

**INDUKSI AKAR JERUK SIAM ASAL KAMPAR (*Citrus nobilis* Lour.)
DARI TUNAS *IN VITRO* DENGAN BERBAGAI KOMBINASI SUKROSA
DAN NAA PADA MEDIA ½ MURASHIGE AND SKOOG**

Indah Wijayanti¹, Mayta Novaliza Isda², Wahyu Lestari²

¹**Mahasiswa Program S1 Biologi**

²**Dosen Bidang Botani Jurusan Biologi**

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus BinaWidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

indahwj@yahoo.com

ABSTRACT

Citrus (*Citrus nobilis* Lour.) from Kampar is one of primary commodity from Riau Province. In order to conserve citrus from Kampar as a main fruit from Riau, it is necessary to carry out seedling multiplication using in vitro method. The purpose of the study was to determine the best concentration of sucrose and NAA as well as to determine their interaction in inducing citrus root on ½ MS media. This research used Randomized Block Design (RBD) factorial with two factors, i.e. the concentration of sucrose (1, 2, 3 and 4%) and NAA (0, 0,5, 1 and 1,5 mg/l). The concentration of 1 and 2% sucrose produced the highest number of root (1,17 units), 2% sucrose could give the fastest root induction (17,6 days) and also produced the longest root (2,57 cm). The combination of 1% sucrose + 1 mg/l NAA could give the fastest root induction (11,5 days), while the combination of 3% sucrose + 0,5 mg/l NAA produced the longest root (2,31 cm) and 3% sucrose + 1,5 mg/l NAA produced the highest number of root (1,64 units).

Keywords: *Citrus nobilis* Lour., Induction Roots, NAA, Sucrose

ABSTRAK

Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar merupakan komoditas andalan dari Provinsi Riau. Untuk mempertahankan jeruk siam asal Kampar agar tetap menjadi primadona maka dilakukan perbanyakan secara *in vitro*. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan konsentrasi sukrosa dan interaksi sukrosa dengan penambahan NAA terbaik dalam menginduksi akar jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar pada media ½ MS. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi sukrosa (1, 2, 3 dan 4%) dan NAA (0, 0,5, 1 dan 1,5 mg/l). Konsentrasi sukrosa tunggal 1% dan 2% menghasilkan jumlah akar terbanyak

(1,17 buah), sukrosa 2% mampu menginduksi akar tercepat (17,6 HST) dan akar terpanjang (2,57 cm). Kombinasi perlakuan sukrosa 1%+1 mg/l NAA menghasilkan waktu muncul akar tercepat (11,5 HST), perlakuan sukrosa 3% + 0,5 mg/l NAA menghasilkan akar terpanjang (2,31 cm) dan sukrosa 3% + 1,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah akar terbanyak (1,64 buah).

Kata kunci: *Citrus nobilis* Lour., Induksi Akar, NAA, Sukrosa

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu komoditas buah-buahan yang sangat digemari oleh masyarakat di Indonesia. Buah jeruk memiliki nilai gizi yang cukup tinggi. Salah satunya adalah kandungan vitamin C yang bermanfaat untuk mencegah sariawan dan menambah nafsu makan.

Jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar merupakan komoditas andalan dari Provinsi Riau sejak tahun 1970-an. Jeruk siam ini banyak ditanam di daerah Kuok, sekarang dikenal dengan Kecamatan Bangkinang Barat (Riau Pos 2011). Untuk mempertahankan jeruk siam asal Kampar ini supaya tetap menjadi primadona Riau, maka pemerintah Kabupaten Kampar berkerjasama dengan Balitbang melakukan penelitian agar tanaman jeruk ini bisa meningkat produksinya. Salah satu aspeknya adalah ketersediaan bibit. Oleh karena itu, salah satu alternatif untuk pemecahan masalah itu adalah dengan menggunakan metode kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* dikenal dengan metode perbanyak tanaman secara vegetatif yaitu dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, dan menumbuhkan bagian-bagian

tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Sandra 2013).

Komposisi media berperan penting dalam keberhasilan memproduksi bibit secara *in vitro*. Menurut penelitian Hutapea (2013) media ½ MS dapat menginduksi perakaran jeruk siam asal Kampar. Sitorus *et al.* (2011) juga menyebutkan bahwa sumber karbon yang baik untuk pertumbuhan eksplan adalah sukrosa. Penggunaan 3% sukrosa diperoleh akar terbanyak (3 buah) dan panjang akar (10 mm) dibandingkan dengan penggunaan glukosa pada *Rosa rugosa* (Xing *et al.* 2010). Penggunaan eksplan dari jaringan muda merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi dalam kultur *in vitro*. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber eksplan adalah tunas, kotiledon, batang muda dan hipokotil (Gunawan 1995). Penggunaan tunas *in vitro* untuk induksi akar dari jeruk siam asal Kampar juga telah digunakan pada penelitian Hutapea (2013). Kemampuan untuk menginduksi akar juga tidak lepas dari peranan ZPT dalam media tanam. Berdasarkan penelitian Hutapea (2013),

NAA merupakan golongan auksin yang dapat menginduksi perakaran jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar dengan jumlah akar terbanyak yakni 6,8 buah pada konsentrasi 1 mg/l NAA. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan konsentrasi sukrosa dan kombinasi konsentrasi sukrosa dengan NAA terbaik terhadap induksi akar jeruk siam asal Kampar (*Citrus nobilis* Lour.) pada media ½ Murashige and Skoog.

METODE PENELITIAN

a. Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2014 di Laboratorium Biologi Terpadu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Simpang Baru Kecamatan Tampan Pekanbaru.

b. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminar air flow cabinet* (LAFC) (Lab Tech), Autoklaf (*All American*) tipe 25X-2, timbangan analitik (Kern) tipe ABJ 120-4M, *hotplate* (PSelecta) tipe 048432, pH meter, erlenmeyer, botol kultur, gelas ukur, gelas kimia, pipet tetes, cawan petri, pinset, spatula, skalpel, lampu Bunsen.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media ½ MS, sukrosa, zat pengatur tumbuh NAA, akuades, alkohol 70 %, HCl 1N dan NaOH 1 N, kertas saring, tissue, *aluminium foil*, karet gelang, eksplan tunas *in vitro* berumur 6 minggu.

c. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari 16 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan.

d. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi alat, pembuatan media tanam, persiapan dan penanaman eksplan. Pemeliharaan dilakukan dengan menjaga ruang inkubasi agar kondisinya selalu bersih dan steril. Pemeliharaan ruang inkubasi dengan menyemprotkan 70 % alkohol 1 hari sekali. Suhu ruang diatur 23-25°C dan diberi penyinaran dengan menggunakan lampu.

e. Analisis Data

Pengamatan penelitian meliputi: waktu muncul akar (HST), jumlah akar (buah) dan panjang akar (cm). Data dianalisis statistik menggunakan analisis sidik ragam, apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Waktu Muncul Akar

Berdasarkan analisis sidik ragam pemberian sukrosa tunggal maupun kombinasi dengan NAA memberikan pengaruh yang nyata terhadap waktu muncul akar. Pengaruh pemberian sukrosa tunggal maupun kombinasi dengan NAA terhadap persentase eksplan yang hidup dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Waktu Muncul Akar (HST) pada Eksplan Tunas *In Vitro* Jeruk Siam Asal Kampar

Sukrosa (%)	NAA (mg/l)			
	0	0,5	1	1,5
1	20,8 ^{cd}	*	11,5 ^a	**
2	17,6 ^{bc}	13,0 ^{ab}	31,0 ^f	19,0 ^{cd}
3	19,0 ^{cd}	19,5 ^{cd}	21,3 ^{cd}	20,4 ^{cd}
4	29,0 ^{ef}	24,0 ^{de}	**	13,0 ^{ab}

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) pada uji DMRT taraf 5%

*) menunjukkan pencoklatan

***) menunjukkan pembengkakan

Sukrosa tunggal sebanyak 2% pada penelitian ini mampu menghasilkan waktu muncul akar eksplan tunas tercepat (17,6 HST). Hasil ini lebih cepat dibandingkan penelitian Kour dan Singh (2012) yang melaporkan bahwa pemberian sukrosa tunggal hingga 2% pada tunas *in vitro Citrus jambhiri* Lush. dapat mempercepat waktu muncul akar (14,96 HST). Pemberian sukrosa 4% secara tunggal pada penelitian ini menghasilkan waktu muncul akar terlama dibandingkan dengan perlakuan sukrosa tunggal lainnya (29 HST). Kour dan Singh (2012) menyatakan bahwa pemberian sukrosa sebanyak 4% menghasilkan waktu muncul akar terlama pada tunas *in vitro Citrus jambhiri* Lush. (19,07 HST). Eksplan tunas *in vitro* mampu menginduksi perakaran tanpa penambahan auksin. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa akar dapat tumbuh secara *in vitro* pada media tanpa pemberian auksin. Pemberian konsentrasi sukrosa tunggal sebanyak 2% dalam penelitian ini merupakan perlakuan yang tepat dalam menghasilkan waktu muncul akar tercepat. Sukrosa memiliki beberapa peran penting dalam media, salah

satunya pengatur tekanan osmotik. Peran sukrosa dalam mengatur tekanan osmotik mempengaruhi kemampuan jaringan dalam penyerapan air dari media ke dalam tanaman (Ni'mah *et al.* 2012). Penambahan konsentrasi sukrosa membuat media semakin pekat. Media dengan konsentrasi pekat berarti banyak terdapat molekul-molekul, sehingga arah gerakan difusi ke tempat yang kekurangan molekul atau yang berkonsentrasi rendah. Keadaan demikian menyebabkan sel-sel pada jaringan eksplan yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sukrosa tinggi dapat cepat menerima unsur-unsur hara yang diperlukan bagi perkembangannya (Ni'mah *et al.* 2012).

Penggunaan konsentrasi NAA yang tinggi lebih cenderung mempercepat pembentukan akar. Pada eksplan tunas terdapat hormon auksin yang mampu menstimulasi pembelahan sel dalam proses inisiasi pembentukan akar adventif. Terlebih dengan ditamapkannya hormon eksogen dan sukrosa semakin merangsang inisiasi akar. Komposisi media ½ MS dan sukrosa yang turut ditambahkan juga

membantu dalam proses terbentuknya akar adventif. Selain auksin, faktor lain yang mungkin sering kali ikut serta berperan dalam inisiasi akar adalah faktor nutrisi, karbohidrat dan nitrogen (Sandra 2013).

Eksplan pada perlakuan sukrosa 1% + 1 mg/l NAA cenderung memicu pembentukan akar lebih cepat yaitu 11,5 HST. Sedangkan perlakuan sukrosa 2% + 1 mg/l NAA menghasilkan waktu muncul akar terlama (31 HST). Hal ini diduga pada telah terjadi keseimbangan hormon endogen dan hormon eksogen yang terdapat pada eksplan terlebih dengan ditambahkan sukrosa yang tepat sehingga penyerapan hara pada media ke dalam eksplan menjadi optimal. Hutapea (2013) melaporkan 1 mg/l NAA merupakan konsentrasi terbaik dan menghasilkan waktu muncul akar tercepat pada jeruk siam asal

Kampar dalam media ½ MS (11,2 HST). Sedangkan perlakuan sukrosa 2% + 1 mg/l NAA diduga akibat ketidak seimbangannya hormon endogen pada eksplan setelah ditambahkan hormon eksogen dengan konsentrasi yang tinggi sehingga eksplan tidak mampu merespon dengan optimal akibatnya eksplan menginduksi akar dalam waktu yang lama.

b. Jumlah Akar

Berdasarkan analisis sidik ragam pemberian sukrosa tunggal maupun kombinasi dengan NAA memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah akar. Respon eksplan terhadap pemberian berbagai konsentrasi sukrosa dan kombinasi dengan NAA dalam jumlah akar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Jumlah Akar (buah) pada Eksplan Tunas *In Vitro* Jeruk Siam Asal Kampar

Sukrosa (%)	NAA (mg/l)				Rerata
	0	0,5	1	1,5	
1	1,17	0,70	1,48	0,70	1,01
2	1,17	0,99	1,09	1,17	1,10
3	0,87	1,28	1,42	1,64	1,30
4	0,87	0,87	0,70	0,87	0,82
Rerata	1,02	0,96	1,17	1,09	

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi $\sqrt{(x+0,5)}$

Penggunaan sukrosa tunggal pada eksplan tunas memiliki pengaruh tidak nyata terhadap jumlah akar. Konsentrasi sukrosa 1% dan 2% tunggal merupakan konsentrasi tertinggi dalam menghasilkan jumlah akar (1,17 buah). Hal ini diduga karena penyerapan

konsentrasi sukrosa oleh eksplan pada perlakuan tersebut optimal sehingga multiplikasi akar optimal. Tyas *et al.* (2013) menyatakan dengan menurunkan konsentrasi sukrosa tunggal menjadi 1% dan 2% dapat meningkatkan jumlah akar hingga 1,3 buah pada *Citrus pameleo*

yang dikulturkan pada media $\frac{1}{2}$ MS. Menurut Ammirato (1986) dalam Marlin (2005), beberapa sel tanaman dapat tumbuh, berkembang dan beregenerasi menjadi tanaman baru dalam media tanpa penambahan hormon. Tanpa auksin eksogen, akar akan tetap tumbuh dan memanjang. Konsentrasi sukrosa yang optimal secara umum digunakan untuk kultur *in vitro* berkisar 1-5% (Yusnita 2003). Hasil menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa tunggal justru menurunkan jumlah akar. Hal ini dapat dilihat dengan penambahan sukrosa dengan konsentrasi 3% dan 4% cenderung menurunkan jumlah akar yang terbentuk. Diduga akibat kepekatan media pada perlakuan tersebut menyulitkan akar adventif dari eksplan untuk terdiferensiasi guna memacu pertumbuhan dan perkembangan awal akar. Jika konsentrasi sukrosa yang tinggi maka proses penyerapan zat terlarut oleh sel akan sedikit terserap yang mengakibatkan eksplan sulit membentuk akar baru, akibatnya auksin endogen yang ada pada eksplan hanya mampu memacu pemanjangan akar. Hal ini menunjukkan bahwa auksin endogen pada eksplan dikonsentrasi rendah memacu jumlah akar lebih banyak dibandingkan pada konsentrasi tinggi.

Pemberian sukrosa pada eksplan tunas yang dikombinasikan dengan NAA mampu membentuk akar. Konsentrasi NAA yang diberikan semakin tinggi pada perlakuan kombinasi dengan penambahan sukrosa 3% menghasilkan peningkatan jumlah akar dari eksplan tunas. Jumlah akar meningkat pada perlakuan tersebut kemungkinan untuk

memperluas penyerapan hara sebagai respon terhadap kekurangan hara dan energi pada media $\frac{1}{2}$ MS. Jumlah akar terbanyak dijumpai pada perlakuan sukrosa 3% + 1,5 mg/l NAA (1,64 buah). Hutapea (2013) melaporkan bahwa pemberian sukrosa 3% + 1 mg/l NAA pada tunas *in vitro Citrus nobilis* Lour. dapat meningkatkan jumlah akar sebanyak 6,8 buah pada media $\frac{1}{2}$ MS. Cecilia *et al.* (2012) juga menyatakan bahwa 3% sukrosa dengan penambahan 1 mg/l NAA pada eksplan tunas *Boerhaavia diffusa* dapat meningkatkan jumlah akar sebanyak 12,5 buah. Sementara diperlakukan sukrosa 1, 2 dan 4% dengan kombinasi cenderung menurunkan jumlah akar. Hal itu diduga kurang memenuhinya konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sehingga penyerapan hormon eksogen yang ditambahkan pada eksplan tidak optimal.

c. Panjang Akar

Berdasarkan analisis sidik ragam pemberian sukrosa tunggal maupun kombinasi dengan NAA tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap panjang akar. Pengaruh pemberian sukrosa tunggal maupun kombinasi dengan NAA terhadap panjang akar dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Panjang Akar (cm) pada Eksplan Tunas *In Vitro* Jeruk Siam Asal Kampar

Sukrosa (%)	NAA (mg/l)				Rerata
	0	0,5	1	1,5	
1	2,41	0,70	1,69	0,70	1,37
2	2,57	1,64	1,13	0,87	1,55
3	1,67	2,31	1,56	1,38	1,73
4	1,50	1,22	0,70	1,23	1,16
Rerata	2,03	1,46	1,27	1,04	

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi $\sqrt{(x+0,5)}$

Pemberian sukrosa tunggal mampu memicu panjang akar dengan rerata panjang 2,03 cm. Peningkatan konsentrasi sukrosa hingga 2% cenderung meningkatkan rerata panjang akar sepanjang 2,57 cm dan menurun seiring peningkatan konsentrasi. Hal tersebut diduga media dengan konsentrasi sukrosa 2% merupakan perlakuan yang optimal dalam menghasilkan panjang akar tertinggi pada penelitian ini dibandingkan perlakuan lain. Sesuai dengan Ni'mah *et al.* (2012) menyatakan bahwa penambahan sukrosa pada konsentrasi tertentu mampu mempercepat jaringan eksplan yang ditumbuhkan pada media menerima unsur-unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan. Tabel 4.4 menunjukkan jika konsentrasi sukrosa dinaikkan maka akan cenderung menghambat pemanjangan akar. Hal ini diduga karena ketidakseimbangannya antara hormon yang ada pada media dengan sukrosa yang diberikan dalam konsentrasi tinggi. Keberadaan auksin endogen yang menambah kepekatan media sehingga eksplan tidak secara optimal dapat menyerap unsur hara yang ada pada media.

Perlakuan kombinasi terbaik yakni dengan pemberian sukrosa 3% ditambah 0,5 mg/l NAA yang menghasilkan akar terpanjang (2,31 cm). Hal ini diduga karena auksin eksogen yang diberikan pada eksplan pada perlakuan tersebut merupakan konsentrasi optimal untuk menghasilkan akar terpanjang dibandingkan perlakuan lain. Didukung oleh penelitian Hutapea (2013) yang menyebutkan pada sukrosa 3% + 0,5 mg/l NAA tunas *in vitro Citrus nobilis* Lour. mampu menghasilkan akar sepanjang 2,16 cm pada media ½ MS. Namun, penambahan NAA diatas 0,5 mg/l cenderung menurunkan panjang akar. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa pemberian auksin eksogen pada konsentrasi tinggi akan menghambat pemanjangan akar. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian auksin eksogen lebih dari 0,5 mg/l dapat menghambat pemanjangan akar. Lakitan (1995) menjelaskan auksin dalam konsentrasi rendah akan memacu pemanjangan akar, namun dalam konsentrasi yang tinggi akan menghambat pemanjangan akar. Hutapea (2013) melaporkan bahwa tunas *in vitro Citrus nobilis* Lour. yang dikulturkan pada media ½ MS dengan

penambahan sukrosa 3% + 1 mg/l NAA memiliki panjang akar 1,2 cm dan pada sukrosa 3% + 1,5 mg/l NAA memiliki akar sepanjang 0,23 cm.

KESIMPULAN

Konsentrasi sukrosa tunggal sebanyak 1% dan 2% mampu menghasilkan jumlah akar terbanyak (1,17 buah) sedangkan sukrosa 2% mampu menginduksi akar tercepat (17,6 HST) dan menghasilkan akar terpanjang (2,57 cm).

Kombinasi perlakuan sukrosa 1% + 1 mg/l NAA menghasilkan waktu muncul akar tercepat (11,5 HST), perlakuan sukrosa 3% + 0,5 mg/l NAA menghasilkan akar terpanjang (2,31 cm) dan sukrosa 3% + 1,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah akar terbanyak (1,64 buah).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan dana dari Universitas Riau melalui Lembaga Penelitian BOPTN Berbasis Laboratorium Tahun Anggaran 2014 atas nama Siti Fatonah, MP.

DAFTAR PUSTAKA

Cecillia F, Jenifer U, Ravindhran. 2012. In Vitro Adventitious Root and Hairy Root Cultures in *Boerhaavia diffusa* L. *India. Department of Plant Biology and Biotechnology, Tamil Nadu*. 4(1): 65-67.

Gunawan L.W. 1995. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Laboratorium

Kultur Jaringan Tanaman. PAU IPB. Bogor.

Hutapea E.O. 2013. Induksi Akar pada Tunas *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar dengan Pemberian NAA. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Kour K dan Singh B. (2012). In Vitro Multiplication of Rough Lemon (*Citrus jambhiri* Lush.). India. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 1(4):5-9.

Lakitan B. 1995. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Grafindo Persada. Jakarta.

Marlin. 2005. Regenerasi *In Vitro* Planlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri pada Beberapa Taraf Konsentrasi 6-Benzil Amino Purine (BAP) dan 1-Nsphtalene Acetic Acid (NAA). *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. 7(1):8-14.

Ni'mah F, Ratnasari dan Budipramana. 2012. Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi Sukrosa dan Kinetin Terhadap Induksi Umbi Mikro Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Kultivar Garnola Kembang Secara *In Vitro*. *Lentera Bio*. 1(1):41-48.

Riau Pos. 2011. <http://www.riauuposonline.co.id/Si-manis-dari-kuok.html>. [25 Mei 2014].

- Salisbury F dan Ross W.C. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- Sandra E. 2013. *Cara Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. IPB Press. Bogor.
- Sitorus E.N, Hastuti E.D, Setiari N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) Secara *In Vitro* Pada Media MS dengan Konsentrasi yang Berbeda. *Bioma*. Laboratorium Biologi dan Struktur Fungsi Tumbuhan FMIPA Undip.13(1).
- Tyas K.N, Susanto S, Dewi I.S, Khumaida N. 2013. *In Vitro* Conservation of Pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr) Using Slow Growing Method. Bogor:Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 41(1):32-39.
- Xing W, Bao M.H, Ning G. 2010. Micropropagation of *Rosa rugosa* Through Axillary Shoot Proliferation. *Wuhan China. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University*. 69-75.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan*. Agromedia Pustaka. Jakarta.