

Regeneration of *Cattleya Amazing Thailand* in ½ MS Medium with The Addition of Several Concentration of PGR and Coconut Water

Asnul Fitria¹, Zozy Aneloi Noli^{1*}, Djong Hon Tjong¹

¹Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences; Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Article History

Received : October 11th, 2023

Revised : November 14th, 2023

Accepted : November 29th, 2023

*Corresponding Author:

Zozy Aneloi Noli,

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Email:

zozynoli@sci.unand.ac.id

Abstract: One of the *Cattleya* species with aesthetic and commercial value is *Cattleya Amazing Thailand*. An efficient protocol with a high rate of plantlet regeneration is through in vitro culture. Plantlet regeneration is affected by the addition of a Plant Growth Regulator (PGR). Auxin and cytokinin (2,4-D and BAP) combined with PGR from organic material such as coconut water can increase the growth of leave and roots in plantlet regeneration. The research aims to determine the best PGRs combination in regenerating the *Cattleya Amazing Thailand* orchid in vitro. The research used the Completely Randomized Design (CRD) experimental method for five treatments. The parameter are survival rate, number of leave, and number of roots. Survival rate was analyzed descriptively and both of number of leave and roots were analyzed statistically. All treatments can form 100% plantlets on survival rate parameter. The treatment of 0.1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP gave significantly different results in the number of leaf (9.0) and was not significantly different in the number of root. 0.1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP is the best combination for in vitro regeneration of the *Cattleya Amazing Thailand* orchid.

Keywords: 2,4-D, BAP, *Cattleya Amazing Thailand*, Coconut water, in vitro.

Pendahuluan

Cattleya adalah tanaman hias dari famili Orchidaceae mempunyai nilai estetika dan ekonomi yang tinggi. *Cattleya* sering digunakan menjadi indukan persilangan untuk mendapatkan individu dengan sifat yang diinginkan saja (Colombo *et al.*, 2017). Salah satu anggrek *Cattleya* hasil persilangan adalah *Cattleya Amazing Thailand* yang diperoleh dari persilangan antara anggrek *Cattleya Haadyai Delight* dan *Cattleya Brazilian Treasure*. Anggrek ini memiliki ciri khas dari ukuran bunga yang besar, indah, berwarna cerah dan aromanya harum (Endang Nurcahyani *et al.*, 2022). Hal ini membuat membuat setiap spesies dari genus ini menjadi favorit di kalangan dekorator, kolektor, dan penggiat anggrek. Nilai ekspor anggrek pada tahun 2022 lebih rendah dibandingkan nilai impornya.

Besarnya nilai impor anggrek di Indonesia ini terjadi karena adanya penurunan produksi (Fatur *et al.*, 2023). Peningkatan

produksi dapat dilakukan dengan meningkatkan usaha propagasi jenis anggrek ini. Salah satu usaha propagasi yang paling efektif adalah melalui kultur in vitro (Juras *et al.*, 2019). Kultur in vitro merupakan metoda perbanyak tanaman yang dilakukan pada lingkungan aseptis dan terkontrol (Apriliyani & Wahidah, 2021). Kelebihan perbanyak ini adalah akan didapatkan plantlet yang seragam dengan induknya dalam jumlah lebih banyak dan waktu yang lebih singkat dibandingkan metoda perbanyak biasa (Mehbub *et al.*, 2022).

Melalui kultur in vitro kemampuan regenerasi tanaman dapat dikontrol dengan baik dengan penambahan beberapa jenis Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) (Ma *et al.*, 2020). ZPT diperlukan oleh tumbuhan untuk menstimulai perkembangan dan pertumbuhan (Hossen *et al.*, 2021). ZPT dapat bersumber dari bahan sintetik maupun organik. Pemberian ZPT juga dapat diberikan secara kombinasi

dengan beberapa jenis ZPT lainnya (Tuncer, 2021). Jenis dan kombinasi konsentrasi tertentu akan bekerja spesifik pada beberapa jenis anggrek. Pemberian kombinasi auksin dan sitokinin mampu meningkatkan regenerasi pada *Cattleya* sp. (Harahap *et al.*, 2023). Kombinasi 2,4-Dichlorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzil Amino Purin (BAP) dapat meningkatkan regenerasi eksplan dan pembentukan kalus pada plantlet anggrek *Cattleya* sp. (Hariyadi *et al.*, 2023). Pemanjangan sel dilakukan oleh 2,4-D sedangkan BAP berperan dalam pembelahan sel pada plantlet sehingga penggunaan kombinasi keduanya dapat memberikan efek maksimal pada regenerasi plantlet (Waryastuti *et al.*, 2017).

Pemberian BAP dan 2,4-D juga dapat dikombinasikan dengan ZPT bersumber dari bahan organik seperti air kelapa. Air kelapa adalah bahan organik yang memiliki kandungan ZPT auksin dan sitokinin alami yang dapat berperan pada pembentukan tunas dan akar pada plantlet. Pemberian air kelapa 150 mL/L memberikan pertumbuhan tunas tercepat dan jumlah paling banyak pada pertumbuhan plantlet *Cattleya trianae* Lindl & Rchb.fil. (br Sembiring *et al.*, 2018). Penambahan 150 mL/L air kelapa menunjukkan organogenesis tertinggi dari pembentukan daun, tunas, dan akar pada anggrek *Dendrobium* sp. (Nisa *et al.*, 2021). Kombinasi air kelapa dengan ZPT jenis BAP dan 2,4-D dapat memberikan kemampuan regenerasi yang maksimal pada pertumbuhan eksplan *Cattleya Amazing Thailand* secara *in vitro*. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kombinasi ZPT terbaik dengan penambahan air kelapa pada regenerasi anggrek *Cattleya Amazing Thailand* melalui kultur *in vitro*.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas digunakan sebagai tempat penelitian dari bulan April – Agustus 2022.

Metode penelitian

Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL) pada 5 perlakuan. Adapun 5 perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

- A. Kontrol (Tanpa penambahan ZPT)
- B. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP
- C. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg/L BAP
- D. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP + 150 ml air kelapa
- E. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg /L BAP + 150 ml air kelapa

Prosedur Penelitian

Sterilisasi peralatan kultur

Seluruh peralatan yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan dicuci pada air mengalir menggunakan sabun anti bakteri. Setelah dicuci, alat-alat dikeringkan menggunakan oven dan selama 15 menit disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C. Peralatan dikeluarkan dan disimpan pada lemari alat sebelum digunakan. Peralatan tanam disterilisasi kembali di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) di bawah penyinaran lampu UV selama 2 jam sebelum digunakan.

Persiapan media tanam

Media $\frac{1}{2}$ *Murashige and Skoog* (MS) menggunakan komposisi sesuai dengan Murashige & Skoog (1962). Media ditambahkan dengan ZPT 2,4-D, BAP, dan air kelapa sesuai sesuai konsentrasi perlakuan. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dan diinkubasi pada rak media selama 3 hari sebelum digunakan.

Penanaman eksplan

Perkecambahan Biji

Buah *Cattleya Amazing Thailand* diperoleh dari Laboratorium Robiquetia Garden Lab, Kota Padang. Buah anggrek disterilisasi menggunakan semprot alkohol 70%, kemudian dibakar diatas api bunsen. Biji yang berada di dalam buah dikeluarkan dan disemai pada media MS menggunakan spatula. Biji yang sudah berkecambah ditandai dengan bentuk bulatan hijau berukuran kecil atau disebut juga sebagai protokorm.

Regenerasi eksplan

Protokorm yang sudah terbentuk dari hasil perkecambahan biji ditanam pada media $\frac{1}{2}$ MS sesuai perlakuan yang diberikan. Pengamatan dilakukan pada parameter jumlah akar, jumlah daun, dan persentase eksplan hidup. Seluruh

parameter diamati setiap hari hingga terbentuk kalus pada eksplan. Parameter persentase eksplan hidup dianalisis secara deskriptif. Sedangkan parameter jumlah daun dan jumlah akar dianalisis secara statistik. Jika analisis menunjukkan perbedaan nyata tiap perlakuannya, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) taraf 5 %.

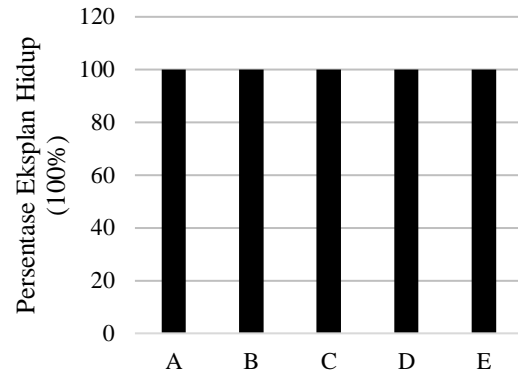
Hasil dan Pembahasan

Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan hidup *Cattleya Amazing Thailand* pada penambahan beberapa konsentrasi ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) dan air kelapa melalui kultur *in vitro* disajikan pada Gambar 1. Eksplan yang mengalami regenerasi melakukan serangkaian metabolisme pertumbuhan untuk membentuk tunas dan akar hingga menjadi sebuah plantlet. ZPT mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan embrio sampai menjadi plantlet. ZPT dengan konsentrasi dan jenis tertentu memberikan pengaruh yang berbeda-beda dan spesifik pada tiap spesies. Penyebabnya karena dipengaruhi oleh beberapa faktor baik dari internal esplan seperti kemampuan regenerasi dan sifat hidup suatu jenis tanaman (Maulia & Basyah, 2021). Perlakuan yang diberikan pada setiap perlakuan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap persentase hidup eksplan anggrek *Cattleya Amazing Thailand*.

Anggrek *Cattleya Amazing Thailand* menunjukkan persentase hidup eksplan 100% setiap perlakuan yang diberikan. Hal ini mengindikasikan penggunaan media MS mampu mencukupi kebutuhan nutrisi untuk meningkatkan persentase hidup eksplan dan berperan pada pertumbuhan awal eksplan. Media memiliki kandungan hara yang lengkap dan sering digunakan untuk pertumbuhan banyak jenis tanaman secara *in vitro*. Selain pengaruh media, umur eksplan juga merupakan faktor penting dalam meningkatkan persentase hidup eksplan. Eksplan yang digunakan adalah protokorm anggrek hasil perkecambahan biji secara *in vitro* yang memiliki sifat meristematik sangat tinggi. Hal ini semakin mendukung bahwa penggunaan media MS tanpa penambahan ZPT eksogen sudah mencukupi untuk meningkatkan persentase hidup eksplan

anggrek *Cattleya Amazing Thailand*. Hal ini sesuai dengan penelitian Isda & Fatonah (2014) bahwa penggunaan media MS memiliki kandungan hara yang lengkap dan sudah mampu mencukupi kebutuhan pertumbuhan awal eksplan sehingga memberikan persentase hidup eksplan sebesar 100% tanpa diberi penambahan ZPT.



Gambar 1. Persentase eksplan hidup *Cattleya Amazing Thailand* pada penambahan beberapa konsentrasi ZPT dan air kelapa melalui kultur *in vitro* setelah 12 minggu kultur. (A. Kontrol ; B. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP; C. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg/L BAP; D. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP + 150 ml air kelapa; E. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg /L BAP + 150 ml air kelapa)

Faktor yang dapat mempengaruhi persentase hidup eksplan yaitu jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Pemberian air kelapa, BAP, dan 2,4-D dapat meningkatkan pembelahan dan pemanjangan sel pada eksplan. Eksplan yang berhasil hidup dan beregenerasi akan membentuk tunas dan akar hingga membentuk sebuah plantlet utuh. ZPT auksin dan sitokinin yang diberikan bekerja secara silang dalam mempengaruhi metabolisme pada pertumbuhan eksplan (Zhao, 2008). Pemberian BAP dan 2,4-D dengan konsentrasi 0,1 - 0,3 mg/L 2,4-D dan 1 - 3 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang mampu memberikan persentase hidup eksplan 100%.

Pemberian ZPT auksin dan sitokinin dalam kombinasi mampu meningkatkan pemelahan sel dan pembentukan tunas dan memengaruhi persentase hidup eksplan *Cattleya Amazing Thailand*. Sejalan dengan Kolachevskaya *et al.*, (2021) bahwa pemberian ZPT dengan kombinasi auksin dan sitokinin dalam konsentrasi rendah maupun tinggi akan

mempengaruhi regulasi ekspresi gen pada metabolisme tanaman termasuk untuk meningkatkan persentase hidup tanaman. Pemberian ZPT jenis BAP juga berperan pada awal pertumbuhan tanaman, sehingga mampu memberikan persentase hidup sebesar 100% pada seluruh perlakuan yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yanti & Isda (2021) bahwa efek BAP pada tahap awal perkembangan sangat dominan, hal ini karena sitokinin sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan kemajuan.

Jumlah akar dan jumlah daun

Jumlah akar dan jumlah daun *Cattleya Amazing Thailand* penambahan beberapa konsentrasi ZPT dan air kelapa melalui kultur *in vitro* terlihat pada Tabel 1. Konsentrasi ZPT yang diberikan sangat mempengaruhi regenerasi pada eksplan. Beberapa konsentrasi dan jenis tertentu akan menginduksi bagian organ tertentu pada pertumbuhan eksplan seperti pembentukan daun dan akar. Perlakuan 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP dengan konsentrasi pemberian ZPT paling rendah memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg/L BAP + 150 ml Air Kelapa.

Tabel 1. Hasil penelitian beberapa perlakuan media terhadap rata-rata jumlah daun dan rata-rata jumlah akar anggrek *Cattleya Amazing Thailand* pada setelah 12 minggu kultur

Perlakuan	Rata-rata	
	Jumlah daun	Jumlah akar
A. Kontrol (tanpa penambahan ZPT)	6,4 ab	2,0 a
B. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	9,0 a	3,0 a
C. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg/L BAP	7,2 ab	4,0 a
D. 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP + 150 ml Air Kelapa	7,0 ab	2,6 a
E. 0,3 mg/L 2,4-D + 3 mg/L BAP + 150 ml Air Kelapa	5,0 b	3,8 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DNMR pada taraf 5%

Hasil penelitian menunjukkan ZPT konsentrasi rendah dapat meningkatkan pembentukan daun pada anggrek *Cattleya Amazing Thailand* dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi. Kondisi fisiologis tanaman yang beragam dapat mempengaruhi kebutuhan ZPT untuk pertumbuhannya. Hal ini juga dipengaruhi oleh kompatibilitas setiap eksplan yang berbeda-beda. Konsentrasi rendah sudah mencukupi kebutuhan metabolisme beberapa jenis tumbuhan. Sejalan dengan Lawalata (2011) bahwa pemberian ZPT auksin dan sitokinin dalam konsentrasi rendah lebih baik dalam meningkatkan regenerasi daun pada eksplan.

Hasil yang diperoleh sama dengan Andaryani *et al.*, (2022) ditemukan pemberian 1 mg/L BAP merupakan konsentrasi terbaik dalam mempercepat munculnya daun pada eksplan *Jatropha curcas*. Pemberian kombinasi BAP yang lebih tinggi dibandingkan 2,4-D mampu meningkatkan pembentukan tunas dan daun pada eksplan. Konsentrasi 1 mg/L BAP

juga memberikan persentase regenerasi tunas tertinggi pada pertumbuhan tanaman *Pogostemon cablin* (Nabila *et al.*, 2022). Pemberian BAP 1 mg/L memberikan jumlah tunas tertinggi pada pertumbuhan *Stevia rebaudiana* (Mirah *et al.*, 2021).

Jumlah akar tertinggi cenderung ditunjukkan perlakuan konsentrasi 2,4-D 0,3 mg/L yaitu pada perlakuan C dan E (Tabel 1). Sedangkan pada perlakuan lainnya menunjukkan jumlah akar yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan keberadaan auksin memiliki peran penting dalam pembentukan akar pada eksplan. Pemberian auksin pada media *in vitro* sangat dibutuhkan untuk merangsang eksplan dalam membentuk akar (Devi *et al.*, 2013). Jumlah akar yang diberikan kombinasi konsentrasi ZPT sitokinin yang lebih tinggi tidak memberikan pengaruh berbeda nyata. Pemberian konsentrasi sitokinin tinggi dibandingkan auksin dapat menghambat eksplan dalam membentuk akar. Hasil ini sejalan dengan Mirah *et al.*, (2021) bahwa konsentrasi sitokinin

yang lebih tinggi dari pada auksin akan menekan perkembangan akar pada eksplan. Penelitian Sulasih *et al.*, (2015) juga menyatakan bahwa pembentukan akar sangat dibutuhkan penambahan auksin dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin. Sitokinin cenderung akan menekan pembentukan akar pada planlet.

Kesimpulan

Penggunaan media MS tanpa penambahan ZPT maupun dengan penambahan ZPT mampu memberikan persentase hidup sebesar 100%. Konsentrasi 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP dapat memberikan rata-rata jumlah daun tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 9,0. Konsentrasi ZPT 0,1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L merupakan konsentrasi optimum pada regenerasi eksplan *Cattleya Amazing Thailand* melalui kultur *in vitro*.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti sampaikan ucapan terima kasih pada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas yang sudah membantu dalam kegiatan penelitian ini, sehingga penelitian ini berlangsung dengan baik.

Referensi

- Andaryani, S., Samanhudi, S., & Yunus, A. (2022). Effect of BAP and 2,4-D on callus induction of *Jatropha curcas* in vitro. *Cell Biology and Development*, 3(2). <https://doi.org/10.13057/cellbioldev/v030202>
- Apriliyani, R., & Wahidah, B. F. (2021). Perbanyak anggrek *Dendrobium* sp. secara in vitro: Faktor-faktor keberhasilannya. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, 1(2). <https://doi.org/10.24252/filogeni.v1i2.21992>
- br Sembiring, S. L. N., Siregar, L. A. M., & Kardhinata, E. H. (2018). Keberhasilan Terbentuknya Tunas Mikro Anggrek (*Cattleya Trianae* Lindl & Rchb.Fil.) Dalam Beberapa Komposisi Medium. *Jurnal Agroekoteknologi*, 6(1, Januari).
- Colombo, R. C., Hoshino, R. T., Ferrari, E. A. P., Alves, G. A. C., & de Faria, R. T. (2017). *Cattleya forbesii* x *cattleya bowringiana*: A new hybrid of *cattleya* orchid. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17(2). <https://doi.org/10.1590/1984-70332017v17n2c28>
- Devi, H. S., Devi, S. I., & Singh, T. D. (2013). High frequency plant regeneration system of *Aerides odorata* Lour. Through foliar and shoot tip culture. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1). <https://doi.org/10.15835/nbha4119007>
- Endang Nurcahyani, Yuliana Permata Sari, Elsi Diana, Sumardi, Hardoko Insan Qudus, & Sri Wahyuningsih. (2022). Analysis of reducing sugar levels of *Cattleya* sp. orchid plantlet after induction fusaric acid in vitro. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 14(2). <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.14.2.0369>
- Fatur, H., Rohman, F., Firgiyanto, R., & Selfiana, A. (2023). *Pertumbuhan Tanaman Anggrek Cattleya (Cattleya eximia) secara In- Vitro pada Media MS dengan Substitusi NAA dan BAP In-Vitro Growth of Cattleya Orchid (Cattleya eximia) On MS Media With NAA And BAP Substitution*. 5–7. <https://proceedings.polije.ac.id/index.php/agropross/article/view/517/491>
- Harahap, F., Hariyadi, I., Silitonga, M., Suryani, C., Edi, S., & Ningsih, A. P. (2023). In vitro Growth of *Cattleya* sp Orchid from Leaf Explants with Growth Regulators. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 9(1). <https://doi.org/10.36987/jpbn.v9i1.3945>
- Hariyadi, I., Harahap, F., & Silitonga, M. (2023). Response Formation of *Cattleya* Orchid Leaf Callus (*Cattleya* Sp.) with the Addition of 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid and 6-Benzyl Amino Purine In Vitro. *Science and Technology Applications*, 126. <https://doi.org/10.4028/p-6rj5x0>
- Hossen, M., Saha, S., Khatun, F., & Yasmin, S. (2021). Effects of Plant Growth Regulators on In vitro Growth and Development of Orchid *Dendrobium* sp. from Protocorm Like Bodies (PLBs). *Journal of*

- Bangladesh Agricultural University*, 19(3).
<https://doi.org/10.5455/jbau.72286>
- Isda, M. N., & Fatonah, S. (2014). *Induksi Akar Pada Eksplan Tunas Anggrek *Grammatophyllum scriptum* var . *citrinum* Secara In Vitro Pada Media Ms Dengan Penambahan NAA dan BAP*. 7, 53–57.
<https://doi.org/10.15408/kauniah.v7i2.2715>
- Juras, M. C. R., Jorge, J., Pescador, R., De Melo Ferreira, W., Tamaki, V., & Suzuki, R. M. (2019). In vitro culture and acclimatization of *Cattleya xanthina* (Orchidaceae), an endangered orchid of the Brazilian Atlantic Rainforest. *Rodriguesia*, 70.
<https://doi.org/10.1590/2175-7860201970014>
- Kolachevskaya, O. O., Myakushina, Y. A., Getman, I. A., Lomin, S. N., Deyneko, I. V., Deigraf, S. V., & Romanov, G. A. (2021). Hormonal regulation and crosstalk of auxin/cytokinin signaling pathways in potatoes in vitro and in relation to vegetation or tuberization stages. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15).
<https://doi.org/10.3390/ijms22158207>
- Lawalata, I. J. (2011). Pemberian Beberapa Kombinasi ZPT Terhadap Regenerasi Tanaman Gloxinia (*Sinningia speciosa*) dari Eksplan Batang dan Daun Secara In Vitro. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 1(2), 83–87.
<https://doi.org/10.21776/ub.jels.2011.001.02.04>
- Ma, N. L., Khoo, S. C., Lee, J. X., Soon, C. F., & AB Shukor, N. A. (2020). Efficient micropropagation of *Dendrobium aurantiacum* from shoot explant. *Plant Science Today*, 7(3), 476–482.
<https://doi.org/10.14719/PST.2020.7.3.724>
- Maulia, E., & Basyah, B. (2021). Growth of Patchouli Shoots (*Pogostemon Cablin Benth*) with Several Concentrations of Growth Regulator Substances in Vitro. *Issue 1 Ser. I*, 14.
<http://www.iosrjournals.org/iosr-javs/papers/Vol14-issue1/Series-1/F1401013846.pdf>
- Mehbub, H., Akter, A., Akter, M. A., Mandal, M. S. H., Hoque, M. A., Tuleja, M., & Mehraj, H. (2022). Tissue Culture in Ornamentals: Cultivation Factors, Propagation Techniques, and Its Application. In *Plants* (Vol. 11, Issue 23).
<https://doi.org/10.3390/plants11233208>
- Mirah, T., Undang, U., Sunarya, Y., & Ermayanti, T. M. (2021). Pengaruh Konsentrasi Sitokinin Dan Jenis Media Terhadap Pertumbuhan Eksplan Buku Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) Tetraploid. *Media Pertanian*, 6(1).
<https://doi.org/10.37058/mp.v6i1.2893>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nabila, C. T., Rahmawati, M., & Kesumawati, E. (2022). Pengaruh Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan Benzyl Amino Purin terhadap Induksi Tunas Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin Benth.*) Varietas Tapak Tuan secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 7(4).
<https://doi.org/10.17969/jimfp.v7i4.22394>
- Nisa, N. A., Rahayu, T., & Jayanti, G. E. (2021). Peranan BAP dan Air Kelapa pada Medium VW terhadap Organogenesis *Dendrobium* sp. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(2).
<https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p14>
- Sulasiah, A., Tumilisar, C., & Lestaria, T. (2015). Pengaruh Pemberian Jenis Dan Konsentrasi Auksin Terhadap Induksi Perakaran Pada Tunas *Dendrobium* sp Secara In Vitro. *BIOMA*, 11(2).
[https://doi.org/10.21009/bioma11\(2\).5](https://doi.org/10.21009/bioma11(2).5)
- Tuncer, B. (2021). Development of an efficient in vitro callus proliferation protocol for edible wild rhubarb (*Rheum ribes* L.). *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 20(5).
<https://doi.org/10.24326/asphc.2021.5.11>
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., & Wardiyati, T. (2017). Pengaruh tingkat konsentrasi 2, 4-D dan Bap pada media MS terhadap induksi kalus embriogenik temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*, 5(1).
<https://dx.doi.org/10.21176/protan.v5i1.36>

- 2
- Yanti, D., & Isda, M. N. (2021). Induksi tunas dari eksplan nodus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa bunge.*) dengan penambahan 6-benzyl amino purine (BAP) secara in vitro. *Biospecies*, 14(1). <https://doi.org/10.22437/biospecies.v14i1.11192>
- Zhao, Y. (2008). The role of local biosynthesis of auxin and cytokinin in plant development. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 11, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.10.008>