2005). Dengan diperolehnya banyak tunas aksiler maka bertambah pula bibit anggrek yang dihasilkan. Keberhasilan dalam teknik *in vitro* sangat dipengaruhi oleh jenis medium dasar, eksplan, lingkungan kultur aseptik, serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan (Monnier, 1990).

Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* salah satunya adalah *2,4-dichlorophenoxy acid* (2,4-D) yang bersifat stabil dan tidak mudah rusak oleh cahaya maupun pemanasan saat sterilisasi. Berdasarkan penelitian Septasari (2021) perbanyak tunas aksiler anggrek *Dendrobium nobile* dengan perlakuan medium 1 ppm 2,4-D dan 2 ppm *benzyl amino purin* (BAP) memberikan hasil tercepat untuk waktu muncul tunas yakni 2,13 minggu setelah tanam dan perlakuan 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP menunjukkan hasil paling optimal untuk menginduksi tunas aksiler.

Auksin berinteraksi dengan sitokinin yang dapat merangsang terbentuknya tunas dan terutama mendorong pembelahan sel. Salah satu zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yang biasa digunakan adalah 2-Isopentenyl Adenine (2-iP). Sesuai penelitian sebelumnya oleh Hapsoro *et al* (2019) bahwa media dengan campuran 2-iP 1 mg/L dan 2,4-D 0,5 mg/L atau 2,4-D 1 mg/L adalah penginduksi paling efektif di antara perlakuan yang dicobakan pada tanaman kopi robusta unggul lampung. Berdasarkan uraian di atas maka diperlukan penelitian mengenai induksi tunas aksiler anggrek *Dendrobium nobile* dengan penambahan beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan 2-iP.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor, yaitu: variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2-iP dan 2,4-D (A: 1 ppm 2-iP + 2 ppm 2,4-D; B: 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D; C: 3 ppm 2-iP + 1 ppm 2,4-D; D: 4 ppm 2-iP + 0,5 ppm 2,4-D) masing-masing 6 ulangan dan posisi nodus (atas, tengah, bawah) dengan medium dasar NP+AK.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta pada bulan Maret 2022 – Agustus 2022.

Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini berupa bibit anggrek *Dendrobium Red Emperor* 'Prince' dari hasil kultur *in vitro* sebelumnya dengan sampel adalah tunas aksiler dengan umur sama dan memiliki 5 nodus.

Prosedur

Prosedur penelitian ini meliputi sterilisasi ruang dan alat, persiapan medium, persiapan eksplan, penanaman, inkubasi, pengamatan, dan pengumpulan data. Medium yang digunakan adalah *New Phalaenopsis* (NP) + air kelapa (AK) + norit (arang aktif) ditambah dengan variasi konsentrasi 2,4-D dan 2-iP. Untuk membuat 150 ml medium dibutuhkan medium NP sebanyak 3,33 gram ($22,2 \text{ g.L}^{-1}$). Akuades steril sebanyak 50 ml dimasukkan ke labu ukur kemudian ditambahkan medium NP. Medium dipanaskan menggunakan *hotplate magnetic stirrer*. Kemudian ditambahkan air kelapa sebanyak 22,5 ml (150 g.L^{-1}) lalu zat pengatur tumbuh 2,4-D dan 2-iP ditambahkan sesuai variasi perlakuan. Arang aktif ditambahkan sebanyak 0,39 gram dan dihomogenkan. setelah itu dilakukan uji derajat keasaman menggunakan pH indicator.

Akuades steril selanjutnya ditambahkan hingga 150 ml dan kemudian ditambahkan agarose sebanyak 1,05 gram (7 g.L^{-1}). Medium dihomogenkan dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian dituang ke dalam botol jar dengan volume 30 ml/botol. Lalu disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm. Medium yang sudah steril disimpan di dalam ruang penyimpanan selama 1 minggu sebelum digunakan untuk mendeteksi kontaminasi.

Eksplan anggrek dikeluarkan dari botol kultur dan diletakkan pada cawan petri. Bibit dikeluarkan lalu dipotong pada posisi nodus bagian atas (a), tengah (t), bawah (b), masing-masing potongan eksplan sebanyak 3 nodus dengan Panjang 0.5 cm. Inkubasi dilakukan dengan cara meletakkan botol kultur pada rak inkubasi yang telah dibersihkan dan diberi kode sesuai dengan rancangan acak lengkap yang telah dibuat sebelumnya. Suhu ruangan diatur 18°C . Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali pada hari yang sama selama 90 hari. Pengamatan meliputi waktu muncul tunas, dan pertumbuhan tajuk (jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun). Pada hari ke-90 dilakukan pengukuran pertumbuhan tajuk (panjang daun, lebar daun, diameter batang) dan pertumbuhan akar (jumlah akar, panjang akar), serta berat basah planlet.

Teknik Analisis Data

Analisis data menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) dua jalur. Analisis lanjutan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) jika ada perbedaan antar perlakuan dengan taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 1. Rata-rata Persentase Eksplan Membentuk Tunas, Pertumbuhan Tajuk, dan Berat Basah Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' Berdasarkan Perlakuan Kombinasi Konsentrasi 2-iP dan 2,4-D

Kode Perlakuan	Waktu Muncul Tunas (mst)	Persentase Eksplan Membentuk Tunas (%)	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas (cm)	Diameter Batang (cm)	Berat Basah (g)
A	2.77	89	1.06	4.06	0.42	1.61
B	2.74	89	1,00	4.71	0.43	1.39
C	3.13	72	0.72	2.88	0.40	1.05
D	3.02	67	0.89	2.54	0.37	1.39

Keterangan: Kode perlakuan A: 1 ppm 2-iP + 2 ppm 2,4-D,

B: 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D,

C: 3 ppm 2-iP + 1 ppm 2,4-D,

D: 4 ppm 2-iP + 0,5 ppm 2,4-D

mst : minggu setelah tanam

Tabel 2. Rata-rata Pertumbuhan Tajuk Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' Berdasarkan Perlakuan Kombinasi Konsentrasi 2-iP dan 2,4-D

Kode Perlakuan	Jumlah Daun (helai)	Panjang Daun (cm)	Lebar Daun (cm)	Jumlah Akar (buah)	Panjang Akar (cm)
A	4.05	2.19	0.42	5.99	4.31
B	3.88	2.63	0.46	4.83	4.86
C	3.28	1.75	0.34	4.77	2.22
D	3.16	1.11	0.31	4.88	2.68

Tabel 3. Rata-rata Waktu Muncul Tunas, Pertumbuhan Tajuk, dan Berat Basah Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' Berdasarkan Perlakuan Posisi Nodus

Posisi Nodus	Waktu Muncul Tunas (mst)	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas (cm)	Diameter Batang (cm)	Berat Basah (g)
Atas	3.36	1.17	3.62	0.43	1.45
Tengah	2.75	1,00	3.72	0.42	1.39
Bawah	2.63	1,00	3.30	0.36	1.23

Tabel 4. Rata-rata Pertumbuhan Tajuk Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' Berdasarkan Perlakuan Posisi Nodus

Posisi Nodus	Jumlah Daun (helai)	Panjang Daun (cm)	Lebar Daun (cm)	Jumlah Akar (buah)	Panjang Akar (cm)
Atas	4.04	2.06	0.41	5.66	3.96
Tengah	3.68	1.06	0.39	4.95	3.62
Bawah	3.08	1.64	0.34	4.74	2.97

Tabel 5. Hasil Uji Anova Perlakuan Kombinasi Konsentrasi 2-iP dan 2,4-D terhadap Waktu Muncul Tunas, Jumlah Tunas, Pertumbuhan Tajuk, dan Berat Basah Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince'

Parameter	Nilai Signifikansi (<0.05)	
	Kombinasi 2-iP dan 2,4-D	Posisi Nodus
Waktu muncul tunas	0.72	0.01*
Panjang daun	0.01*	0.47
Lebar daun	0.16	0.49
Tinggi tunas	0.04*	0.81
Diameter batang	0.86	0.54
Jumlah akar	0.69	0.65
Panjang akar	0.02*	0.48
Berat basah	0.20	0.58

Keterangan: * jika angka menunjukkan <0,05 berarti berpengaruh nyata

Tabel 6. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% Perlakuan Posisi Nodus terhadap Waktu Muncul Tunas Aksiler Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince'

Posisi nodus	Waktu Muncul Tunas
Atas	3.36b
Tengah	2.75a
Bawah	2.63a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan.

Tabel 7. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% Perlakuan Kombinasi Konsentrasi 2-iP dan 2,4-D terhadap Panjang Daun, Panjang Akar, Tinggi Tunas Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince'

Kombinasi Konsentrasi	Panjang Daun	Panjang Akar	Tinggi Tunas
1 ppm 2-IP + 2 ppm 2,4-D	2.19b	4.31b	4.06ab
2 ppm 2-IP + 1,5 ppm 2,4-D	2.63b	4.86b	4.71b
3 ppm 2-IP + 1 ppm 2,4-D	1.75ab	2.22ab	2.88a
4 ppm 2-IP + 0,5 ppm 2,4-D	1.11a	2.68a	2.54a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan.

PEMBAHASAN

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa variasi kombinasi konsentrasi 2-iP dan 2,4-D tidak berpengaruh secara signifikan terhadap waktu muncul tunas aksiler, jumlah tunas, jumlah daun, panjang daun, lebar daun, jumlah akar, dan berat basah anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' namun berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas. Posisi nodus berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas namun tidak berpengaruh signifikan terhadap jumlah tunas, jumlah daun, panjang daun, lebar daun, jumlah akar, dan berat basah tanaman.

Pembentukan tunas paling cepat terdapat pada kombinasi konsentrasi 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D yaitu 2,74 mst (Tabel 1). Hal ini diduga konsentrasi 2 ppm 2-iP yang dikombinasikan dengan 1,5 ppm 2,4-D merupakan konsentrasi optimum dalam pembentukan tunas sehingga waktu muncul tunas lebih cepat. Hasil penelitian ini lebih lama dibandingkan dengan hasil penelitian Septasari (2021). Hal tersebut dapat disebabkan karena jenis sitokinin sintesis yang digunakan berbeda. Sesuai dengan pendapat Gubbuk & Pekmezci (2004), perbedaan tipe sitokinin dan konsentrasi yang digunakan mampu mempengaruhi proliferasi. Flick *et al.* (1993) juga menyebutkan BAP memiliki respon lebih baik dibandingkan kinetin dan 2-iP.

Menurut Wardani (2016), BAP memiliki struktur dasar yang sama dengan kinetin tetapi aktivitasnya lebih efektif karena mempunyai gugus benzil. Pada sitokinin BAP, gugus benzil disubstitusi pada posisi 6 yang memiliki aktivitas kimia paling aktif (Wattimena, 1992). Selain itu, BAP juga memiliki ikatan rangkap yang lebih banyak dibandingkan dengan 2-iP (Mok & Mok, 2001). Ikatan rangkap tersebut efektif untuk memacu pertumbuhan tunas dan daun pada eksplan *in vitro*. Zulkarnain (2009) juga menyatakan bahwa perimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin eksogen dengan fitohormon endogen menyebabkan proses fisiologis pada eksplan berlangsung optimal dalam memicu awal pertumbuhan tunas.

Berdasarkan perlakuan posisi nodus, berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas. Hasil uji lanjut DMRT 5% menunjukkan terdapat perbedaan antara nodus bagian bawah dan tengah dengan nodus bagian atas, tetapi tidak terdapat perbedaan antara nodus bagian tengah dan bawah (Tabel 6). Menurut Wiraatmaja (2017), kuncup aksiler yang berada di bagian bawah tajuk (daerah yang berdekatan dengan akar) biasanya akan tumbuh memanjang dibandingkan dengan tunas aksiler yang terdapat dekat dengan kuncup terminal. Hal ini menunjukkan rasio sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin pada bagian bawah tumbuhan. Sehingga pada nodus bagian bawah menghasilkan tunas paling cepat dibandingkan nodus tengah dan bawah. Sesuai dengan penelitian Septasari (2021), nodus bagian bawah memberikan hasil tercepat untuk waktu muncul tunas aksiler *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' yaitu 2,4 mst. Hal ini disebabkan karena pangkal batang memiliki bakal tunas sehingga menghasilkan tunas lebih cepat.

Rata-rata parameter yang bervariasi dapat disebabkan oleh pemberian hormon eksogen dan hormon endogen yang terdapat di dalam tanaman memiliki kadar yang berbeda-beda sehingga akan memunculkan respon yang berbeda pula. Keseimbangan hormon 2-iP dan 2,4-D dengan hormon endogen dalam eksplan dibutuhkan untuk memacu pertumbuhan tunas aksiler Angrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince'. Rionaldi (2019) menyebutkan bahwa keseimbangan zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen dalam tubuh tumbuhan akan berpengaruh terhadap penyerapan nutrisi yang tersedia dalam media kultur sehingga

berpengaruh secara langsung terhadap daya tahan eksplan untuk hidup dan membentuk tunas.

Gahan (2007) menjelaskan terdapat dua faktor yang berpengaruh pada kemampuan sel untuk melakukan organogenesis. Faktor pertama adalah tingkat diferensiasi dan spesialisasi sel. Tingkat spesialisasi tersebut akan berpengaruh terhadap tingkat relativitas peredaman ekspresi gen dalam mitosis dan ekspresi sekuen gen untuk perkembangan sel menjadi individu lengkap. Sedangkan faktor kedua yaitu pengaruh jaringan di dekat sel terhadap ekspresi sekuen gen pada sel tersebut.

Pada penelitian ini terjadi penurunan persentase eksplan membentuk tunas pada perlakuan 3 ppm 2-iP + 1 ppm 2,4-D dan 4 ppm 2-iP + 0,5 ppm 2,4-D. Hal ini sejalan dengan penelitian Restiani *et al.* (2016) bahwa pembentukan tunas anggrek hitam meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi sitokinin terhadap auksin dan berhenti pada konsentrasi 3 ppm 2-iP + 0,15 ppm NAA. Sehingga dapat diketahui bahwa hormon sitokinin aktif mempengaruhi morfogenesis dan pembelahan sel dalam konsentrasi yang relatif rendah sedangkan dalam konsentrasi lebih tinggi cenderung berkurang kemampuan fisiologisnya terhadap pembentukan tunas.

Selain itu, Nurana *et al.* (2017) juga menyebutkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menutup aktivitas auksin dan menjadi racun pada eksplan yang menyebabkan eksplan mengalami nekrosis dan mati. Eksplan yang mati terjadi pada semua perlakuan namun dengan intensitasnya meningkat pada perlakuan 3 ppm 2-iP + 1 ppm 2,4-D dan 4 ppm 2-iP + 0,5 ppm 2,4-D. Eksplan yang mati ditandai dengan perubahan warna hijau menjadi kekuningan dan tidak terjadi pertumbuhan.

Selain karena konsentrasi sitokinin yang tinggi, Nurana *et al.* (2017) menjelaskan kematian eksplan dapat juga disebabkan karena oksidasi senyawa fenolik akibat pelukaan. Oksidasi senyawa fenolik menyebabkan adanya aktivitas enzim oksidatif yaitu *Polyphenol oxidase* (PPO). Proses oksidasi tersebut menghasilkan senyawa kuinon yang sangat reaktif dan beracun bagi tanaman. Menurut George & Sherrington (1984) senyawa fenolik terdapat pada tanaman tropis dalam konsentrasi tinggi, seperti anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince', dan akan teroksidasi apabila terjadi pelukaan.

Setiap sel memiliki respon masing-masing terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan. Selaras dengan pernyataan Lakitan (1996), bahwa setiap sel memiliki kepekaan tersendiri terhadap ZPT yang diberikan. Nurlaeni & Surya (2015) juga menambahkan setiap jenis tanaman memberikan respon yang berbeda-beda terhadap ZPT, bahkan berbeda juga antarvarietas dalam satu spesies. Faktor-faktor lainnya juga berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan seperti ketersediaan hara makro/mikro, karbohidrat, jenis media, cahaya, suhu, dan derajat keasaman media (Gunawan, 1995).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi konsentrasi 1 ppm 2-iP + 2 ppm 2,4-D mampu menginduksi jumlah tunas, jumlah daun, berat basah, dan jumlah akar tertinggi. Kombinasi konsentrasi 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D mampu menginduksi waktu muncul tunas paling cepat, dan menghasilkan pertumbuhan tinggi tunas, diameter batang, panjang daun, lebar daun, panjang akar terbaik. Kombinasi 1 ppm 2-iP + 2 ppm 2,4-D maupun 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D menghasilkan persentase eksplan terbaik. Kombinasi konsentrasi 2 ppm 2-iP + 1,5 ppm 2,4-D optimal untuk menginduksi tunas aksiler anggrek *Dendrobium Red Emperor 'Prince'* secara *in vitro*. Posisi nodus terbaik digunakan dalam induksi tunas aksiler anggrek *Dendrobium Red Emperor 'Prince'* secara *in vitro*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat diberikan saran yaitu: bagi peneliti diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi kombinasi konsentrasi 2-iP dan 2,4-D yang lebih banyak. Dan diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai posisi pemotongan terhadap nodus batang pada eksplan anggrek *Dendrobium Red Emperor 'Prince'*. Bagi pelaku pembiakan anggrek terutama anggrek *Dendrobium Red Emperor 'Prince'* dapat mengaplikasikan kombinasi zat pengatur tumbuh dengan aktivitas yang baik serta kadar yang sesuai dengan tujuan pembiakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Flick, C. E., D. A. Evans, & W. R. Sharp. (1993). Organogenesis in Y. Yamada (ed). Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 1: *Techniques for Propagation and Breeding*. New York: Macmilian Publishing Company.
- Gahan, P.B. (2007). *Totipotency and the cell cycle*. In Jain, S.M. & H. Haggman (eds.). *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. The Netherlands: Springer. P. 3-14.
- George, E.F. & P.D. Sherrington. (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture. Hand book and directory of comercial laboratories*. England: Eastern Press.
- Gubbuk, H., & Pekmezci, M. (2004). In Vitro Propagation of Some New Banana Types (*Musa spp.*) *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 28(5): 355-361.
- Gunawan, L. W. (1995). *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan (in vitro) dalam Hortikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hapsoro, D., Dwi S., Rahmadyah H., et al. (2019). Pengaruh 2-iP, BA, 2,4-D, dan TDZ pada Embriogenesis Somatik *In Vitro* Kopi Robusta Unggul Lampung. *Jurnal Agrotek Tropika*. 7(3): 527-537.
- Kosmiatin, M, Ali Husni, & Ika Mariska. (2005). Perkecambahan dan Perbanyakan Gaharu secara *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen* .1(2):62-67.
- Lakitan, B. (1996). *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Monnier, M. (1990). Induction embryogenesis in suspension culture. *Method in Molecular Biology. Plan Cell Tiss. Org. Cult.* 6:149-157.

- Mok, D,W,S & M.C. Mok. (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu. Rev. Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52 : 89-118.
- Nurana, A. R., Gede W., & Rindang D. (2017). Pengaruh 2-iP dan NAA terhadap Pertumbuhan *Plantlet* Anggrek *Dendrobium* Hibrida pada Tahap Subkultur. *Agrotop*. 7(2): 139-146.
- Nurlaeni, Y., & Surya, M. I. (2015). Respon Stek Pucuk *Camelia japonica* Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Organik. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversifikasi Indonesia* 1(5): 1211-1215.
- Pant, B. (2013). Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. *African Journal of Plant Science*. 7(10): 448 – 467.
- Restiani, R., Endang S., & Ari I. (2016). Konservasi Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Melalui Mikropropagasi Pada Berbagai Medium Kultur. *Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education)*. 399-401.
- Rionaldi, R. (2019). Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Pekanbaru: Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.
- Septasari, M. (2021). Induksi Tunas Aksiler Anggrek *Dendrobium* Red Emperor 'Prince' dengan Penambahan BAP secara *In Vitro*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Wardani, I. B. (2016). Pengaruh Kombinasi BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Naphtalen Acetic Acid*) terhadap Induksi Tunas Aksiler Cendana (*Santalum album* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. S. Matjik, *et al.* (1992). *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman IPB.
- Wiraatmaja, I. W. (2017). *Zat Pengatur Tumbuh Giberelin Dan Auksin*. Denpasar: Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Akasara.