

# **PERTUMBUHAN *Protocorm Like Bodies* (PLB) ANGGREK *Vanda tricolor* PADA BERBAGAI MEDIA DAN KONSENTRASI THIDIAZURON**

**Innaka Ageng Rineksane<sup>1</sup>, Sri Wahyuni<sup>1</sup>, Gatot Supangkat<sup>1</sup>, Agung Astuti<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta*

[rineksane@umy.ac.id](mailto:rineksane@umy.ac.id)

## **ABSTRAK**

*Anggrek Vanda tricolor merupakan anggrek endemik Gunung Merapi yang keberadaannya terancam punah karena erupsi dan eksploitasi dari habitatnya. Salah satu upaya konservasi Vanda tricolor adalah melalui perbanyakan kultur in vitro untuk menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, sehingga dapat dikembalikan ke habitat asalnya di lereng Gunung Merapi. Penelitian ini bertujuan menentukan jenis media dan konsentrasi thidiazuron terbaik untuk pertumbuhan protocorm like bodies anggrek Vanda tricolor. Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap faktorial 3x3. Faktor pertama adalah jenis media (Murashige and Skoog, Vacint and Went, dan New Dogashima Medium). Faktor kedua adalah konsentrasi Thidiazuron (0 mg/l, 0,5 mg/l dan 1 mg/l). Setiap perlakuan diulang 10 kali, setiap ulangan terdiri dari 1 sampel, sehingga total unit perlakuan adalah 90 unit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protocorm like bodies memberikan respon pertumbuhan terhadap perlakuan jenis media dan konsentrasi thidiazuron, namun tidak ada interaksi antar perlakuan terhadap semua parameter yang diuji. Penggunaan protocorm like bodies sebagai eksplan menunjukkan tingginya persentase eksplan hidup (100%) dan tidak adanya eksplan yang mengalami browning maupun kontaminasi. Media New Dogashima Medium cenderung memberikan angka pertambahan diameter protocorm like bodies yang lebih tinggi (1,12 mm) dan waktu muncul akar yang lebih cepat (0,90 minggu). Konsentrasi thidiazuron 0,5 mg/l cenderung menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak (1,80 tunas).*

*Kata kunci : Media, Thidiazuron, Protocorm Like Bodies, Vanda tricolor*

## **PENDAHULUAN**

Indonesia termasuk negara yang memiliki potensi besar untuk pengembangan anggrek, karena Indonesia memiliki 5000 spesies dari sekitar 30.000 spesies anggrek di dunia (Irawati, 2002). Salah satu anggrek asli Indonesia adalah *Vanda tricolor*, yang merupakan anggrek endemik Gunung Merapi. Anggrek ini terancam punah karena erupsi Gunung Merapi yang menghanguskan habitatnya pada tahun 2002, 2006 dan 2010. Selain itu penyebab berkurangnya populasi anggrek ini adalah banyaknya masyarakat sekitar yang mengambil kemudian mengkoleksi dan menjual anggrek ini tanpa adanya perbanyakan kembali (Metusala, 2006). Oleh karena itu upaya konservasi untuk menyelamatkan *Vanda tricolor* dari kepunahan perlu dilakukan. Salah satu alternatif untuk melestarikan *Vanda tricolor* adalah melalui perbanyakan kultur *in vitro*. Rineksane dan Sukarjan (2015) telah mengkulturkan daun steril *Vanda tricolor*, dan telah diperoleh kalus pada medium NDM dengan penambahan 0,5 mg/l Thidiazuron. Namun demikian kalus tersebut belum berkembang menjadi tunas atau embrio. Penelitian ini akan menguji tiga jenis media dan konsentrasi Thidiazuron untuk pertumbuhan protocorm like bodies (PLB) *Vanda tricolor*.

*Protocorm like bodies* (PLB) merupakan suatu struktur berbentuk bulatan-bulatan yang dibentuk oleh jaringan eksplan dan atau kalus *in vitro* (Morel, 1960 dalam Wijayani, *et al.*, 2006). PLB ini akan membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm. Media tumbuh merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan dalam *kultur in vitro*. Media Murashige and Skoog (MS), Vacint and Went (VW) dan New Dogashima Medium (NDM) diketahui telah digunakan pada perbanyakan anggrek *Phalaenopsis* (Rupawan *et al.*, 2014) dan *Vanda tricolor* (Rineksane dan Sukarjan, 2015) dalam *kultur in vitro*. Selain media, faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan dalam *kultur in vitro* adalah zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh akan mengarahkan pertumbuhan eksplan untuk membentuk kalus, tunas, akar ataupun embrio. Thidiazuron telah digunakan oleh Rineksane dan Sukarjan (2015) pada kultur *Vanda tricolor* dan telah diperoleh kalus dengan konsentrasi Thidiazuron sebanyak 0,5 mg/l pada media NDM.

Penelitian ini bertujuan menentukan jenis media dan konsentrasi Thidiazuron terbaik untuk pertumbuhan *protocorm like bodies* (PLB) *Vanda tricolor*.

## METODE PENELITIAN

### a. Media dan Perlakuan

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 3x3. Faktor pertama adalah media tumbuh yang terdiri dari 3 aras yaitu media MS (M1), media VW (M2) dan media NDM (M3). Faktor kedua adalah konsentrasi Thidiazuron (TDZ) yang terdiri dari 3 aras yaitu 0 mg/l (T1), 0,5 mg/l (T2) dan 1 mg/l (T3), dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut:

ZPT \ MEDIA	T1 TDZ 0 mg/l	T2 TDZ 0,5 mg/l	T3 TDZ 1 mg/l
MS (M1)	M1T1	M1T2	M1T3
VW (M2)	M2T1	M2T2	M2T3
NDM (M3)	M3T1	M3T2	M3T3

Setiap perlakuan ditambahkan NAA sebanyak 0,5 mg/l dan arang aktif sebanyak 0,2 g/l. Setiap kombinasi perlakuan diulang 10 kali. Setiap ulangan terdiri dari 1 botol dan setiap botol berisi 1 eksplan PLB.

## **b. Penyiapan Eksplan, Inkubasi dan Analisis Data**

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *protocorm like bodies* (PLB) anggrek *Vanda tricolor* berumur 1,5 bulan dalam botol kultur *in vitro*. PLB tersebut diperoleh dari buah anggrek *Vanda tricolor* yang diperoleh dari penangkar anggrek di lereng Gunung Merapi. Selanjutnya buah anggrek tersebut dikecambahkan dalam media NDM tanpa ZPT sehingga diperoleh PLB dalam jumlah banyak.

PLB diinokulasi dalam media perlakuan. Botol-botol media berisi eksplan tersebut selanjutnya diinkubasi pada rak inkubasi yang dilengkapi lampu TL dalam ruang kultur bersuhu 20-26°C. Parameter yang diamati meliputi persentase eksplan hidup (%), persentase eksplan *browning* (%), persentase eksplan kontaminasi (%), pertambahan diameter PLB, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan waktu muncul akar.

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance* (Anova) dengan software SAS.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Laju pertumbuhan dan perkembangan PLB diamati selama 8 minggu. PLB memberikan respon terhadap perlakuan yang diberikan ditunjukkan oleh pembengkakan atau pembesaran eksplan sampai dengan tumbuhnya tunas, akar dan daun.

### **1. Persentase Eksplan Hidup, *Browning*, dan Kontaminasi**

Pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh eksplan dan media kultur yang digunakan. Eksplan yang mengalami *browning* maupun kontaminasi akan menurunkan tingkat keberhasilan dari kultur *in vitro*. Dengan demikian, kesesuaian antara eksplan dan media yang digunakan akan menjadi faktor utama untuk menentukan keberhasilan dari teknik kultur *in vitro* (George *et al.*, 2007). Hasil pengamatan persentase eksplan hidup, persentase eksplan *browning* dan persentase eksplan kontaminasi PLB *Vanda tricolor* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Thidiazuron terhadap Persentase Eksplan Hidup, Persentase Eksplan *Browning* dan Persentase Eksplan Kontaminasi (%) PLB Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 Minggu Setelah Tanam (MST)

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup (%)	Persentase Eksplan <i>Browning</i> (%)	Persentase Eksplan Kontaminasi (%)
MS + TDZ 0 mg/l	100	0	0
MS + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
MS + TDZ 1 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 0 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
VW + TDZ 1 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 0 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 0,5 mg/l	100	0	0
NDM + TDZ 1 mg/l	100	0	0

Eksplan pada semua perlakuan media tidak mengalami *browning* dan kontaminasi, sehingga eksplan yang hidup sampai dengan akhir pengamatan sangat tinggi yaitu 100% (Tabel 1). Persentase eksplan hidup pada penelitian ini tinggi juga disebabkan komposisi zat dalam media perlakuan yang digunakan telah sesuai untuk mendukung kehidupan eksplan selama inkubasi. Menurut Abidin (1990), kemampuan hidup eksplan pada kultur *in vitro* akan sangat tergantung dari eksplan itu sendiri, sedangkan daya tahan eksplan untuk tetap hidup dipengaruhi oleh jenis dan komposisi media yang digunakan.

*Browning* dan kontaminasi pada eksplan tidak terjadi karena eksplan yang digunakan adalah PLB steril hasil dari persemaian secara *in vitro*. Selain itu, dalam penanaman tidak memerlukan adanya pelukaan pada eksplan yang dapat menimbulkan kontaminasi maupun *browning* pada eksplan. Penambahan arang aktif pada media juga mempengaruhi persentase eksplan *browning*. Widiastoety *et al.* (2012) menyatakan bahwa media pada kultur *in vitro* anggrek biasanya ditambah arang aktif yang berfungsi menyerap senyawa racun dalam media atau menyerap senyawa inhibitor yang disekresikan oleh eksplan, sehingga tingkat eksplan mengalami pencoklatan atau *browning* dapat dikurangi. Selain itu, Hutami (2006), menyatakan bahwa penambahan arang aktif ke dalam media kultur dapat mencegah pembentukan inhibitor fenolat.

Kontaminasi tidak terjadi pada penelitian ini juga dipengaruhi oleh penambahan PPM (*Plant Preservative Mixture*) dalam media yang dapat membantu menghambat pertumbuhan dari patogen. PPM merupakan larutan kimia yang digunakan sebagai bahan tambahan dalam kultur jaringan tanaman untuk menghilangkan dan mencegah sebagian besar kontaminasi akibat bakteri dan jamur tanaman. Menurut Sharaf dan Weathers (2006), PPM merupakan salah satu bahan biosida cair yang termasuk dalam golongan isotiazolon yang mampu

menghambat mikroba dan jamur dalam perbanyakan secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan PPM dengan konsentrasi 0,1 ml/l yang ditambahkan ke dalam media. Dosis ini terbukti mampu menghindari terjadinya kontaminasi pada eksplan maupun media pada semua perlakuan sampai dengan akhir pengamatan.

## 2. Pertumbuhan PLB dan Tunas

Hasil analisis sidik ragam penambahan diameter PLB, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan waktu muncul akar disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Thidiazuron terhadap Pertumbuhan PLB Anggrek *Vanda tricolor* pada 8 Minggu Setelah Tanam (MST)

Perlakuan	Pertambahan Diameter	Waktu Muncul Tunas (minggu)	Jumlah Tunas	Waktu Muncul Akar (minggu)
<b>Macam Media</b>				
MS	0,98a	1,90a	1,70a	1,56a
VW	0,83a	1,40a	1,53a	1,43a
NDM	1,12a	1,93a	1,66a	0,90a
<b>Konsentrasi TDZ</b>				
0 mg/l	0,98p	2,00p	1,56p	1,30p
0,5 mg/l	0,93p	1,76p	1,80p	1,40p
1 mg/l	1,02p	1,46p	1,53p	1,20p
<b>Interaksi</b>	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

- Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata pada uji F  $\alpha = 5\%$ .
- (-) menunjukkan tidak ada interaksi antar perlakuan.

### a. Pertambahan Diameter PLB

Hasil sidik ragam pada Tabel 2 menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara perlakuan jenis media dan konsentrasi TDZ terhadap pertambahan diameter PLB anggrek *Vanda tricolor*. Pembesaran pada PLB merupakan kemampuan PLB dalam menyerap unsur hara dan ZPT pada media. Menurut Rineksane dan Sukarjan (2015), pembengkakan pada eksplan disebabkan oleh respon tanaman terhadap perlakuan, yaitu terjadinya imbibisi yang menunjukkan bahwa eksplan melakukan penyerapan air dan hara dari medium.

Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa perlakuan macam media tidak menyebabkan beda nyata terhadap pertambahan ukuran diameter PLB, tetapi NDM cenderung menghasilkan pertambahan diameter paling besar (1,12 mm) dibandingkan dengan media MS dan VW. Media NDM merupakan media yang memiliki kandungan bahan organik lebih banyak dibandingkan media MS dan VW. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rineksane dan Sukarjan (2015), yang

menyebutkan bahwa pembentukan kalus tercepat pada eksplan daun anggrek *Vanda tricolor* terjadi pada media NDM yang diduga karena pada media NDM, vitamin dan bahan organik seperti asam-asam amino yang dimiliki lebih kompleks, sehingga mampu membantu dalam menginduksi kalus lebih cepat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan TDZ dalam media berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan ukuran diameter PLB (Tabel 2), namun penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/l cenderung menghasilkan pertambahan diameter yang paling besar (1,02 mm) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/l. TDZ merupakan golongan sitokinin yang menginduksi pembelahan sel, sehingga penambahan TDZ dalam media menyebabkan penambahan jumlah sel dan mendorong pertambahan ukuran diameter PLB.

## **b. Waktu Muncul Tunas**

Waktu muncul tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan yang memperlihatkan kecepatan pertumbuhan eksplan sejak awal penanaman. Hasil analisis (Tabel 2) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara jenis media dan konsentrasi TDZ terhadap kecepatan waktu muncul tunas PLB *Vanda tricolor*. Perlakuan jenis media berpengaruh tidak nyata terhadap kecepatan waktu muncul tunas PLB, tetapi VW cenderung menghasilkan waktu muncul tunas yang lebih cepat (1,40 minggu) dibandingkan dengan media MS dan NDM. Soetopo (2012) melaporkan bahwa pembentukan kalus dan tunas dapat terjadi pada perlakuan media VW (9-27 hari) dibandingkan dengan perlakuan media ½ MS yang hanya memunculkan kalus pada eksplan tunas anggrek *D. strebloceras*.

Menurut George dan Sherrington (1984), Media KC (Knudson C) dan VW (*Vacin and Went*) merupakan media yang paling umum digunakan dalam perbanyakan anggrek secara *in vitro*, baik untuk perkecambahan biji maupun perbanyakan klonal menggunakan jaringan meristem. Kedua media tersebut didesain secara khusus untuk perkecambahan pada biji anggrek, karena komposisi hara mineralnya lebih sederhana dibandingkan dengan media yang digunakan untuk kultur jaringan tanaman lain seperti media MS (Goh *et al.*, 1990).

Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa perlakuan penambahan TDZ menghasilkan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap waktu muncul tunas PLB *Vanda tricolor*, namun penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/l cenderung memunculkan tunas yang paling cepat (1,46 minggu) jika dibandingkan dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/L. Chen dan Piluek (1995), melaporkan bahwa TDZ lebih efektif dalam mendorong pembentukan tunas pada *Phalaenopsis* hibrida dibandingkan BAP selama 8 MST. Pengaruh yang sama dari TDZ dilaporkan oleh Jen Tsung dan Wei Chin (2000), dimana 1 mg/l TDZ mampu menginduksi tunas dari eksplan kalus yang berasal dari tangkai bunga *Oncidium Sweet Sugar* selama 8 MST.

Tunas sudah mulai muncul pada minggu ke-1 pada semua perlakuan. Munculnya tunas ini dicirikan dengan terbentuknya mata tunas dengan ujung lancip dan berwarna hijau pada PLB. Kecepatan eksplan bertunas dipengaruhi oleh genotip tanaman yang digunakan, kombinasi media dan ZPT yang diberikan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Wattimena *et al.*, (1992), bahwa kecepatan sel untuk membelah diri dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi zat pengatur tumbuh tertentu dalam konsentrasi yang tertentu.

### c. Jumlah Tunas

Bhojwani dan Razdan (1983), menyatakan bahwa eksplan yang ditanam pada media yang mengandung sitokinin dengan konsentrasi tertentu, maka eksplan akan berdiferensiasi membentuk tunas.

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara jenis media dan konsentrasi TDZ terhadap jumlah tunas PLB *Vanda tricolor* pada minggu ke-8. Sementara jenis media yang diberikan juga tidak memberikan pengaruh yang beda nyata terhadap jumlah tunas, tetapi media MS cenderung menghasilkan jumlah tunas per PLB yang lebih banyak (1,70 tunas) dibandingkan dengan media VW dan NDM.

Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi TDZ memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap parameter jumlah tunas, namun penambahan TDZ dengan konsentrasi 0,5 mg/l cenderung menghasilkan jumlah tunas per PLB yang lebih banyak (1,80 tunas) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 1 mg/l. Hasil ini sesuai dengan penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, yang menyatakan bahwa pertambahan tunas terbaik diperoleh pada perlakuan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l.

Perbedaan jumlah tunas yang terbentuk pada tiap perlakuan dipengaruhi oleh kombinasi TDZ dan NAA pada konsentrasi yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena *et al.*, (1992) bahwa kecepatan sel membelah diri dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi zat pengatur tumbuh tertentu dalam konsentrasi yang tertentu. Tunas masih terlihat tumbuh sampai akhir pengamatan (minggu 8) pada semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi TDZ dan NAA pada semua konsentrasi masih aktif berperan dalam penggandaan tunas sampai jangka waktu akhir pengamatan, meskipun jumlah tunas yang terbentuk pada awal pengamatan masih rendah. Hal ini juga didukung oleh Davies (1995), yang menyatakan bahwa pemberian NAA pada media kultur menyebabkan pembelahan sel pada permulaan kultur berjalan lambat, akan tetapi populasi sel tetap terjaga dan kemudian jumlahnya ditingkatkan.

#### **d. Waktu Muncul Akar**

Keberadaan akar bagi pertumbuhan tanaman sangat penting, sebab selain berfungsi sebagai penyerap nutrisi dan air, akar juga berperan sebagai penopang tumbuh tegaknya tanaman. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara jenis media dan konsentrasi *Thidiazuron* terhadap kecepatan waktu muncul akar PLB *Vanda tricolor* pada minggu ke-8. Hal ini dapat disebabkan waktu yang dibutuhkan untuk proses pembentukan akar lebih lama.

Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa perlakuan jenis media menghasilkan pengaruh yang tidak beda nyata terhadap kecepatan waktu muncul akar PLB, tetapi NDM cenderung menghasilkan waktu kemunculan akar yang lebih cepat (0,90 minggu) dibandingkan dengan media MS dan VW. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan bahan organik yang terdapat pada media NDM lebih banyak.

Sementara perlakuan konsentrasi TDZ juga memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap kecepatan waktu muncul akar PLB *Vanda tricolor*, akan tetapi penambahan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/l cenderung menghasilkan waktu muncul akar yang lebih cepat (1,20 minggu) dibanding dengan tanpa penambahan TDZ dan TDZ pada konsentrasi 0,5 mg/l (Tabel 2). Pembentukan akar berkaitan erat dengan penambahan auksin, dimana dalam penelitian ini ditambahkan auksin NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l pada semua perlakuan. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), penambahan auksin seperti NAA berfungsi untuk merangsang pemanjangan sel karena auksin terdapat pada pucuk-pucuk tunas muda atau pada *in vitro* meristem di pucuk, menyebar luas ke seluruh tubuh tanaman.

Kemunculan akar sudah terlihat pada minggu pertama pengamatan. Konsentrasi NAA yang digunakan sangat berpengaruh pada kecepatan munculnya tunas pada PLB anggrek *Vanda tricolor*. Winarsih dan Priyono (2000) menyatakan bahwa interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel-sel secara endogen menentukan perkembangan suatu kultur. Auksin yang ditambahkan pada media bersama-sama dengan auksin endogen yang diproduksi oleh apeks berperan menginduksi pembelahan sel untuk membentuk akar.

#### **KESIMPULAN**

1. Jenis media berpengaruh tidak nyata terhadap parameter yang diujikan, namun media NDM cenderung menghasilkan pertambahan diameter PLB *Vanda tricolor* yang lebih tinggi (1,12 mm) dan waktu muncul akar yang lebih cepat (0,90 minggu).



2. Konsentrasi TDZ berpengaruh tidak nyata terhadap parameter yang diujikan, namun konsentrasi 0,5 mg/l cenderung menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak (1,80 tunas).
3. Jenis media dan konsentrasi TDZ tidak menunjukkan pengaruh interaksi yang nyata terhadap parameter pertambahan diameter PLB, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan waktu muncul akar *Vanda tricolor*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Tim Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan Hibah PDUPT. Artikel ini merupakan bagian dari Hibah PDUPT dengan Perjanjian/Kontrak Nomor 109/SP2H/LT/DRPM/2018.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1990. Dasar Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa. Bandung. 85 hlm.
- Bhojwani, S.S. dan M. K. Razdan. 1983. Plant tissue Culture. Theory and Practice. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. 502 p.
- Chen, Y. dan C. Piluek. 1995. Effects of Thidiazuron and N6- Benzyl Aminopurine on Shoot Regeneration of Phalaenopsis. *Plant Growth Regulation* ,16: 99-101.
- Davies, P.J. 1995. Plant Hormones, Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology. In A.D. Krikorian (Ed.) Hormones in Tissue Culture and Micropropagation. Kluwer Publishing. Dordest. Pp: 774-793.
- George, E.F., M.A. Hall dan G.J. De Klerk. 2007. Plant Propagation by In vitro Culture. 3rd edition. Vol 1. The Background. Exegetic. Basingtone, UK.
- George, E.F. dan P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Handbook and Directory of Comercial Laboratories. Exegetics Ltd.,Everslay. Basingtoke. England. 709 p.
- Goh, H.K.L., A.N. Rao dan C.S Loh. 1990. Direct Shoot Bud Formation from Leaf Explants of Seedlings and Mature Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) trees. *Plant Sci.* 68:113-121.
- Hendaryono, D. P. S. dan Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Penerbit Kanisus, Yogyakarta. Hal. 17.
- Hutami, S. 2006. Penggunaan arang aktif dalam kultur *in vitro*. *Berita Biologi*, 8(1):83-89.
- Irawati. 2002. Konservasi Anggrek Spesies di Indonesia. Prosiding Seminar Anggrek Indonesia, Yogyakarta, 20 Oktober 2002.
- Jen-Tsung, C. dan Wei-Chin Chang. 2000. Plant Regeneration Via Embryo and Shoot Bud Formation From Flower-Stalk Explant of *Oncidium Sweet Sugar*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62: 95-100.
- Karyanti. 2017. Pengaruh Beberapa Jenis Sitokinin Pada Multiplikasi Tunas Anggrek *Vanda douglas* Secara *In vitro*. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 4 (1) : 36-43.

- Metusala, D. 2006. Melirik Konservasi Anggrek *Vanda tricolor* di Merapi. <http://anggrek.org/melirik-konservasi-anggrek-vanda-tricolor-di-merapi-2.html>. Diakses tanggal 23 Mei 2017.
- Rineksane, I., A. dan Sukarjan, M. 2015. Regenerasi Anggrek *Vanda tricolor* Pasca Erupsi Merapi. Seminar Nasional Universitas PGRI Yogyakarta. Yogyakarta. Hal 378-384.
- Rupawan, M. I, Basri, Z. dan Bustami, M. 2014. Pertumbuhan Anggrek Vanda (*Vanda* sp) pada Berbagai Komposisi Media Secara *In vitro*. *E-jurnal Agrotekbis*. 2 (5) : 488-494
- Sharaf, E. M.A. dan Weathers, P. 2006. Movement and Containment of Microbial Contamination in The Nutrient Mist Bioreactor. *In vitro Cell & Developmental Biology-Plant* 42(6): 553-557.
- Soetopo, L. 2012. Kemandirian Benih Anggrek Untuk Pasar Domestik dan Ekspor 'Kultur *In vitro* Tunas dan Biji pada Dendrobium Spesies'. <http://litasoetopo.lecture.ub.ac.id/2012/01/kemandirian-benih-anggrek-untuk-pasar-domestik-dan-ekspor-%E2%80%99kultur-in-vitro-tunas-dan-biji-pada-dendrobium-spesies%E2%80%99/>. Diakses tanggal 24 April 2018.
- Wattimena, G.A., Gunawan, L.W., Matjik, N.A., Syamsudin, E., Wendi, N.M.A., dan Gunawan, A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi Tanaman. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Bogor.
- Widiastoety, D, Santi, A. dan Solvia, N. 2012. Pengaruh Myoinositol dan Arang Aktif terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium* dalam Kultur *In vitro*. *Jurnal Hortikultura*. 22 (3) : 205-209 hlm.
- Wijayani, Y., Solichatun dan Mudyantini, W. 2006. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm like bodies* Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*, 4 (2): 33-40.
- Winarsih, S. dan Priyono. 2000. Pengaruh Arah dan Ukuran Potongan Sisik Umbi Kerk Lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) terhadap Pembentukan Tunas Mikro dan Bulblet Secara In-vitro. *Berita Biologi* ,5(1): 85-92.