

Respon Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) Secara *In-Vitro* dengan Penambahan Ekstrak Taoge Dan Benzyl Amino Purine (BAP)

Winda Saputri¹, Mukarlina¹, Riza Linda¹

Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,
Pontianak, email korespondensi: Windasaputri0690@gmail.com

Abstract

Black orchid (*Coelogyne pandurata* Lindl.) is the one type of orchid that spread to Sumatera and Kalimantan. This species of orchid is sought-after because of its potentially high economic value, so it has often been excessively exploited but not widely cultivated. This research aimed to reveal the influence of the extracts of bean sprout and benzyl amino purine (BAP) for the growth of the black orchid (*C. pandurata*). The research was conducted from May to December 2014 at the Laboratory of Tissue Culture, Department of Biology and the *Aloe Vera* Center Pontianak. The experimental design used was the *completely randomized design* (CRD) with 2 treatment level. The first level was extract of bean sprout (0%; 5%; 7.5%; 10%) and second level BAP (0 ppm; 5 ppm; 7.5 ppm; 10 ppm). The results of the research revealed that the shoots appeared the fastest at the combined treatment of 10% bean sprout extract and 10 ppm BAP, i.e. 5.38 days. The number of shoots appeared most at the treatment of 10% bean sprout extract and 10 ppm BAP with shoots appearing at an average of 3.79 ppm. The addition of 5% bean sprout extract resulted in the highest average number of leaves i.e. 3.77.

Keywords: *Coelogyne pandurata*, extract of bean sprout, BAP, growth

PENDAHULUAN

Anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) merupakan salah satu anggrek yang tersebar di Sumatera dan Kalimantan. Anggrek ini banyak diminati karena memiliki ciri khas yaitu bagian bunga yang berbentuk lidah (*labellum*) berwarna hitam. Potensi anggrek sebagai tanaman hias yang bernilai ekonomi tinggi, menyebabkan anggrek ini sering dieksploitasi secara berlebihan. Kegiatan eksploitasi anggrek hutan dari alam dapat mengakibatkan kepunahan bila tidak diimbangi dengan usaha konservasi.

Usaha yang dapat dilakukan untuk menekan laju kepunahan adalah dengan memperbanyak tanaman baik secara konvensional maupun *in vitro*. Perbanyak tanaman secara *in vitro* mengasikkan tanaman yang memiliki sifat yang sama dengan induknya (Wattimena, 1992). Penggunaan senyawa organik pada media kultur dapat membantu pertumbuhan eksplan. Taoge kacang hijau mengandung asam amino esensial triptofan, treonin, fenilalanin, metionin, lisin, leusin isoleusin dan valin (Suprpto, 1992). Penelitian Amilah dan Astuti (2006), konsentrasi ekstrak taoge 150 g/L memberikan pengaruh yang terbaik terhadap pertumbuhan anggrek bulan dengan menunjukkan

hasil yang tertinggi yaitu 2,42 cm tinggi planlet dan 1,27 panjang daun. Sitokinin sintetik yang umum digunakan adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP) yang berperan untuk memacu terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus dan pertumbuhan tunas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak taoge dan BAP dan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan anggrek hitam (*C. pandurata* L.).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan selama 7 bulan yaitu dari bulan Mei sampai Desember 2014. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak dan Laboratorium *Aloe vera* Center Pontianak.

Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 taraf perlakuan. Taraf pertama ekstrak taoge (0%, 5%, 7,5%, 10%), taraf kedua BAP (0 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm).

Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok berdasarkan pengelompokan yaitu larutan stok ekstrak taoge, stok hormon BAP, stok makro, stok mikro, stok Fe-EDTA dan stok vitamin. Taoge yang digunakan ditimbang sebanyak 1000 g dan dihaluskan menggunakan blander dengan penambahan air 500 ml. Ekstrak taoge tersebut disaring dan air hasil saringan merupakan stok ekstrak taoge 100%. Larutan stok BAP dibuat sebanyak 30 ppm, dengan cara menimbang 3 g dan dilarutkan dalam 1000 mL akuades. Pembuatan larutan stok.

Pembuatan Media

Pembuatan media yaitu dengan cara melarutkan 30 g gula pasir ke dalam akuades 1000 mL dan ditambahkan 7 g agar-agar. Media dipanaskan sampai mendidih dan dilarutkan hingga merata, ditambahkan larutan stok makro, mikro, Fe-EDTA dan vitamin. Selanjutnya ditambahkan ekstrak taoge dan BAP sesuai konsentrasi perlakuan. pH media diatur dengan kisaran 6-7 menggunakan kertas pH. Media dimasukkan ke dalam botol kultur dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Multiplikasi Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di *Lamina Air Flow Cabinet* (LAFC). Sebelum digunakan terlebih dahulu LAFC disterilkan dengan alcohol 70%, semua pralatan dan media serta eksplan dimasukkan ke dalam LAFC. LAFC dihidupkan selama 30 menit sebelum melakukan penanaman. Eksplan anggrek berasal dari hasil kultur biji *in vitro* dikeluarkan dari botol kultur menggunakan pinset dan diletakkan di atas cawan petri dan dipisah-pisahkan. Selanjutnya eksplan dipindahkan kedalam media multiplikasi sesuai perlakuan. Botol-botol yang telah berisi eksplan disimpan pada rak di ruangan inkubasi dengan suhu 27 °C.

Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan pada kultur anggrek hitam yaitu waktu muncul tunas (hari), jumlah tunas (tunas) dan jumlah daun (helai).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Analisis Varian (ANOVA) dua jalur dengan program SPSS 20. Hasil uji ANOVA transformasi SQRT yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Waktu Muncul Tunas

Waktu muncul tunas anggrek (*C. pandurata* L.) menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada faktor ekstrak taoge ($F_{3,48} = 4,725, p = 0,008$; ANOVA), faktor BAP ($F_{3,48} = 10,265, p = 0,000$; ANOVA) dan faktor interaksi antara ekstrak taoge dan BAP ($F_{9,48} = 3,596, p = 0,003$). Konsentrasi 10% ekstrak taoge yang dikombinasikan dengan 10 ppm BAP dapat menghasilkan rerata waktu muncul tunas tercepat yaitu 5,38 hari, sedangkan waktu muncul terlama 6,85 hari dihasilkan kombinasi konsentrasi 10% ekstrak taoge dengan 5 ppm BAP (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata Waktu Muncul Tunas Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan Ekstrak Taoge dan BAP (Hari) Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Ekstrak Taoge (%)			
	0	5	7,5	10
0	5,93	5,59	5,65	5,62
5	6,79	5,86	5,54	6,85
7,5	5,59	5,72	5,56	5,62
10	5,87	5,94	5,47	5,38*

Keterangan: *: Menunjukkan waktu muncul tunas tercepat

Perlakuan ekstrak taoge tunggal memperlihatkan bahwa konsentrasi 7,5% berbeda nyata dengan kontrol (0%) dan 10% tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 5% (Tabel 2)

Tabel 2. Waktu Muncul Tunas Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan Ekstrak Taoge Hasil Transformasi

Ekstrak Taoge (%)	Waktu Muncul Tunas (Hari)
0	6,05 ^b
5	5,77 ^{ab}
7,5	5,56 ^a
10	5,87 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.

Waktu muncul tunas pada perlakuan tunggal BAP 7,5 ppm dan 10 ppm tidak berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 3).

Tabel 3. Waktu Muncul Tunas Anggrek (*C. pandurata*L.) Perlakuan BAP Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Waktu Muncul Tunas (Hari)
0	5,69 ^a
5	6,26 ^b
7,5	5,62 ^a
10	5,67 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.

Jumlah Tunas

Jumlah tunas anggrek (*C. pandurata* L.) menunjukkan hasil berbeda nyata pada faktor ekstrak taoge ($F_{3,48} = 3,664, p = 0,022$; ANAVA), BAP ($F_{3,48} = 5,053, p = 0,006$; ANAVA) dan interaksi ekstrak taoge dengan BAP ($F_{9,48} = 5,000, p = 0,000$; ANAVA).Perlakuan konsentrasi 10% ekstrak taoge yang dikombinasikan dengan konsentrasi 10 ppm BAP dapat menghasilkan rerata jumlah tunas terbanyak yaitu 3,79 tunas, sedangkan yang paling sedikit jumlah tunasnya pada kombinasi kontrol (0%) dengan 5 ppm BAP dan kombinasi 10% ekstrak taoge dan 5 ppm BAP yaitu 0,47 tunas(Tabel 4).

Tabel 4.Rerata Jumlah Tunas Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan Ekstrak Taoge dan BAP Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Ekstrak Taoge (%)			
	0	5	7,5	10
0	3,29	2,97	3,35	1,55
5	0,47	2,43	3,31	0,47
7,5	2,59	1,79	2,79	2,21
10	2,231	2,06	2,37	3,79*

Keterangan: *: Menunjukkan hasil interaksi ekstrak taoge dan BAP tertinggi

Tabel 5. Jumlah Tunas Anggrek (*C. pandurata*L.) Perlakuan Ekstrak Taoge Hasil Transformasi

Ekstrak Taoge (%)	Jumlah Tunas (Tunas)
0	2,15 ^a
5	2,32 ^a
7,5	2,96 ^b
10	2,01 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.

Jumlah tunas pada perlakuan tunggal ekstrak taoge konsentrasi 7,5% berbeda nyata dengan kontrol dan perlakuan lainnya(Tabel 5).

Jumlah tunas pada perlakuan tunggal BAP konsentrasi 5 ppm berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm), 7,5 ppm dan 10 ppm(Tabel 6).

Tabel 6. Jumlah Tunas Anggrek (*C. pandurata*L.) Perlakuan BAP Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Jumlah Tunas (Tunas)
0	2,79 ^b
5	1,67 ^a
7,5	2,35 ^b
10	2,62 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.

Jumlah Daun

Perlakuan ekstrak taoge ($F_{3,48} = 8,869, p = 0,000$; ANAVA), BAP ($F_{3,48} = 3,541, p = 0,025$; ANAVA), serta interaksi ekstrak taoge dan BAP ($F_{9,48} = 3,916, p = 0,002$; ANAVA) berbeda nyata untuk parameter jumlah daun. Perlakuan konsentrasi 5% ekstrak taoge menghasilkan rerata jumlah daun yang terbanyak yaitu 3,77 helai, sedangkan yang paling sedikit yaitu 0,33 pada konsentrasi 0% ekstrak taoge dengan 5 ppm BAP dan 10% ekstrak taoge dengan 5 ppm BAP (Tabel 7).

Tabel 7.Rerata Jumlah Daun Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan dengan Ekstrak Taoge dan BAP Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Ekstrak Taoge (%)			
	0	5	7,5	10
0	2,53	3,77*	3,32	0,81
5	0,33	2,36	3,29	0,33
7,5	2,52	1,99	3,35	1,88
10	1,88	1,61	2,45	2,93

Keterangan: *: Menunjukkan hasil interaksi ekstrak taoge dan BAP terbanyak

Perlakuan ekstrak taoge tunggal konsentrasi 7,5% menghasilkan jumlah daun terbanyak tetapi tidak berbeda nyata dengan 5%. Konsentrasi 10% berbeda nyata dengan konsentrasi 5% dan 7,5%. Sedangkan 7,5% berbeda nyata dengan kontrol dan 10%(Tabel 8).

Tabel 8. Jumlah Daun Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan Ekstrak Taoge Hasil Transformasi

Ekstrak Taoge (%)	Jumlah Daun (Helai)
0	1,82 ^{ab}
5	2,44 ^b
7,5	3,10 ^c
10	1,48 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.

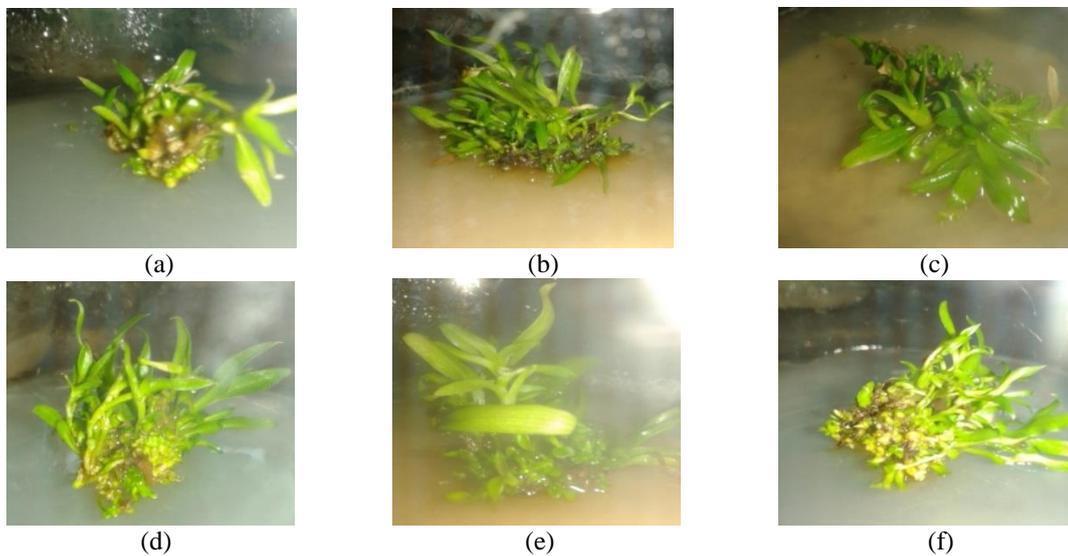
Perlakuan BAP tunggal menunjukkan hasil jumlah daun pada konsentrasi 5 berbeda nyata dengan

kontrol dan 7,5 ppm, tetapi tidak berbeda nyata dengan 10 ppm(Tabel 9).

Tabel 9. Jumlah Daun Anggrek (*C. pandurata* L.) Perlakuan BAP Hasil Transformasi

BAP (ppm)	Jumlah Daun (Helai)
0	2,61 ^b
5	1,58 ^a
7,5	2,44 ^b
10	2,22 ^{ab}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan.



Gambar 1. Kultur *In Vitro* Anggrek Hitam (*C. pandurata* L.)

Keterangan: a. (0% ekstrak taoge + 0 ppm BAP)d.(10% ekstrak taoge + 10 ppm BAP)

b. (7,5% ekstrak taoge + 7,5 ppm BAP)

c. (5% ekstrak taoge + 0 ppm BAP)

e. (7,5% ekstrak taoge + 5 ppm BAP)

f. (10% ekstrak taoge + 10 ppm BAP)

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan kombinasi konsentrasi 10% ekstrak taoge dan 10 ppm BAP menunjukkan rerata waktu muncul tunas tercepat yaitu 5,38 hari dan rerata jumlah tunas terbanyak yaitu 3,79 tunas (Tabel 1 dan Tabel 4). Konsentrasi auksin pada ekstrak taoge dan BAP mampu bekerja secara sinergis dalam memacu pembelahan sel. Abidin (1993) menyatakan bahwa kerja auksin dan sitokinin dalam perimbangan yang tepat akan menghasilkan pertumbuhan yang baik. Interaksi antara auksin dan sitokinin berperan dalam mengontrol pertumbuhan dan diferensiasi sel.

Auksin dapat merangsang sel-sel primordial tunas berproliferasi dan memacu diferensiasi, sedangkan sitokinin berpengaruh terhadap inisiasi tunas (Badriah *et al.*, 1998 dalam Yuniastuti *et al.*, 2010; Untari dan Puspitaningtyas 2006). Auksin berperan dalam sintesis nukleotida DNA dan RNA serta sintesis protein dan enzim yang selanjutnya digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan. Pemanjangan sel terjadi karena adanya proses pembelahan, pemanjangan dan pembesaran sel. Sedangkan sitokinin BAP berperan memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat merangsang pembelahan sel (Chaerudin *et al.*, 1996; Gardner *et al.*, 1991).

Secara umum rasio sitokinin yang tinggi dari auksin akan memacu terbentuknya tunas dan jika konsentrasi sitokinin rendah kalus tidak terdiferensiasi (Lee, 2002). Menurut Yustina, (2004), jika konsentrasi sitokinin dan auksin tinggi maka akan memacu pembentukan tunas, sedangkan jika konsentrasi sitokinin dan auksin rendah akan memacu pembentukan akar dan jika konsentrasi keduanya seimbang akan memacu pembentukan kalus. Namun konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin atau sitokinin untuk pertumbuhan tunas pada setiap tanaman memberikan respon pertumbuhan tanaman yang berbeda-beda.

Perlakuan ekstrak taoge tunggal pada konsentrasi 7,5% mampu memacu pertumbuhan angrek yang memberikan waktu muncul tunas tercepat dan jumlah tunas terbanyak (Tabel 2 dan Tabel 5). Auksin dalam ekstrak taoge yang diberikan dapat berinteraksi dengan sitokinin endogen untuk merangsang pembentukan tunas. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa auksin yang diberikan secara tunggal akan berinteraksi dengan zpt endogen untuk memacu pembelahan sel. Ekstrak taoge selain mengandung auksin juga memiliki kandungan asam amino tryptophan yang merupakan zat organik terpenting dalam biosintesis auksin, memiliki kandungan mineral seperti kalsium, besi, magnesium, fosfor dan seng yang berperan dalam pembentukan tunas (Soeprapto, 1992).

Menurut Permadi (2004) kalsium merupakan komponen yang memperkuat dinding sel dan memacu pembelahan sel, pemanjangan sel, sintesa protein, mengangkut karbohidrat ke bagian yang membutuhkan. Fosfor banyak dibutuhkan tanaman untuk pertumbuhan vegetatif. Fosfor bersama-sama unsur C,H,O dan N akan membentuk protein untuk perkembangan sel (Sriyanti, 2000). Magnesium merupakan unsur pokok pembentuk klorofil yang berperan dalam fotosintesis menghasilkan cadangan makanan untuk pertumbuhan tanaman seperti batang, daun dan akar, sedangkan Tryptophan adalah zat organik yang terpenting dalam proses biosintesis *Indole Acetic Acid* (Hardjowigeno 1995; Abidin, 1993). Hasil penelitian Amilah dan Astuti (2006), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak taoge tunggal memberikan pengaruh yang baik terhadap pertumbuhan angrek bulan

(*Phalaenopsis amabilis*, L) yaitu pada parameter tinggi planlet dan panjang daun.

Jumlah daun yang terbanyak diperoleh dari perlakuan ekstrak taoge konsentrasi 5% dan 7,5% yaitu 3,77 helai dan 3,35 helai (Tabel 7). Konsentrasi auksin dalam ekstrak taoge yang berinteraksi dengan sitokinin endogen sudah mampu memacu pembelahan sel-sel primordia daun. Auksin yang terkandung dalam ekstrak taoge memberikan pengaruh dalam pertumbuhan daun karena auksin dapat membantu dalam pembesaran sel daun. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan auksin membantu dalam pembesaran sel dan pemanjangan sel. Menurut Hardjowigeno (1995), penambahan ekstrak taoge yang mengandung mineral seperti magnesium juga berperan dalam pembentukan daun. Magnesium berperan dalam pembentukan klorofil yang diperlukan untuk proses fotosintesis yang menghasilkan karbohidrat yang dibutuhkan tanaman sebagai sumber energi untuk pertumbuhan, menghasilkan protein sebagai sumber nitrogen yang berperan merangsang pertumbuhan vegetatif tanaman, selain itu berpengaruh dalam sintesa asam amino.

Berdasarkan hasil penelitian, penggunaan BAP tunggal kurang efektif untuk memacu pertumbuhan angrek hitam, yaitu terlihat dari parameter waktu muncul tunas, jumlah tunas dan jumlah daun (Tabel 3, 6 dan Tabel 9). Hal ini diduga pada media dan eksplan yang digunakan mampu menghasilkan sitokinin endogen yang akan memacu pembelahan sel, sehingga adanya penambahan sitokinin eksogen menyebabkan kelebihan kandungan sitokinin yang juga dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Santoso dan Nursandi (2004) menyatakan bahwa zpt dapat menjadi penghambat pertumbuhan jika jumlah dalam tanaman melebihi konsentrasi yang diperlukan. Menurut Alitalia (2008) penggunaan BAP dalam konsentrasi rendah atau tidak ditambahkan BAP cukup efisien untuk menghasilkan daun. Hasil penelitian Yuniastuti, *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi BAP yang diberikan, waktu muncul tunas semakin lama dan menurunnya jumlah daun pada tumbuhan *Anthurium andraeanum* Linden). Arnita (2008) menjelaskan sitokinin dan auksin bekerja sama untuk memacu pembelahan sel dan mempengaruhi diferensiasi sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z, 1993, *Dasar-Dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*, Angkasa, Bandung.
- Alitalia, Y, 2008, Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *In vitro*, IPB, Bogor,
- Amilah & Astuti, Y, 2006, 'Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin dan Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis ambilis* L.)', *Bulletin Penelitian* no. 9, hal. 2-7, diakses 20 Februari 2013, <<http://www.digilib.its.ac.id/public/ITS-paper-31840-1507100003-Paper.pdf>>.
- Arnita, R, 2008, *Pengaruh Konsentrasi Sitokinin dan Takaran Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Pule Pandak (Rauwolfia serpentine (L.) Benth. Ex Kurz)*, Skripsi, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Badriah, D, Mathius, NT & Sutater, T, 1998, Tanggapan Dua Kultivar Gladiol Terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyakan *In vitro*, *J. Hort*, vol. 8, no. 2, diakses 4 Februari 2013, <<http://www.download.portalgaruda.org/article.php?article>>
- Chaerudin, TS, Supriatun, T & Bavadal, A, 1996, *Multiplikasi Tunas Tanaman Mentha arvensis Melalui Kultur Jaringan*, Fakultas MIPA Universitas Padjajaran.
- Gardner, FP, Pearce, RB & Mitchell, RL, 1991, *Fisiologi Tanaman Budidaya*, UI Press, Jakarta.
- George, EF & Sherrington, PD, 1984, *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Commercial Laboratories'* Exegetics Ltd, Eversley, Basingtoke, Hants, England.
- Hardjowigeno, S, 1995, *Ilmu Tanah*, Akademi Pressindo, Jakarta.
- Lee, DJ, 2002, *The Regulation of Korean Radish Cationic Peroxidase Promoter by a Low Ratio of Cytokinin to Auxin*, *Plant Science*, 162, 345-353.
- Permadi, I, 2004, *Pengaruh Tingkat EC (Elektrik Conductivity) Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Empat Varietas Sawi (Brassica juncea L.) pada System Hidroponik*, Skripsi, Fakultas Manajemen Agribisnis, Universitas Mercu Buana, Jakarta.
- Salisbury, FB & Ross, CW, 1995, *Fisiologi Tumbuhan*, Jilid 1, ITB, Bandung, Hal.241
- Santoso, U & Nursandi, F, 2004, *Kultur Jaringan Tanaman*, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Soeprapto, HS, 1992, *Bertanam Kacang Hijau*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sriyanti, DH, 2000, *Pembibitan Anggrek Dalam Botol*, Kanisius, Yogyakarta.
- Untari, R, Puspitaningtyas, DM, 2006, 'Pengaruh Bahan Organik dan NAA Terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur *in vitro*', *Biodiversitas*, vol. 7, no. 3, hal. 344-348, diakses 20 Februari 2013, <<http://www.biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D0704/D070409.pdf>>.
- Wattimena, GA, 1992, *Bioteknologi Tanaman*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Dikti, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yuniasuti, E, Praswanto & Harminingsih, I, 2010, Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multipikasi Tunas Anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden) pada Beberapa Media Dasar Secara *In vitro*, *J. Caraka Tani XXV*, no 1, hal. 2-7, diakses 20 Februari 2013, <<http://www.digilib.its.ac.id/public/ITS-Undergraduate.Bibliography.pdf>>.
- Yustina, 2003, *Kultur Jaringan; Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*, Agro Medika Pustaka, Jakarta.