

## INDUKSI TUNAS GADUNG (*Dioscorea hispida* Dennst) SECARA IN VITRO

### In vitro Induction of Yam Shoots (*Dioscorea hispida* Dennst)

NORMA ARIF<sup>\*)</sup>, AZHAR ANSI, TEGUH WIJAYANTO

*Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo, Kendari*

#### ABSTRACT

Yam (*Dioscorea hispida* Dennst) is a tuber crop that belongs to food sources and has not been widely recognized by the public. Aside from being a food ingredient, it can also be used as a natural pesticide. Until now, efforts to use the potential of yam have not been handled well. This research was conducted at the In vitro Laboratory of the Faculty of agriculture, Haluoleo University, from May to July 2014. The purpose of the study was to obtain the proper concentration of BAP to induce yam plant shoots in vitro. The research design used was a completely randomized design with 5 replications. One segment of the stem explants were grown on MS basic medium with different concentrations of BAP (0.5-4 ppm), with 5 replications and each replication consisted of 1 bottle containing 2 explants. Data were analyzed using Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The research results showed that the addition of various concentrations of BAP affected the span of the emergence of the first shoots but did not affect the percentage of explants alive and growing shoots. BAP concentration of 2 mg / L was the optimal concentration to induce shoots of yam (*Dioscorea hispida*) with a span began to shoot appearance at week 4 after planting.

Keywords: *Dioscorea hispida*, shoot induction, in vitro culture, hormone BAP

#### PENDAHULUAN

Tanaman gadung (*Dioscorea hispida*) merupakan salah satu jenis dioscorea yang sering dimanfaatkan umbinya sebagai pangan alternatif, karena kandungan karbohidratnya sama seperti umbi-umbian lain yang didominasi oleh pati sekitar 23-38 %, dan lebih rendah dibanding sumber karbohidrat lain seperti beras, jagung maupun ubi kayu (Kunia, 2002). Disamping sebagai bahan pangan alternatif, umbi gadung mengandung racun berupa alkaloida dioscorine yang dapat digunakan sebagai bahan pestisida alami. Mengingat potensi gadung yang tinggi maka sangat penting untuk dijaga kelestariannya. Oleh karena itu perlu pengelolaan agar budidaya dan pemanfaatannya dapat berkesinambungan.

Tanaman gadung diperbanyak dengan menggunakan umbi atau biji. Perbanyak menggunakan umbi yang mempunyai mata

tunas. Namun, umbi baru akan bertunas 3-4 bulan setelah dipanen sehingga perbanyakannya sangat lambat, permasalahan lain yang dihadapi dalam pengembangan tanaman gadung adalah ketersediaan bibit bermutu masih sangat terbatas.

Penggunaan metode konvensional dalam budidaya tanaman gadung, pada dasarnya tidak efisien dan tidak efektif lagi untuk mengimbangi tuntutan akan ketersediaan bibit sebagai bahan tanam tanaman gadung. Oleh karenanya dipilih metode baru untuk mendapatkan alternatif pemecahan masalah dalam upaya mengatasi ketersediaan bibit dan masalah pertumbuhan tunas yang lambat yaitu metode kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu metode perbanyak tanaman yang dapat menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat dan berkesinambungan. selain itu bibit tanaman yang dihasilkan lebih sehat dan mutu bibit lebih terjamin karena bebas patogen (Hendaryono dan Wijayani, 2007; Yunita, 2003).

<sup>\*)</sup> Alamat korespondensi:

Email : norma.arif63@yahoo.co.id

Untuk memacu induksi tunas secara kultur jaringan tergantung pada beberapa faktor, diantaranya sumber eksplan dan zat pengatur tumbuh. Sumber eksplan menjadi syarat utama keberhasilan inisiasi dan regenerasi budidaya jaringan. Bagian tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber eksplan adalah pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, dan hipokotil (Gunawan, 1995; Uzun *et al.*, 2014). Selanjutnya dikatakan bahwa zat pengatur tumbuh juga memegang peranan penting dalam keberhasilan induksi tunas diantaranya dari golongan sitokinin adalah BAP (*Benzil Amino Purin*)/BA (*Benziladenin*) kinetin dan zeatin. Penambahan sitokinin pada media kultur diharapkan dapat mengatasi masalah rendahnya laju pembelahan sel pada meristem tunas tanaman (Rejthar *et al.*, 2014; Yunita, 2004). BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) merupakan golongan sitokinin sintetik yang dapat digunakan dalam perbanyakan tanaman secara kultur *in vitro*. Hal ini karena BAP mempunyai efektifitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah didapat dan relatif lebih murah dibandingkan dengan kinetin (Krikorian, 1995; Yusnita, 2003).

Penggunaan sitokinin dalam memacu pertumbuhan tunas gadung pada media dasar MS (1/2 MS) yang dimodifikasi dengan penambahan 0,5 mg/L BAP dan 1 mg/L NAA memacu pertumbuhan tunas yang berasal dari eksplan stek nodus berhasil memperbaiki teknik *in vitro* tanaman *D. alata* (Fotso *et al.*, 2013). Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mendapatkan konsentrasi BAP yang tepat untuk menginduksi tunas tanaman gadung secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

**Lokasi dan Waktu Penelitian.** Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Unit *In Vitro* Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo Kampus Bumi Tridharma Kendari yang dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan September 2014.

**Bahan.** Bahan yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS), agar-agar, sukrosa, BAP, NAA, HCl, NaOH, alkohol 96% dan 70%, bahan sterilan, tissu, plastik tahan panas, karet gelang dan aquades.

**Rancangan Penelitian.** Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 8 perlakuan dengan tiga kali ulangan sehingga terdapat 24 unit percobaan. Perlakuan yang diuji sebagai media pertumbuhan adalah B1 (MS + BAP 0,5 ppm). B2 (MS + BAP 1 ppm). B3 (MS + BAP 1,5 ppm). B4 (MS + BAP 2 ppm). B5 (MS + BAP 2,5 ppm). B6 (MS + BAP 3 ppm). B7 (MS + BAP 3,5 ppm) dan B8 (MS + BAP 4 ppm).

## Pelaksanaan Penelitian

**Sumber dan Sterilisasi eksplan.** Eksplan yang digunakan adalah nodus ke 2 atau ke 3 pada batang muda, dipotong dengan 1 nodus. Eksplan dibersihkan dengan air mengalir selama 1 jam dan disterilkan dengan fungisida (Dithane-M) 2g /L dan agrept 2g/L masing-masing 15 menit lalu dibilas dengan aquades 3 kali. Kemudian dilanjutkan sterilisasi di dalam LAF dengan sterilisasi 1% sodium hipoklorit selama 35 menit dan kemudian dibilas empat kali (masing-masing 10 menit) dengan air suling steril.

**Penanaman untuk induksi tunas.** Eksplan nodus yang telah steril dengan 1 nodus kemudian ditumbuhkan ke dalam media dasar MS (MS+0,5 mg/l NAA) dengan 30 g/L sukrosa dan 7 gr agar dengan penambahan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Tingkat pH medium 5,8 sebelum disterilisasi. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 kg/cm<sup>2</sup> selama 20 menit. Eksplan ditanam pada media inisiasi tunas dengan 2 nodus pada setiap botolnya, kemudian inkubasi pada suhu 24-25°C dengan cahaya lampu TL 40 watt.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan mengkulturkan eksplan nodus batang tanaman gadung (*D. hispida.*) dalam media MS dengan berbagai konsentrasi BAP secara aseptik. Pertumbuhan nodus batang secara *in vitro* mulai terlihat pada 4 minggu setelah ditanam pada media pertumbuhan yang ditandai dengan munculnya bakal tunas pada ujung eksplan yang sebelumnya telah mengalami pembengkakan.

**Presentase Eksplan Hidup.** Presentase eksplan hidup tanaman gadung mengindikasikan eksplan yang tumbuh

dengan baik dan tidak terkontaminasi baik jamur maupun bakteri. Pengamatan dapat diamati pada umur 4 dan 16 minggu setelah tanam. Hasil anova menunjukkan bahwa BAP tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan hidup sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Persentase eksplan hidup berbeda-beda pada setiap perlakuan. Presentase eksplan hidup tertinggi 43% diperoleh pada perlakuan MS + BAP (0,5-2 ppm), namun, presentase eksplan hidup mengalami penurunan sampai 41% dengan meningkatnya konsentrasi BAP hingga 4 ppm yang ditambahkan ke dalam media tumbuh.

Beberapa masalah utama yang menyebabkan rendahnya persentase eksplan hidup pada saat inisiasi awal adalah kontaminasi, mati fisiologis, *browning* dan masalah dormansi alami pada eksplan. Rendahnya persentase hidup eksplan disebabkan eksplan nodus batang yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari lapang (rumah kaca) kemungkinan bahan tanam tersebut lebih banyak mengandung berbagai kotoran dan berbagai kontaminan hidup pada eksplan sangat beragam dan dapat dijumpai baik pada permukaan maupun dalam jaringan, sehingga kontaminasi jamur dan bakteri pada eksplan tersebut belum berhasil dieliminasi sepenuhnya.

Dalam penelitian ini kematian eksplan sebagian besar disebabkan karena terjadi kontaminasi. Kontaminasi terjadi pada umumnya saat awal penanaman eksplan yaitu satu minggu setelah tanam. Banyaknya eksplan yang mengalami kontaminasi dan kematian fisiologis antara lain dapat disebabkan sterilisasi media kurang sempurna, faktor eksplan dan lingkungan inkubasi yang tidak mendukung pertumbuhan eksplan. Sedangkan mati fisiologis dapat disebabkan oleh bahan eksplan yang tidak merismatik, bahan sterilan yang berlebihan, media yang tidak cocok atau pun lingkungan inkubasi yang tidak mendukung (Santoso dan Nursandi, 2003; Lestari, 2011). Kematian eksplan juga dapat disebabkan karena peningkatan konsentrasi BAP diduga dapat memicu terbentuknya toksin sehingga eksplan dapat menghasilkan senyawa fenol sebagai mekanisme pertahanan diri sehingga eksplan mulai mengalami *browning* dan akhirnya mati. Disamping itu *browning* pada eksplan dapat

disebabkan oleh faktor endogen eksplan yaitu adanya pengaruh enzim peroksidase dan oksidase yang dapat mengkalisis terjadinya oksidasi senyawa fenol pada bagian jaringan tanaman yang terluka sebagai akibat kegiatan pengambilan eksplan pada saat penanaman (Fitriani, 2003 dalam Nisa dan Rodima, 2005). Senyawa fenol dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena terjadinya ketidakmampuan eksplan menyerap nutrisi dalam media sangat rendah, sehingga dapat menyebabkan kematian eksplan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Widiastoety dan Santi (1994): Fitriani (2003) dalam Marlin (2008), menyatakan bahwa enzim peroksidase dan oksidase dapat mengkalisis senyawa fenol pada jaringan tanaman yang terluka yang mengakibatkan terganggunya pengambilan nutrisi pada media.

Rendahnya presentase hidup eksplan selain disebabkan kontaminasi oleh jamur, bakteri dan *browning* pada eksplan juga dapat disebabkan karena eksplan mengalami dormansi alami. Dormansi alami mempengaruhi tingkat responsifitas sel atau jaringan terhadap induksi morfogenesis yang diberikan. Pertumbuhan eksplan umumnya terhenti untuk sementara, dan dapat berubah warna menjadi kecoklatan sehingga pertumbuhan terhambat dan selanjutnya mati (Romano and Loucao (1992) dalam Indrioko (2010).

Tabel 1. Respon eksplan nodus batang pada kultur in vitro gadung (*D. hispida*) pada beberapa komposisi media tanam (16 mst)

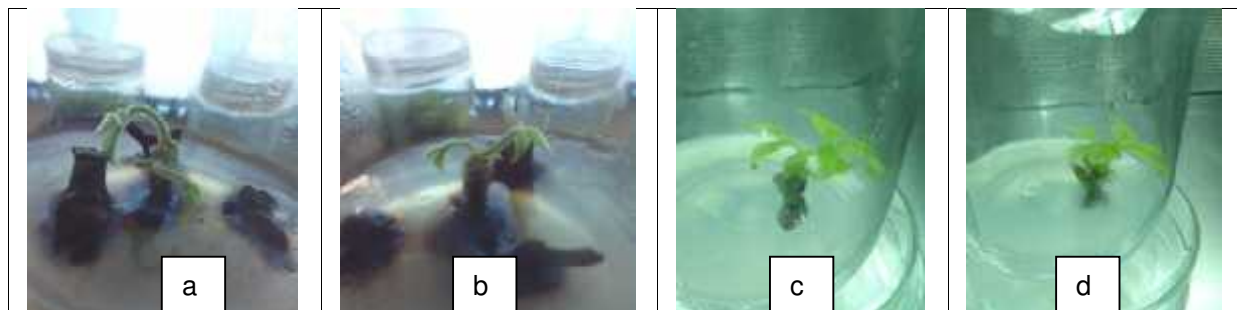
Perlakuan	Presentase Eksplan hidup		Rentang waktu muncul tunas pertama (minggu)	Persentase tumbuh tunas (%)
	4 mst	16 mst		
MS+BAP 0,5 ppm	90,0	43	5.33 abc	41
MS+BAP 1 ppm	90,1	43	4.66 abc	41
MS+BAP 1,5 ppm	90,1	43	4.33 ab	41
MS+BAP 2 ppm	90,0	43	4.00 a	41
MS+BAP 2,5 ppm	89,8	41	5.33 abc	40
MS+BAP 3 ppm	89,8	42	5.66 bc	40
MS+BAP 3,5 ppm	89,8	41	6.00 bc	40
MS+BAP 4 ppm	89,7	41	6.00 b	40

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha=0,05$

**Rentang Waktu Muncul Tunas Pertama.** Hasil anova menunjukkan bahwa BAP

berpengaruh terhadap rentang waktu muncul tunas pertama, artinya, semua kombinasi perlakuan memberi hasil saat kemunculan tunas yang tidak sama. Hal ini disebabkan perlakuan konsentrasi BAP yang digunakan

dapat memacu percepatan kemunculan tunas gadung dan tidak berpengaruh terhadap persentase tumbuh tunas disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1



Gambar 1. Induksi tunas dari nodus batang gadung pada media MS + BAP 1,5 ppm (a dan b umur 6 MST) dan MS+ BAP 2 ppm (c dan d umur 6 MST)

Berdasarkan uji Duncan rentang waktu muncul tunas bervariasi pada setiap perlakuan, rentang waktu muncul tunas tercepat pada perlakuan MS + BAP 2 ppm yaitu 4 minggu setelah tanam dan tidak berbeda dengan perlakuan MS + BAP (0,5-1,5 ppm), dan lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan MS+BAP (2,5-4 ppm) tunas baru muncul setelah umur 5 dan 6 minggu setelah tanam. Semakin meningkat konsentrasi BAP pada medium, saat muncul tunas semakin lama. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian BAP yang lebih rendah telah memenuhi kebutuhan eksplan gadung. Hoesen (1998) dalam Yunus (2007) menyatakan bahwa terbentuknya tunas terjadi lebih awal terutama pada kultur yang diberi tambahan sitokinin. Pertumbuhan tunas sebagai akibat respon terhadap zat tumbuh yang diberikan dan hormon yang terdapat dalam eksplan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa BAP sangat berperan dalam terbentuknya tunas yang lebih cepat. Menurut Wattimena (1992) peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, dan pembentukan kloroplas. Hal senada dikemukakan oleh Smith 1992) dalam Marlin *et al.* (2008) dan Sardoei (2014), pemberian sitokinin seperti BA, BAP, kinetin atau zeatin ke dalam media akan berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan, yaitu menghilangkan dominasi apikal dan dapat menginduksi tunas secara *in vitro*.

Pemberian BAP 2 ppm dapat memacu induksi tunas karena BAP adalah salah satu jenis sitokinin yang berperan aktif dalam pembelahan sel. Proses pembelahan sel

dipengaruhi oleh *Cyclin-dependent* kinase, enzim yang berperan pada pembelahan sel. CDK mempengaruhi peralihan fase dari G1 ke S dan G2 ke M. Siklus pembelahan sel membutuhkan kerjasama antara CDK dengan beberapa jenis *cyclin*. Peralihan dari fase G1-S diatur oleh *cyclin-D* (CYCD). Kerja CYCD dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti hormon dan sukrosa. Adanya sukrosa dan hormon akan membentuk kompleks aktif CYCD dan CDKA. Kompleks tersebut akan mengaktifkan promotor E2F sehingga mengaktifkan gen-gen transkripsi yang terlibat pada fase S. Peralihan fase G2-M dipengaruhi oleh aktivitas CDK-CYC. Peningkatan aktifitas kompleks CDK-CYC selama fase G2 mempercepat peralihan dari fase G2 ke M (Dewitte and Murray, 2003; Inze and De Veylder, 2006; Pereira *et al.*, 2012; Khoiriyah *et al.*, 2013).

Rentang waktu tercepat diperoleh pada konsentrasi BAP 2 ppm tidak berbeda dengan perlakuan MS + BAP (0,5-1,5 ppm), hasil penelitian ini didukung oleh Mariska *et al.* (1989) dalam Sari (2006) yang mengemukakan bahwa penggunaan BAP 1,5 mg/l dapat mendorong terbentuknya tunas terbanyak dari eksplan batang satu buku pada tanaman *D. composita*. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman gadung (*D. hispida*) membutuhkan konsentrasi BAP yang lebih rendah untuk menginduksi tunas, karena BAP 2,5-4 ppm memberikan rentang waktu yang lebih lama untuk menginduksi tunas, ini menunjukkan eksplan sudah tidak responsif terhadap konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Widyastuti (2001)

menyatakan bahwa pertumbuhan tunas akan terhambat apabila eksplan sudah tidak responsif terhadap penambahan konsentrasi BAP tertentu.

Selain BAP, adanya NAA 0,5 ppm dalam media dasar MS diduga dapat bersinergi dengan BAP menstimulasi memacu kecepatan muncul tunas karena auksin endogen diduga tidak mencukupi dalam proses pembentangan sel yang menyebabkan pemberian auksin eksogen berpengaruh. Auksin dan sitokinin berperan bersama dalam pembelahan sel dengan mengontrol aktivitas dari CDK, enzim yang menyebabkan pembelahan sel pada sel-sel eukariot (Taiz dan Zeiger, 2002). Selain itu dilaporkan bahwa auksin dapat mengurangi pembentukan inhibitor CDK (Rechenmann, 2010).

BAP merupakan sitokinin menyebabkan sel-sel korteks nodus bersifat meristematik dan aktif membelah. Sel-sel korteks nodus yang bersifat meristematik membentuk beberapa kumpulan titik tumbuh tunas. Sel-sel meristematik korteks bagian superficial kemudian membelah membentuk tunica-corpora, sedangkan sel-sel meristematik bagian basal membentuk jaringan prokambium. Jaringan prokambium kemudian menyatu dengan jaringan pembuluh angkut pada eksplan (Negi *et al.*, 2011 dalam Khoiriyah *et al.*, 2013).

Pemberian berbagai konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap presentase tumbuh tunas gadung (Tabel 1), persentase tumbuh tunas mencapai 40-41%. Rendahnya persentase tumbuh tunas diduga karena eksplan nodus batang gadung tergantung dengan faktor endogen eksplan itu sendiri, selain itu berperannya zat pengatur tumbuh bila kondisi fisiologis eksplan dalam keadaan prima (Marlin, 2008). Secara umum semakin tinggi konsentrasi BAP yang ditambahkan dalam media semakin rendah kemampuan tumbuh tunas.

## SIMPULAN DAN SARAN

**Simpulan.** Berdasarkan hasil dan uraian pembahasan, dapat ditarik simpulan bahwa konsentrasi BAP, berpengaruh nyata terhadap rentang waktu muncul tunas, tetapi tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan hidup dan tumbuh tunas. Konsentrasi BAP 2 mg/L paling optimal untuk menginduksi tunas

gadung (*Dioscorea hispida*) dengan rentang waktu mulai muncul tunas pada minggu ke-4 setelah tanam.

**Saran.** Perlu penelitian lanjutan dengan menggunakan berbagai jenis eksplan mengingat pertumbuhan tunas gadung dari eksplan nodus batang secara *in vitro* sangat lambat, sehingga membutuhkan waktu yang relatif panjang untuk menginduksi umbi mikro.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dewitte W, Murray JAH. 2003. The Plant Cell Cycle. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 54(2): 35-64.
- Fotso N, Sandrine MF, Désiré MH, François DP, Denis ON. 2013. Micropropagation of *Dioscorea alata* L. from microtubers induced *in vitro*. *J. of Biotech.* 12 (10): 1057-1067.
- Gunawan LW. 1995. *Teknik Kultur In Vitro dalam Hortikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hendaryono DPS, Wijayani A. 2007. *Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk perbanyakan Tanaman secara vegetatif Modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Indrioko S, Suyono EA, Widiyatno. 2010. Strategi Rehabilitasi Hutan Tropis: Propagasi *Shorea leprosul* Unggul untuk Peningkatan Serapan CO<sub>2</sub>. Laporan Hibah Penelitian Strategi Nasional Tahun Anggaran 2010. 60p.
- Inze D, De Veylder L. 2006. Cell cycle regulation in plant development. *Annu. Rev. Genet.* 40: 77-10.
- Khoiriyah N, Rahayu ES, Herlina L. 2013. Induksi perbanyakan tunas *rosa damascena* mill. dengan penambahan auksin dan sitokinin; *Unnes Journal of Life Science.* 2 (1):67-73.
- Krikorian AD. 1995. Hormones in tissue culture and micropropagation. In Davies PJ (ed) *Plant Hormones "Physiology, Biochemistry and Molecular Biology"*. Kluwer Academic Publishers, London. (5): 774-796.
- Kunia K. 2002. Cara Aman Mengonsumsi Gadung. <http://kabelankunia.blogspot.com/2008/11/cara-aman-mengonsumsi-gadung.html>. Diakses tanggal 5 Desember 2008.
- Lestari EG. 2011. Role of growth hormones in Plant Propagation through tissue culture. Research and Development Center for Biotechnology & Genetic Resources. *Agro Biogen J* 7(1):63-68.
- Marlin, Muhktasar, Hartal. 2008. Upaya Penyediaan Bibit Pisang Ambon Curup' Unggulan Propinsi

- Bengkulu Dengan Pembentukan Planlet Secara *In Vitro*. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing. Tahun Anggaran 2008. 73p.
- Pereira PA, Sousa FV, Becker JD. 2012. Decision-making in the plant cell cycle. *Canal BQ* 9: 48-62.
- Rechenmann CP. 2010. Cellular response to auxin: division versus expansion. *cold spring harb. Perspect Biol.* 2: 1-15
- Rejthar J, Viehmannova I, Cepkova PH, Fernandez E, Milella L. 2014. In vitro propagation of *Drosera intermedia* as influenced by cytokinins, pH, sucrose, and nutrient concentration. *Emir. J Food Agric.* 26(6):558-564.
- Santoso U, Nursandi F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM Press. Malang.
- Sardoei AS. 2014. Response of application of GA3 and BA to *Dizigotheeca* plants. *Int. J Of Advanced Biol. And Biomed. Res.* 2(3):615-621
- Sari YP. 2006. Pengaruh NAA dan BAP terhadap inisiasi tunas pada eksplan nodus tanaman zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) secara *In Vitro*. *Bioprospek*, 6 (1): 1-11.
- Taiz L, Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. Edisi Ketiga. Massachusetts: Sinauer Associates Ink.
- Uzun S, Ilbas AI, Ipek A, Arslan N, Barpete S. 2014. Efficient in vitro plant regeneration from immature embryos of endemic *Iris sari* and *I. schachtii*. *Turk. J Agric. For.* 38: 348-353.
- Wattimena GA. 1992. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Widyastuti ET. 2001. "Pengaruh BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas serta Jenis Media terhadap Pengakaran Tunas Kaspia (*Limonium caspium*) Secara In Vitro. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Widiastoety D, Santi A. 1994. Pengaruh air kelapa terhadap pembentukan protocorm like bodies (plbs) dari anggrek Vanda dalam medium cair. *Jurnal Hortikultura.* 4 (2):71-73.
- Yunita R. 2004. Multiplikasi tunas melinjo (*Gnetum gnemon*) secara *in vitro*. *Jurnal Sagu* 3(1): 1-8.
- Yunus, Ahmad. 2007. Pengaruh IAA dan kinetin terhadap pertumbuhan eksplan bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) secara *in vitro*. *Jurnal Akta Agrosia Edisi Khusus* 1: 53-58.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien.*: Agromedia Pustaka. Jakarta.