

**SUBSTITUSI MEDIUM DAN SITOKININ UNTUK MULTIPLIKASI
TUNAS ANGGREK *Vanda tricolor* (MEDIUM SUBSTITUTION AND
CYTOKINE FOR MULTIPLICATION of ORCHIDS *Vanda tricolor*).**

Imam Hidayat
Innaka Ageng Rineksane/Gatot Supangkat
Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian UMY

ABSTRACT

The Vanda tricolor orchids are endemic orchids, which are grown around the slopes of Merapi volcano. The use of growing regulators on three growth medium can affect the growth of the Vanda tricolor orchids. The research aims to obtain a medium and a substitution cytokinins to the multiplication of the Vanda tricolor orchids. The study uses the complete randomized design of a single factor, which is stacked in as many as 6 treatments: the 3g/L leaf fertilizer Medium; POC 3ml/L and MS 4, 43g are added Thidiazuron 2mg/L, young corn extract 100ml/L. The results showed the POC 3ml/L Thidiazuron 2mg/L and the 100ml/L young corn extract could induce callus. POC 3ml/L Thidiazuron 2mg/L indicates the number of larger leaves (1.15 strands), the color of the leaf with a score (4/2.5 green yellow). Medium POC 3ml/L and Young corn extract 100ml/L can be a medium substitution and cytokine for the multiplication of the Vanda tricolor orchids.

Keywords: Vanda tricolor, liquid organic fertilizer, leaf manure, young corn extract, Thidiazuron.

INTISARI

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik, yang banyak tumbuh di sekitar lereng gunung Merapi. Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh pada tiga medium pertumbuhan dapat mempengaruhi pertumbuhan anggrek *Vanda tricolor*. Tujuan penelitian mendapatkan medium dan sitokinin substitusi untuk multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal, yang di susun dalam sebanyak 6 perlakuan yaitu: Medium pupuk daun 3g/L; POC 3ml/L dan MS 4,43g yang ditambahkan *Thidiazuron* 2mg/L, ekstrak jagung muda 100ml/L. Hasil penelitian menunjukkan Perlakuan POC 3ml/L + *Thidiazuron* 2mg/L dan ekstrak jagung muda 100ml/L dapat menginduksi kalus. POC 3ml/L + *Thidiazuron* 2mg/L menunjukkan angka pertambahan jumlah daun lebih besar (1.15 helai), warna daun dengan skor (4/2,5 green yellow). Medium POC 3ml/L dan Ekstrak Jagung muda 100ml/L dapat menjadi substitusi medium dan sitokinin untuk multiplikasi tunas anggrek *Vanda tricolor*.

Kata kunci : *Vanda tricolor*, Pupuk organik cair, pupuk daun, Ekstrak jagung muda, *Thidiazuron*.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek *Vanda tricolor* merupakan anggrek endemik kawasan lereng Gunung Merapi. Erupsi merapi menimbulkan semburan awan panas, dan kebakaran hutan di lereng gunung sehingga menghancurkan 80% habitat. Selain itu, populasi dari anggrek ini juga berkurang akibat eksploitasi oleh masyarakat yang membawa Anggrek *Vanda tricolor* keluar dari habitat aslinya hanya untuk koleksi atau menjualnya ke luar daerah (Metusala, 2006).

Badan Pusat Statistik juga menghimpun data pada tahun 2016, menunjukan bahwa produksi anggrek pada tahun 2012 mengalami penurunan hingga tahun 2014, dengan data tahun 2012 adalah 20.727.891 tangkai, tahun 2013 adalah 20.277.672 tangkai, dan tahun 2014 adalah 19.739.627 tangkai. Pada tahun 2015 anggrek mengalami peningkatan yang cukup signifikan yaitu 21.513.280 tangkai, dan pada tahun 2016 menunjukkan hal sebaliknya yang mana hanya 11.523.610 tangkai (Kementan, 2016).

Salah satu alternatif teknik perbanyakan *Vanda tricolor* yaitu melalui kultur *in vitro*. Melalui metode ini, dapat diperoleh ratusan anggrek yang memiliki sifat yang sama dengan induknya dan pertumbuhannya relatif seragam dalam waktu relatif singkat (Sandra, 2003). *Thidiazuron* merupakan jenis zat pengatur tumbuh sitokinin sintesis yang mampu menstimulasi terjadinya multiplikasi tunas pada eksplan tanaman yang ditumbuhkan secara kultur jaringan. Salah satu sumber zat pengatur tumbuh alami yang dapat digunakan dalam kultur *in vitro* adalah ekstrak jagung muda sebagai sumber sitokinin.

Penelitian dengan menggunakan media MS untuk anggrek telah dilakukan oleh Pasanda (2016). Medium alternatif pengganti medium MS dengan bahan dasar pupuk daun lebih ekonomis. Pupuk daun mengandung unsur-unsur hara makro N, P, K, Ca, dan Mg serta unsur hara mikro sebagai tambahan seperti Fe, Cu, Mo, Mn,

dan Zn (Meriyanto dkk., 2016). Selain itu, menurut Siboro dkk., (2013), Pupuk Organik Cair adalah pupuk yang berbahan dasar dari hewan atau tumbuhan yang telah mengalami fermentasi dan produknya berupa cairan dan memiliki kandungan unsur hara makro dan mikro Hadisuwito (2012),

Penelitian ini akan menguji penggunaan medium MS , pupuk daun, pupuk organik cair, dan sumber sitokinin sebagai ZPT terhadap induksi tunas *Vanda tricolor*.

B. Rumusan masalah

Bagaimanakah pengaruh substitusi berbagai medium, dan sitokinin untuk multiplikasi tunas Anggrek *Vanda tricolor* dengan Kultur *in vitro* ?

C. Tujuan Penelitian

Menentukan sitokinin dan jenis medium terbaik untuk multiplikasi anggrek *Vanda tricolor*.

II. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur *in vitro* Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Desember 2018 – Februari 2019.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari eksplan tunas steril anggrek *Vanda tricolor*, medium MS, Pupuk Daun , Pupuk organik cair, clorox, alkohol 70%, spiritus, tisu, plastik kaca, karet gelang, kertas saring, aluminium foil, akuades, ZPT TDZ , dan ekstrak Jagung muda.

Alat penelitian yang digunakan meliputi: botol kultur, lampu Bunsen, Autoklaf, LAF, pinset, plastik wrap, petridish, pisau, *scalpel*, pinset, *erlenmayer*, blender, aluminium *foil*, alat pengukur yaitu pH stik, gelas ukur, pipet ukur, *stirer*, oven, plastic, sprayer, timbangan analitik, *wheaton unisperse*, peralatan glassware, dan Mikroskop Stereo SZM45 B2

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen di laboratorium dengan rancangan percobaan faktor tunggal, yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap sebanyak 6 perlakuan yaitu kombinasi macam medium (Pupuk daun 3g/L; POC 3ml/L dan MS 4,43g) serta macam sitokinin (*Thidiazuron* 2mg/L, ekstrak jagung muda 100ml/L) dan semua perlakuan di tambahkan arang aktif 0,2 g/L

A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, setiap ulangan terdiri dari 3 sampel, setiap sampel terdiri dari 1 eksplan sehingga total unit perlakuan sebanyak 54 botol.

D. Cara Penelitian

1. Sterilisasi alat

Sterilisasi basah dilakukan untuk botol kultur, gelas piala, cawan petri, erlenmeyer, pinset, dan pipet. Sterilisasi bakar dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) sebelum proses penanaman dengan memasukkan alat (skalpel, gunting, pinset) ke dalam alkohol 70% kemudian dibakar di atas lampu bunsen.

2. Pembuatan stok ZPT

a. Thidiazuron

$$\text{Kebutuhan TDZ} = \frac{\text{Total larutan setiap ulangan (ml)}}{1000 \text{ ml aquadest}} \times \text{TDZ (ml)}$$

b. Pembuatan Ekstrak Jagung Muda

Membuat ekstrak jagung muda dengan cara memblender jagung muda hingga menjadi ekstrak kemudian diambil sesuai perlakuan yaitu 100ml/L untuk 200 ml larutan.

3. Pembuat medium pada setiap perlakuan

Medium dibuat sebanyak 200 ml yang berisi medium MS, POC, Pupuk daun, *Thidiazuron*, Ekstrak jagung muda, *sukrosa*, phytigel, ppm, arang aktif, dan aquadest.

4. Penanaman

a. Persiapan eksplan

Eksplan tersebut disubkultur ke dalam medium MS 0 dahulu yang berfungsi menghomogenkan eksplan. Setelah inkubasi dalam medium MS 0 selama 1 minggu eksplan siap digunakan.

b. Inokulasi eksplan

Penanaman dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* secara aseptik dan steril.. Setiap satu botol berisi satu eksplan.

5. Inkubasi

Suhu inkubasi kultur antara 24-27⁰C dan kelembaban berkisar 70% serta intensitas cahaya 1000 lux selama 24 jam setiap harinya. Botol-botol diletakkan secara acak kemudian diamati pertumbuhannya sesuai dengan parameter pengamatan yang telah ditentukan.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama delapan (8) minggu dengan variabel pengamatan pertumbuhan.

E. Parameter yang diamati

a. Keberhasilan Hidup

1. Persentase eksplan hidup (%)
2. Persentase eksplan kontaminasi (%)
3. Persentase eksplan *browning* (%)
4. Persentase eksplan vitrifikasi (%)

b. Perkembangan Kalus

1. Persentase eksplan berkalus (%)
2. Pengamatan Pertumbuhan Tunas

c. Pertumbuhan Tunas

1. Tinggi Tunas
2. Pertumbuhan Jumlah Daun
3. Warna daun

F. Analisis Data

Data hasil pengamatan akan dianalisis menggunakan sidik ragam (*Analysis of Variance*) pada taraf kesalahan $\alpha = 5\%$, apabila ada beda nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada jenjang $\alpha 5\%$.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, *Browning* dan *Vitrifikasi*

Gambaran tingkat keberhasilan kultur in vitro dapat diketahui melalui persentase eksplan hidup, kontaminasi, *browning* dan vitrifikasi.

Tabel 1. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap persentase eksplan hidup, kontaminasi, *browning*, dan vitrifikasi *Vanda tricolor* pada 8 MST.

| Perlakuan | Eksplan Hidup (%) | Eksplan <i>Browning</i> (%) | Eksplan Kontaminasi (%) | Vitrifikasi (%) |
|--|-------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------|
| Pupuk daun 3g/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L | 55,6 | 44,4 | 0 | 33,3 |
| Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L | 22,23 | 77,67 | 0 | 33,3 |
| POC 3ml/L + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L | 100 | 0 | 0 | 0 |
| POC 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L | 88,9 | 22,2 | 0 | 11,1 |
| Medium MS + TDZ (<i>Thidiazuron</i>) 2mg/L | 55,53 | 44,47 | 0 | 33,3 |
| Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L | 33,3 | 66,67 | 0 | 11,1 |

1. Persentase Eksplan Hidup

Hasil analisis pada tabel juga menunjukkan bahwa perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L (100) dan POC 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L (88,9) merupakan hasil yang tertinggi di dalam penelitian ini, sedangkan perlakuan Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L dan Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L persentase eksplan hidup kurang dari 50%. Pada setiap medium dengan penambahan ekstrak jagung muda memberikan pengaruh penurunan persentase eksplan hidup yang disebabkan oleh peningkatan *browning*. Ekstrak jagung muda yang mengalami kerusakan secara mekanis pada saat proses pembuatannya dapat memacu kerusakan. integritas jaringan tanaman.

2. Persentase Eksplan *Browning*



Gambar 1. Eksplan *Vanda tricolor* yang mengalami *Browning*.

○ : Menunjukkan *Browning*

Pada penelitian ini Pupuk daun 3g/L + Ekstrak Jagung muda 100ml/L menunjukkan tingkat *browning* yang sangat tinggi yaitu di atas 50% (77,67%). Penambahan ekstrak jagung muda pada medium perlakuan memberikan pengaruh peningkatan persentase eksplan *browning*. Hasil yang tidak mengalami *browning* Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ

(*Thidiazuron*) 2mg/L yaitu (0%). TDZ mampu menginduksi dengan baik sehingga dapat mendorong pembelahan sel. Selain itu, keberhasilan penanaman eksplan Anggrek *Vanda tricolor* juga dipengaruhi oleh arang aktif yang diberikan pada setiap perlakuan. Menurut Madhusudhanan dan Rohiman (2000), arang aktif sendiri dapat mengurangi pencoklatan pada medium yang diakibatkan pemanasan tinggi setelah sterilisasi dan menyerap senyawa fenol yang keluar dari jaringan tanaman yang terluka pada saat tahap inisiasi (Fridborg dan Erikson, 1975). Persentase eksplan *browning* ditunjukkan pada Gambar 1.

3. Persentase Eksplan Kontaminasi

Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan eksplan Anggrek tidak mengalami kontaminasi (0%) pada semua perlakuan, hal ini dikarenakan oleh beberapa faktor yaitu eksplan yang digunakan merupakan eksplan yang berasal dari kultur steril dan sterilisasi alat, bahan serta medium yang sudah tepat sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya *browning*. Pada setiap medium perlakuan diberikan PPM (*Plant Preservative Mixture*) yang dapat membantu meminimalisir terjadinya kontaminasi.

4. Persentase Vitrifikasi



Gambar 2. Eksplan *Vanda tricolor* yang mengalami Vitrifikasi

○ : Menunjukkan Vitrifikasi

Berdasarkan data Tabel 1, vitrifikasi yang terjadi pada penelitian ini rendah yaitu antara 11,1 – 33,3 %. Pada perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L menunjukkan persentase vitrifikasi terendah yaitu 0%. Vitrifikasi pada umumnya berhubungan dengan eksplan yang mengalami *browning*. Vitrifikasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti jenis eksplan yang digunakan, kelembaban relative tinggi, intensitas cahaya rendah dan ketidakseimbangan unsur mikro dan hormon. Persentase eksplan yang mengalami vitrifikasi disajikan pada Gambar 2.

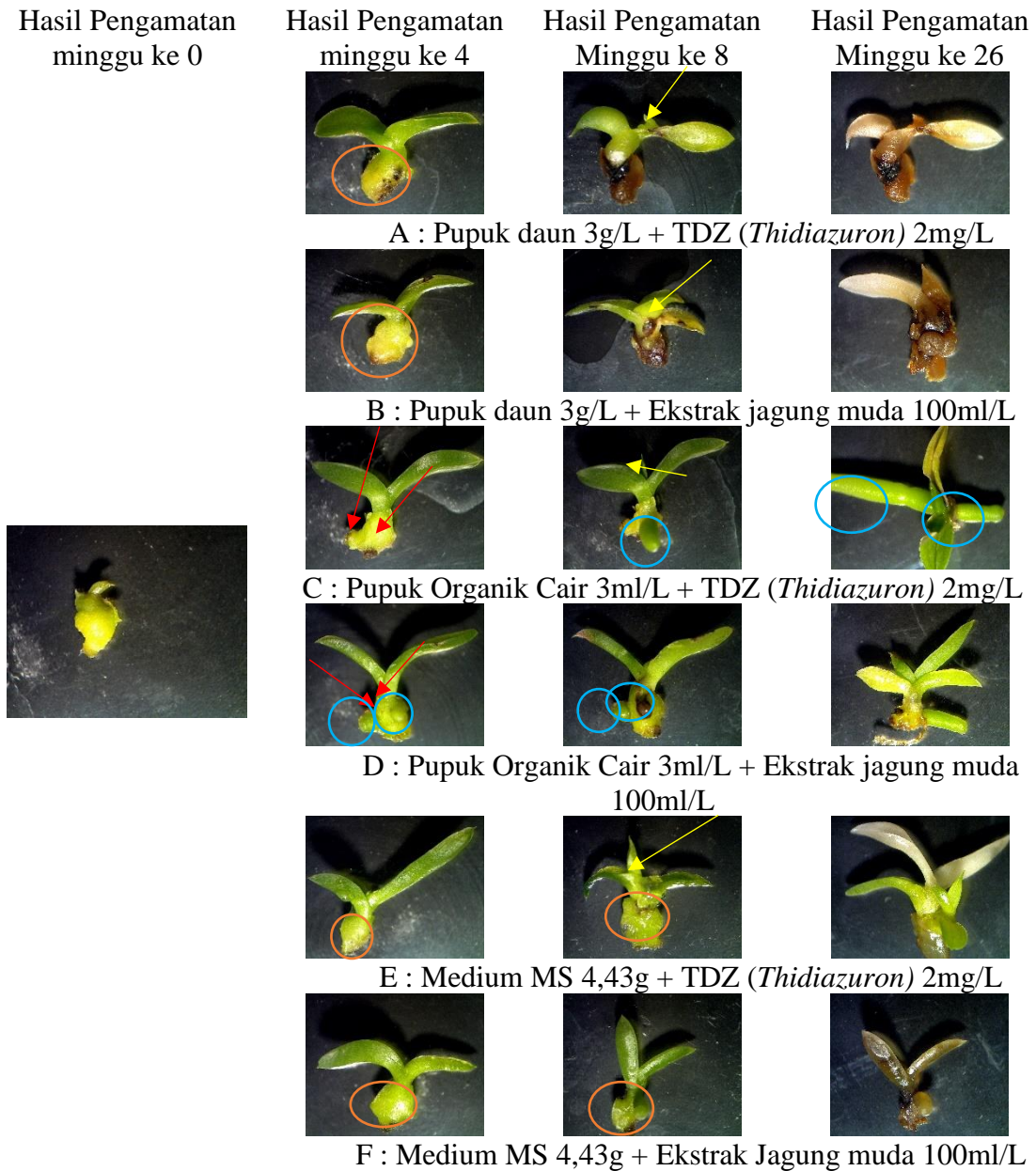
B. Pertumbuhan Eksplan Tunas Anggrek *Vanda tricolor*





1. Persentase Eksplan berkalus

Pembentukan kalus terjadi pada beberapa perlakuan pada minggu ke-4 yaitu perlakuan POC (Pupuk Organik Cair) 3ml/L yang ditambahkan TDZ (*Thidiazuron*) dan Ekstrak jagung muda. Hal ini diduga medium POC mampu menginduksi kalus karena mengandung ZPT yaitu auksin, dan sitokinin. Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh tanaman yang seringkali digunakan untuk menginduksi morfogenetik tanaman (Zulkarnain, 2007).

2. Pengamatan Pertumbuhan Tunas.

Pengamatan perkembangan tunas dilakukan pada 4 MST dan 8 MST disajikan pada Gambar 3.



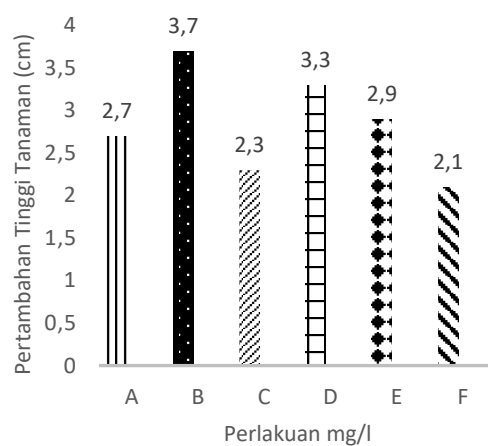
-  : Menunjukkan kemunculan Kalus
-  : Menunjukkan kemunculan daun
-  : Menunjukkan akar
-  : Menunjukkan pembengkakan

Gambar 3. Perkembangan kalus Anggrek *Vanda tricolor* pada Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) pada minggu ke-0 , ke-4, dan ke-8 MST

Dari hasil pengamatan perkembangan tunas 0 mst , 4 mst , dan 8 mst menunjukkan adanya pembentukan kalus pada perlakuan Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L dan Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L. Hal ini diduga dalam ekstrak jagung muda terdapat hormon sitokinin dan auksin yang dapat merangsang pembelahan sel dan pembelahan sel. Pada perlakuan medium Pupuk daun 3g/L dan Medium MS hanya mampu memberikan respon pembengkakan yang mengarah ke pembentukan kalus. Pembengkakan ini menandakan kondisi sel pada eksplan mengalami pembesaran. Namun tidak sampai ke pembelahan sel yang nantinya akan membentuk kalus.

Pertumbuhan Eksplan Anggrek *Vanda tricolor*

1. Tinggi Tunas



Keterangan:

A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L

E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L

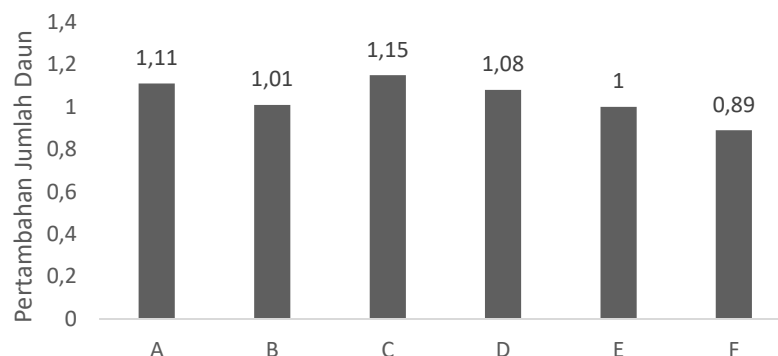
F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Gambar 4. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap penambahan tinggi pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Berdasarkan grafik pengaruh komposisi medium pupuk daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap penambahan tinggi pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST, menunjukkan bahwa pupuk daun dan pupuk organik cair dengan penambahan ekstrak jagung muda mampu dapat lebih tinggi. Hal ini di duga di dalam pupuk daun dan pupuk organik cair mengandung unsur N tinggi yang mampu bersintesis dengan protein pada ekstrak jagung muda.

Pada medium MS mengalami penurunan tinggi dengan penambahan Ekstrak jagung muda. Hal ini di duga dalam medium MS terdapat konsentrasi yang berbeda terhadap ekstrak jagung muda, di dalam medium MS lebih banyak mengandung asam amino esensial yang lebih kompleks dari pada medium lainnya.

2. Pertambahan Jumlah daun



Gambar 5. Pengaruh Komposisi Medium Pupuk Daun, POC dan MS + (*Thidiazuron*, dan ekstrak jagung muda) terhadap perkembangan jumlah daun pada eksplan *Vanda tricolor* pada 8 MST.

Keterangan:

- A : Pupuk daun 3g/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- B : Pupuk daun 3g/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L
- C : Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- D : Pupuk Organik Cair 3ml/L + Ekstrak jagung muda 100ml/L
- E : Medium MS 4,43g + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L
- F : Medium MS 4,43g + Ekstrak Jagung muda 100ml/L

Berdasarkan Gambar 5, diketahui bahwa pertambahan jumlah daun pada eksplan *Vanda tricolor* terbanyak ditunjukkan oleh perlakuan Pupuk Organik Cair 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L yaitu sebanyak 1,15 helai. Banyaknya jumlah daun yang muncul juga disebabkan karena adanya kandungan Nitrogen (dalam bentuk NH_4^+), Magnesium (Mg) dan Mangan (Mn) yang terkandung dalam POC yang berfungsi sebagai pembentuk organ vegetatif dan pembentukan klorofil pada tanaman.

Pertambahan jumlah daun eksplan *Vanda tricolor* terendah ditunjukkan pada perlakuan Medium MS + Ekstrak Jagung muda 100ml/L yaitu 0,89 helai. Dari data tabel 2, terlihat bahwa setiap perlakuan dengan penambahan ekstrak jagung muda selalu mengalami penurunan pada jumlah daun. Berbeda dengan perlakuan medium TDZ yang memiliki efektifitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak jagung muda. Hal ini juga di dukung oleh (Khawar dkk., 2003) TDZ (*Thiadzuron*) mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman.

3. Warna Daun

Adanya variasi warna eksplan *Vanda tricolor* pada penelitian ini dipengaruhi oleh komposisi medium yang digunakan. Berdasarkan hasil skoring warna yang disajikan pada Tabel 2, pada medium perlakuan POC 3ml/L + TDZ (*Thidiazuron*) 2mg/L menunjukkan skor warna daun yang cenderung lebih tinggi dengan rerata

tingkat skoring warna 5 *Green Yellow*. Hal tersebut diduga Warna hijau terbentuk oleh unsur N yang terdapat pada POC (pupuk organik cair). Unsur Nitrogen (N) merupakan unsur hara esensial yang keberadaannya bersifat mutlak untuk kelangsungan pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta dibutuhkan dalam jumlah banyak. Peranan utama nitrogen bagi tanaman adalah untuk merangsang pertumbuhan tanaman secara keseluruhan, khususnya pembentukan hijau daun yang berguna dalam proses fotosintesis (Novizan, 2007).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa Medium POC 3ml/L serta sitokinin Ekstrak Jagung muda 100ml/L merupakan perlakuan terbaik untuk substitusi medium dan sitokinin terhadap multiplikasi tunas anggrek *Vanda tricolor*.

B. Saran

Medium POC 3ml/L, Pupuk daun 3g/L dan Ekstrak Jagung muda 100ml/L sebagai ZPT pengganti dapat digunakan untuk substitusi medium dan sitokinin pada multiplikasi Tunas *Vanda tricolor*, maka dari itu perlu adanya penelitian kembali dengan lebih banyak bahan alami yang dapat digunakan sebagai substitusi medium dan sitokinin untuk multiplikasi Anggrek *Vanda tricolor*.

DAFTAR PUSTAKA

- Frindborg, G. And T. Erikson. 1975. Effects of activated Charcoal on Growth and Morphogenesis in cell cultures. *Physiol. Plant.* 34 : 306.
- Kementan. 2016. Produksi Anggrek Menurut Provinsi, Tahun 2012-2016. [http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiASEM2016\(pdf\)/Produksi%20Angrek.pdf](http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiASEM2016(pdf)/Produksi%20Angrek.pdf). Diakses tanggal 22 November 2018.
- Khawar, K.M., C.S. Sevimay, and E. Yuzbasioglu. 2003. Adventitious shoot regeneration from different explant of wild lentil (*Lens Culinaris* Subsp. *Orientalis*). University of Ankara. Ankara. Turkey
- Novizan. 2002. Petunjuk Pemupukan yang Efektif. Jakarta Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain, 2007. *Regenerasi Tanaman Nenas (Ananas comosus (L.). Merr.) dari Tunas Aksilar Mahkota Buah*. *J. Agroland.* (14)1:1-5.