

**UJI PEMBERIAN BEBERAPA KONSENTRASI GLISIN
PADA MEDIA VACIN AND WENT (VW) TERHADAP
PERTUMBUHAN PLANTLET ANGGREK
(*Dendrobium* sp.) SECARA IN VITRO**

**THE TEST OF GIVING SOME GLYCINE CONCENTRATION
ON VACIN AND WENT (VW) MEDIUM TOWARDS
ORCHID (*Dendrobium* sp.) PLANTLET GROWTH
BY IN VITRO**

Adi Sucandra¹, Fetmi Silvina² dan Arnis En Yulia²

Departement of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Riau

E-mail : adhey_shucandhras@yahoo.co.id/085274924280

ABSTRACT

This research aim is to know the influence and get a glycine concentration on vacin and went (VW) medium that giving the best growth of *Dendrobium* orchid plantlet by in vitro. This research was conducted in Plant Biotechnological Laboratory of Farm Faculty, University of Riau, Pekanbaru from March till June 2014. This research is an experiment used a Completely Randomized Design (CRD) which arranged in six levels and three repetitions. The treatment is giving a several glycine concentration started with without glycine, 1 mg glycine/l, 2 mg glycine/l, 3 mg glycine/l, 4 mg glycine/l and 5 mg glycine/l. The data obtained were statistically analyzed using analysis of variance and Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) at the level of 5%. The result showed that giving a several glycine concentration was not significant for all parameters, but giving glycine with concentration 4 mg/l showed the best result to the height of plant, leaf amount, root amount and visual view of the *Dendrobium* orchid plantlet.

Keyword: *Dendrobium*, Orchid Plantlet, Glycine

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hias yang banyak digemari karena memiliki aneka ragam bentuk dan warna bunga yang menarik. Tanaman anggrek tergolong dalam famili *Orchidaceae* dan telah lama dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman hias maupun bunga potong. Anggrek merupakan tanaman yang pertumbuhannya lambat dibandingkan dengan tanaman hias lain, sedangkan permintaan akan anggrek terus meningkat.

Salah satu masalah yang dihadapi dalam pengembangan budidaya anggrek adalah ketersediaan bibit bermutu yang belum terpenuhi, sehingga untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan perbanyakan secara *in vitro* (kultur jaringan) yang akan menghasilkan tanaman baru dengan kualitas dan kuantitas serta mempercepat proses pertumbuhan maupun produktivitas tanaman anggrek.

Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan

¹Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau

²Dosen Fakultas Pertanian Universitas Riau

sangat bergantung pada media yang digunakan. *Vacin and Went* (VW) adalah media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan tanaman anggrek. Media ini merupakan media sederhana yang hanya terdiri dari senyawa-senyawa yang mengandung unsur hara makro dan mikro yang dalam penggunaannya untuk media tanam anggrek sering ditambahkan N-organik.

Di dalam media kultur jaringan, asam amino merupakan sumber N-organik yang lebih cepat diambil oleh eksplan daripada N yang terdapat di dalam media. Glisin merupakan asam amino non-esensial yang berfungsi sebagai pendorong pertumbuhan sel dan regenerasi tanaman. Glisin dapat memproduksi glukosa ketika energi dibutuhkan dan esensial di dalam sintesis purin serta merupakan bagian dari struktur cincin porfirin klorofil.

Menurut Yusnita (2004), Penambahan asam amino glisin dengan konsentrasi 2 mg/l dalam media kultur jaringan dapat meningkatkan pertumbuhan sel tanaman dengan baik, karena penambahan glisin dalam media dengan konsentrasi tertentu dapat melengkapi vitamin sebagai sumber bahan organik.

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Riau, Jalan Bina Widya km 12,5 Kelurahan Simpang Baru Panam Pekanbaru Provinsi Riau. Penelitian ini berlangsung selama 4 bulan dimulai dari bulan Maret sampai dengan Juni 2014.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah plantlet anggrek *Dendrobium* sp. yang berumur 3 bulan, media dasar *Vacin and Went* (VW), Glisin, *aquades*, spiritus,

NaOH 1N, HCl 1N, *aluminium foil*, *plastic wrap*, Alkohol 70% dan 96%.

Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LACF), *magnetic stirrer*, timbangan analitik, *autoclave*, pH meter, botol kultur, gelas kimia, gelas ukur, spatula, pipet tetes, lampu bunsen, *erlenmeyer*, *hands sprayer*, *petridish* dan pinset.

Penelitian ini merupakan percobaan yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dalam penelitian ini adalah beberapa konsentrasi glisin yang terdiri dari 6 level dengan 3 ulangan sehingga diperoleh 18 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdapat 4 plantlet tanaman, sehingga total keseluruhan plantlet tanaman sebanyak 72 plantlet. Perlakuanannya adalah pemberian konsentrasi glisin (G) yang berbeda terdiri dari: G0 = tanpa glisin, G1 = konsentrasi glisin 1 mg/l, G2 = konsentrasi glisin 2 mg/l, G3 = konsentrasi glisin 3 mg/l, G4 = konsentrasi glisin 4 mg/l dan G5 = konsentrasi glisin 5 mg/l.

Parameter yang diamati adalah pertambahan tinggi plantlet, pertambahan jumlah daun, pertambahan jumlah akar, persentase keberhasilan dan pengamatan secara visual. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan taraf 5%.

HASIL dan PEMBAHASAN

1. Pertambahan Tinggi Tanaman (cm)

Hasil sidik ragam memperlihatkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi glisin pada media VW berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan tinggi plantlet. Hasil uji jarak berganda Duncan taraf 5% disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pertambahan tinggi plantlet anggrek *Dendrobium* pada pemberian beberapa konsentrasi glisin (cm).

Konsentrasi Glisin (mg/l)	Tinggi Plantlet (cm)
4	1,80 a
5	1,58 a
3	1,50 ab
2	1,27 abc
1	0,82 bc
0	0,72 c

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%

Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian glisin 4 mg/l memberikan pertambahan tertinggi yakni 1,80 cm berbeda nyata dengan pemberian glisin 1 mg/l yakni 0,82 cm serta tanpa pemberian glisin yaitu 0,72 cm dan berbeda tidak nyata terhadap perlakuan lainnya. Peningkatan pemberian glisin hingga 4 mg/l mampu meningkatkan pertambahan tinggi, hal ini menunjukkan bahwa kandungan nitrogen organik pada glisin mampu mendukung pertumbuhan vegetatif anggrek *Dendrobium*. Dzulfikar *et al.* (2011), menyatakan bahwa pada masa vegetatif, tanaman membutuhkan unsur hara nitrogen untuk melakukan proses-proses metabolisme. Nitrogen umumnya diserap oleh tanaman dalam bentuk NH_4 atau NO_3 . Setiono (2010) menyatakan bahwa nitrogen akan diserap secara difusi jika konsentrasi nitrogen diluar dinding sel lebih tinggi daripada konsentrasi didalam. Proses difusi ini dapat berlangsung karena konsentrasi beberapa ion didalam dinding sel dipertahankan untuk tetap rendah, karena begitu ion-ion tersebut masuk kedalam dinding sel akan segera dikonversi ke bentuk lain, seperti nitrogen organik yang direduksi menjadi NH_4^+ dan NO_3^- , yang

selanjutnya digunakan dalam proses metabolisme.

Sarief (1986) menyatakan bahwa nitrogen merupakan unsur hara utama bagi pertumbuhan tanaman karena nitrogen merupakan penyusun dari semua protein, asam nukleat dan penyusun protoplasma secara keseluruhan. Mas'ud (1992) menambahkan bahwa nitrogen hampir terlibat dalam seluruh proses metabolisme dalam tanaman, misalnya 1) menjadikan tanaman berwarna hijau dengan adanya pembentukan klorofil, 2) meningkatkan pertumbuhan daun dan batang, 3) menjadikan tanaman sukulen, 4) memperlambat pemasakan tanaman dengan membantu pertumbuhan vegetatif yang tetap hijau walaupun saat masak sudah maksimum, 5) meningkatkan kandungan protein, dan 6) mengurangi pengaruh buruk udara dingin. Havlin *et al.* (1999) menambahkan bahwa dengan cukup tersedianya klorofil maka proses fotosintesis akan meningkat sehingga karbohidrat yang dihasilkan bertambah dan dapat mempercepat pertambahan tinggi tanaman.

2. Pertambahan Jumlah Daun (helai)

Hasil sidik ragam memperlihatkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi glisin pada

media VW berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan jumlah daun plantlet. Hasil uji jarak berganda Duncan taraf 5% disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pertambahan jumlah daun plantlet anggrek *Dendrobium* pada pemberian beberapa konsentrasi glisin (helai).

Konsentrasi Glisin (mg/l)	Jumlah Daun (helai)
4	2,67 a
5	2,50 a
2	2,50 a
3	2,50 a
1	2,33 a
0	2,17 a

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%

Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi glisin berbeda tidak nyata sesamanya terhadap pertambahan jumlah daun. Penambahan sumber nitrogen organik ke dalam media VW tidak meningkatkan regenerasi plantlet anggrek *Dendrobium* selama pengkulturan. Hal ini diduga karena pertumbuhan anggrek yang lambat dan kebutuhan nitrogen khususnya anorganik yang terdapat pada media untuk menunjang pertumbuhan kultur telah tercukupi sehingga penambahan glisin ke dalam media kultur menjadi tidak efisien.

Menurut George (1996), tidak semua kultur *in vitro* memerlukan penambahan asam amino tetapi tergantung pada ketersediaan sumber nitrogen yang terkandung di dalam media kultur. Sebagian besar kebutuhan unsur nitrogen untuk tujuan kultur tergantung dari ketersediaan sumber nitrogen anorganik di dalam media kultur dan selebihnya berasal dari asam amino sebagai nitrogen organik. Suplemen asam amino yang ditambahkan ke dalam media pengkulturan diperlukan

untuk menggantikan kekurangan sumber nitrogen anorganik.

Putra (2009) menyatakan bahwa tanaman anggrek merupakan tipe tanaman yang memiliki kecepatan tumbuh yang relatif lambat. Pertumbuhan tanaman anggrek sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor baik faktor dari dalam anggrek itu sendiri maupun faktor luar. Faktor dari dalam anggrek itu yakni faktor genetik atau jenis anggrek. Faktor luar yang mempengaruhi yakni intensitas penyinaran, suhu, kelembaban udara, kebutuhan air, pupuk, serta kecocokan tempat dan media tumbuh, sirkulasi udara, repotting dan serangan hama dan penyakit tanaman. Gadbois (2010) menambahkan bahwa lambatnya pertumbuhan tanaman anggrek dibandingkan tanaman hias lain dikarenakan oleh rendahnya tingkat metabolisme anggrek yang merupakan suatu sifat adaptasi untuk memungkinkannya tumbuh pada tempat dengan kandungan nutrisi, air maupun sinar matahari yang rendah.

3. Pertambahan Jumlah Akar (buah)

Hasil sidik ragam memperlihatkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi glisin pada

media VW berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan jumlah akar plantlet. Hasil uji jarak berganda Duncan taraf 5% disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pertambahan jumlah akar plantlet anggrek *Dendrobium* pada pemberian beberapa konsentrasi glisin (buah).

Konsentrasi Glisin (mg/l)	Jumlah Akar (buah)
4	3,17 a
5	2,83 ab
1	2,50 ab
3	2,17 ab
2	1,50 ab
0	1,17 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%

Tabel 3 menunjukkan bahwa pemberian glisin dapat meningkatkan jumlah akar di mana pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l menghasilkan akar sebanyak 3,17 buah berbeda nyata dengan tanpa pemberian glisin yakni 1,17 dan berbeda tidak nyata dengan pemberian glisin lainnya. Sedikitnya pembentukan akar pada plantlet diduga karena anggrek termasuk tanaman yang memiliki pertumbuhan lambat. Marks (2000) menyatakan bahwa plantlet berdasarkan sensitifitasnya terhadap hormon perakaran digolongkan menjadi dua, yaitu tanaman yang mudah berakar dan tanaman yang lambat berakar. Lakitan (1996) menyatakan bahwa hormon adalah suatu senyawa organik yang disintesis dalam suatu bagian tanaman dan kemudian diangkut ke bagian tanaman yang lain. Dalam hal ini, jaringan muda seperti meristem batang dan daun mensintesis auksin yang kemudian akan diangkut dari organ yang satu ke organ yang lain. Hartmann dan Kester (1975) menyatakan bahwa tunas dan daun berperan sebagai sumber auksin yang

merangsang pembentukan akar, dimana auksin dari tunas akan diangkut ke dasar untuk mendorong pembentukan akar.

Pembentukan auksin erat kaitannya dengan nitrogen yang diserap oleh tanaman. Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan bahwa asam amino sebagai salah satu senyawa organik merupakan komponen media yang berpengaruh baik terhadap pertumbuhan plantlet, karena membantu pembentukan hormon auksin yang dibutuhkan tanaman untuk memacu perkembangan akar. Rostiana dan Seswita (2007) menyatakan bahwa auksin sangat berperan dalam pembentukan akar dengan meningkatkan jumlah dan panjang akar. Meningkatnya jumlah dan panjang akar akan meningkatkan peran akar dalam proses absorpsi nutrisi tanaman. Tomia (2011) menambahkan bahwa fungsi dari hormon auksin adalah membantu dalam proses pertumbuhan, baik itu pertumbuhan akar maupun pertumbuhan batang.

Howards (1996) menyatakan bahwa kemampuan plantlet untuk membentuk akar dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk perbedaan genotipe, tingkat kematangan jaringan dan karakter fisiologis. Yusnita (2003) menyatakan bahwa penggunaan jaringan muda dan sedang aktif pertumbuhannya seperti plantlet dapat meningkatkan keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* karena memiliki daya regenerasi yang tinggi, lebih mudah berproliferasi dan relatif lebih steril.

Zasaril *et al.* (2010) menyatakan bahwa plantlet yang dihasilkan pada media Growmore terutama Growmore tanpa asam amino tripton lebih bagus dibandingkan dengan plantlet yang berada pada media 1/2 MS dengan konsentrasi tripton 2 g/l. Plantlet pada media Growmore tanpa tripton

tampak lebih hijau dengan tinggi, jumlah daun dan jumlah akar yang lebih banyak. Pemberian tripton 2 g/l ke dalam media pembesaran tidak berpengaruh terhadap tinggi tunas dan jumlah daun pada kedua jenis media. Ferziana dan Lisa (2013) menambahkan bahwa hasil pengamatan terhadap plantlet anggrek yang diberi perlakuan asam amino tripton dengan konsentrasi 0 g/l, 1 g/l, 2 g/l dan 3 g/l tidak menunjukkan pertambahan jumlah daun, jumlah akar, panjang akar dan bobot basah bibit yang berbeda nyata.

4. Persentase Keberhasilan (%)

Persentase keberhasilan plantlet anggrek *Dendrobium* pada pemberian beberapa konsentrasi glisin pada media VW dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase keberhasilan plantlet anggrek *Dendrobium* pada pemberian beberapa konsentrasi glisin (%).

Konsentrasi Glisin (mg/l)	Persentase Keberhasilan (%)
4	100
2	100
5	91,67
3	91,67
0	91,67
1	75
Rata-Rata Persentase keberhasilan (%)	91,67

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa persentase keberhasilan pada penelitian ini berkisar antara 75-100%. Rata-rata persentase keberhasilan pada penelitian ini mencapai 91,67%. Tingkat keberhasilan pada penelitian ini cukup tinggi, walaupun ada yang persentase keberhasilannya tidak mencapai 100%. Tingginya tingkat keberhasilan pada penelitian ini sangat dipengaruhi oleh bahan yakni plantlet anggrek yang sudah steril dan

teknik pengambilan plantlet yang tepat dan benar. Hal ini sejalan dengan pernyataan Karjadi *et al.* (1995) bahwa keberhasilan jaringan untuk tumbuh dan berkembang dipengaruhi oleh kecermatan dalam pengambilan eksplan tersebut serta sterilisasi yang baik dan keberhasilan kultur *in vitro* dilihat dengan persentase kontaminasi berkisar antara 10-30%.

Kontaminasi oleh jamur dan bakteri dapat terjadi sewaktu-waktu

walaupun sebelumnya semua alat dan bahan termasuk media tumbuh sudah disterilkan. Pada penelitian ini, sebagian plantlet terkontaminasi pada umur 3-8 minggu setelah tanam yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Kontaminan diduga berasal dari ruang inkubasi akibat penutupan botol kultur yang kurang rapat dan didukung oleh sifat media tumbuh yang cocok untuk tumbuhnya jamur dan bakteri. Katuuk (1989) menyatakan bahwa media nutrisi yang dipakai untuk perbanyakan tanaman secara *in vitro* pada dasarnya sesuai untuk pertumbuhan jamur dan bakteri.

Kontaminasi oleh jamur terlihat jelas pada media, yakni media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih ataupun hijau kehitaman, sedangkan kontaminasi oleh bakteri pada eksplan terlihat lendir berwarna kuning. Setiyoko (1995) menyatakan bahwa kontaminasi yang disebabkan oleh jamur terlihat jelas pada media, dimana media dan eksplan diselimuti oleh spora berwarna putih dan kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri pada eksplan akan terlihat lendir berwarna kuning dan sebagian lagi melekat pada media membentuk gumpalan yang basah. Hal ini diduga bahwa selama inkubasi berlangsung, jamur dan bakteri terbawa bersamaan dengan masuknya peneliti. Gunawan (1995) menyatakan bahwa kontaminan dapat berasal dari eksplan (baik internal maupun eksternal), organisme kecil yang masuk kedalam media, botol kultur atau alat-alat yang kurang steril, lingkungan kerja dan ruangan yang kurang bersih (adanya spora di udara) serta kecerobohan dalam pelaksanaan.

5. Pengamatan Secara Visual

Pengamatan secara visual pemberian beberapa konsentrasi glisin pada media VW terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium* ini merupakan gambaran pertumbuhan plantlet secara morfologis, yaitu penampakan secara fisik terhadap bentuk, ukuran dan warna plantlet yang disajikan dalam bentuk gambar.



Gambar 1. Plantlet anggrek tanpa pemberian glisin.



Gambar 2. Plantlet anggrek pada pemberian glisin 1 mg/l.



Gambar 3. Plantlet anggrek pada pemberian glisin 2 mg/l.



Gambar 4. Plantlet anggrek pada pemberian glisin 3 mg/l.



Gambar 5. Plantlet anggrek pada pemberian glisin 4 mg/l.



Gambar 6. Plantlet anggrek pada pemberian glisin 5 mg/l.

Dari gambar 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 dapat dilihat bahwa plantlet yang ditanam pada media VW dengan perlakuan tanpa pemberian glisin dan pemberian beberapa konsentrasi glisin menunjukkan pertumbuhan yang memiliki bentuk dan ukuran yang berbeda. Pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l dan 5 mg/l secara visual dapat dilihat bahwa secara keseluruhan menunjukkan pertumbuhan plantlet yang baik. Plantlet memiliki batang yang lebih panjang dengan jumlah daun yang lebih tinggi dan akar yang terbentuk juga lebih banyak jika

dibandingkan dengan perlakuan glisin lainnya di mana plantlet terlihat lebih pendek dan akar serta daun yang terbentuk lebih sedikit. Sukma (1994) menambahkan bahwa pertumbuhan plantlet sangat dipengaruhi oleh media kultur, vitamin dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media.

Pada pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l secara visual dapat dilihat bahwa plantlet yang terbentuk mempunyai akar yang lebih banyak, besar dan panjang, daun yang dihasilkan lebih besar dan panjang dengan warna yang hijau. Hal ini diduga karena pembentukan jumlah akar yang lebih banyak mampu menyerap nutrisi pada media dan daun aktif membentuk klorofil sehingga fotosintesis dapat berlangsung. Menurut Salisbury dan Ross (1992), sel akar umumnya mengandung hormon auksin yang cukup untuk pemanjangannya secara normal. Hal ini sejalan dengan Ammirato (1986) yang menyatakan bahwa beberapa sel tanaman dapat tumbuh dan berkembang meskipun tanpa pemberian hormon tumbuh.

Peningkatan pemberian glisin, dalam hal ini 5 mg/l tidak menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dari pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l karena terlihat dari pertambahan tinggi, pertambahan jumlah daun dan pertambahan jumlah akar yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan pertambahan pada konsentrasi glisin 4 mg/l. Hal ini diduga bahwa pemberian konsentrasi glisin 5 mg/l menghambat proses metabolisme pada plantlet anggrek *Dendrobium*. Penyebab dari hal ini adalah tingginya konsentrasi glisin yang diberikan pada perlakuan ini.

Pemberian konsentrasi glisin 1 mg/l, 2 mg/l dan 3 mg/l tidak

memperlihatkan penambahan pertumbuhan yang lebih baik dari pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l. Hal ini terlihat dari semua parameter yang diamati yakni tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar yang memberikan pertumbuhan lebih sedikit dari pemberian konsentrasi glisin 4 mg/l.

Pada perlakuan tanpa glisin memperlihatkan penambahan pertumbuhan yang tidak terlalu terlihat, baik di pertumbuhan tinggi, jumlah daun dan jumlah akar. Hal ini diduga karena tanpa adanya pemberian glisin menyebabkan pertumbuhan plantlet menjadi lambat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian glisin dengan konsentrasi 4 mg/l memperlihatkan penambahan tinggi plantlet, penambahan jumlah daun dan penambahan jumlah akar yang lebih baik pada pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium* sp.

Saran

Untuk pertumbuhan vegetatif plantlet anggrek *Dendrobium* secara *in vitro* disarankan untuk menambahkan glisin dengan konsentrasi 4 mg/l. Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan menggunakan glisin dengan asam amino lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Ammirato, P. V. 1986. **Control and Expression of Morphogenesis in Culture, Plant Tissue Culture and its Agricultural Application.** Butterworths University Pres. Cambridge.

Dzulfikar, A.S., M. Muryono dan F. Hendrayana. 2011. **Pengaruh pupuk nitrogen terhadap pertumbuhan dan produktivitas tembakau (*Nicotiana tobacum* L.) varietas Prancak pada kepadatan populasi 45.000/ha di Kabupaten Pamekasan, Jawa Timur.** Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Ferziana dan E. Lisa. 2013. **Pengaruh tripton dan arang aktif pada pembesaran bibit anggrek *Phalaenopsis in vitro*.** Jurnal Penelitian Pertanian Terapan. Vol. 13 : 45-51.

Gadbois, J. 2010. **My Orchid Grows Very Slowly. Am I Doing Something Wrong?.** Orchid Society of Alberta. Alberta.

George, E.F. 1996. **Plant Propagation by Tissue Culture Part 1 In Practice.** Exegitics Limited. England.

Gunawan, L.W. 1995. **Teknik Kultur in Vitro dalam Holtikultura.** Penebar Swadaya. Jakarta.

Hartmann, H.T. and D.E. Kester. 1975. **Plant Propagation Principle and Practices.** Prentice Hall Inc. London.

Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. 1999. **Soil Fertility and Fertilizers: an Introduction to Nutrient Management.** Prentice Hall Inc. Saddle River, New Jersey.

Hendaryono, D.P.S dan A. Wijayani. 1994. **Teknik Kultur Jaringan.** Kanisius. Yogyakarta.

- Howards, J.A. 1996. **Sumber Daya Hutan, Teori dan Aplikasi**, Gajah Mada University Press. Jogjakarta.
- Karjadi, A.K., Luthfy dan Abubaer, B. 1995. **Pengaruh pemberian auksin, sitokinin dan giberelin dalam memacu pertumbuhan "multishoot" tanaman kentang kultivar Granula**. Bulletin Penelitian Hortikultura. Vol. 27. Jakarta.
- Katuuk, J.R.P. 1989. **Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman**. Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan. Jakarta.
- Lakitan, B. 1996. **Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman**. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Marks, M. 2000. **Orchids Care and Growth**. Universe Books, Inc., New York.
- Mas'ud, 1992. **Telaah Kesuburan Tanah**. Angkasa. Bandung.
- Putra, V.H. 2009. **budidaya dan prospek pemasaran anggrek bulan lokal (*Phalaenopsis amabilis*) di kebun anggrek Widorokandang Yogyakarta**. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rostiana, O. dan D. Seswita. 2007. **Pengaruh indole butyric acid dan naphthaleine acetic acid terhadap induksi perakaran tunas piretrum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (trevir.)vis.) klon prau 6 secara *in vitro***. Bulletin Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Vol. 19 : 39-48.
- Salisbury, F.G and C.W. Ross. 1992. **Plant Physiology**. Wadsworth Publication Company. California.
- Sarief. 1986. **Kesuburan dan Pemupukan Tanah Pertanian**. Pustaka Buana. Bandung.
- Setiono. 2010. **Mekanisme Penyerapan Nutrisi Mineral**. <http://setiono774.blogspot.com>. Diakses tanggal 15 Januari 2015.
- Setiyoko, B. 1995. **Kultur meristem tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.) kultivar Ambon untuk memperoleh tanaman yang bebas *Cucumber Mosaic Virus***. Skripsi. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sukma, D. 1994. **Pengaruh IAA dan BAP terhadap perbanyakan tunas mikro pisang mas (*Musa acuminata* L. AA Group). Ambon dan Barangan pisang mas (*Musa acuminata* L. AA Group). dan Raja Bulu (*Musa paradisiaca* L. AAB. Group) secara *in vitro***. Skripsi. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tomia, A. 2011. **Pengaruh auksin terhadap induksi virus pada gugur daun cabai**. Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan. Vol. 4 : 65-68.
- Yusnita. 2003. **Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien**. Agromedia Pustaka. Jakarta.

- Yusnita. 2004. **Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien.** Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zasaril, M., R. Sri, Yusnita dan H. Dwi. 2010. **Respon pertumbuhan tunas dari *protocorm-like bodies* menjadi planlet anggrek *Dendrobium* hibrida *in vitro* terhadap dua jenis media dan pemberian tripton.** Jurnal Agrotropika. Vol. 15 : 23-27.