



**REPETITIF EMBRIOGENESIS SOMATIK *Dendrobium* sp. PADA TEKNIK
MEDIA KULTUR PADAT, *THIN LIQUID FILM*, DAN *DOUBLE-LAYER*
SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
Thiya Fathiyatul Fauziah
21901061044



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2023**

ABSTRAK

Thiya Fathiyatul Fauziah . NPM. 21901061044. Skripsi. Repetitif Embriogenesis Somatik *Dendrobium* sp. pada Teknik Media Kultur Padat, *Thin Liquid Film*, dan *Double-Layer* Secara *In-Vitro*.

Dosen Pembimbing (1) Ir. Tintrim Rahayu, M. Si.; (2) Dr. Gatra Ervi Jayanti, S.Si., M. Si.

Dendrobium sp. merupakan salah satu jenis anggrek yang banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai tanaman hias pot dan bunga potong. Industri florikultur di Indonesia masih dihadapkan dengan masalah terbatasnya kesediaan bibit tanaman, karena perbanyakan konvensional membutuhkan waktu yang lama, sehingga tidak mampu memenuhi permintaan pasar. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan secara *in vitro* yang mampu menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dengan waktu yang lebih singkat. Teknik media yang digunakan dalam kultur jaringan dapat mempengaruhi perkembangan eksplan. *Protocorm like bodies* (PLB) merupakan embrio somatik anggrek yang di dalamnya terdapat sel-sel embrionik, sehingga tidak sulit untuk menghasilkan embrio somatik baru. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui bagaimana perkembangan PLB *Dendrobium* sp. pada teknik media padat, *thin liquid film* dan *double-layer*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana terdapat 3 perlakuan dengan 4 kali pengulangan. Analisis data menggunakan uji perbandingan secara univariat, Bonferroni dan *Games-Howell*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada teknik media *thin liquid film* memiliki waktu munculnya embrio somatik baru tercepat, pertambahan berat tertinggi dan variasi warna terbanyak dibandingkan dengan teknik media *double-layer* dan padat. Namun teknik media padat, *thin liquid film* dan *double layer* tidak berpengaruh signifikan terhadap munculnya akar pertama, tunas pertama dan panjang akar. Warna daun dan embrio yang dihasilkan oleh teknik media *thin liquid film* lebih bervariasi yaitu 3 variasi pada warna embrio dan 4 variasi pada warna daun, sedangkan teknik media *double-layer* hanya memiliki 1 variasi warna embrio dan 1 variasi pada warna daun dan teknik media padat memiliki 1 variasi pada warna embrio dan 3 variasi pada warna daun.

Kata kunci: Repetitif embriogenesis, *Thin liquid film*, *Double-layer*, Kultur *in vitro*

ABSTRACT

Thiya Fathiyatul Fauziyah. NPM. 21901061044. Thesis. Repetitive Somatic Embryogenesis *Dendrobium* sp. on Solid, Thin liquid film, and Double-layer Culture Media Techniques In-Vitro.

Supervisor (1) Ir. Tintrim Rahayu, M. Si.; (2) Dr. Gatra Ervi Jayanti, S.Si., M. Si.

Dendrobium sp. another type of orchid is widely cultivated in Indonesia as a potted plant and cut flower. Indonesia's floriculture industry is still faced with a lack of seedlings, it's because conventional overcrowding can take a long time and thus cannot meet market demand. The culture is an infusion of vitro in vitro, which produces a lot of plants in short order. Media techniques used in tissue cultures can affect explant farming. Protocorm like bodies (PLB) is a somatic orchid that contains embryonic cells, so it is easy to produce a new somatic embryo. The purpose of the study was to learn how PLB *Dendrobium* sp. in dense media engineering, thin liquid film and double-layer. The study used experimental methods with a full random design (RAL) where there are 3 treatments with 4 repetitions. Data analysis uses univariate comparisons, Bonferroni and Games-Howell. Research shows that on media thin liquid film they have the fastest new somatic embryo appearance, the highest weight increase and most color variations compared with a double-layer and dense media technique. But dense media techniques, thin liquids film and double layer do not significantly affect the appearance of first roots, first shoots and long roots. The color of the leaves and embryos produced by the thin liquid film technique varies more than 3 variations in the color of the embryo and 4 variations in the color of the leaves, whereas the double-layer media technique has only 1 variation of embryo color and 1 variation in leaf color and dense media technique has 1 variation in embryo color and 3 variations in leaf color.

Keywords: Repetitive embryogenesis, Thin liquid film, Double-layer, Solid, in vitro culture

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara di kawasan Asia Tenggara dengan keanekaragaman tanaman berbunga paling tinggi. Salah satu kelompok tanaman berbunga yang memiliki anggota terbanyak ialah famili Orchidaceae. Jenis anggrek yang banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai tanaman hias pot dan bunga potong ialah Anggrek *Dendrobium* sp. (Wijayani dkk., 2007). Menurut Bahar (2014) pada tahun 2013 produksi tanaman anggrek di Indonesia mencapai lebih dari 20 juta tangkai. Namun, pada tahun 2014 menurun menjadi 19 juta tangkai. Perbanyakan anggrek secara konvensional dilakukan dengan pemisahan rumpun tanaman dan keiki (Rachmawati dkk., 2016). Perbanyakan konvensional tersebut membutuhkan waktu yang lama sehingga tidak mampu memenuhi permintaan konsumen (Rahmah et al., 2018). Hal ini yang menyebabkan industri florikultur di Indonesia masih dihadapkan dengan masalah terbatasnya kesediaan bibit tanaman (Kasutjianingati, 2013). Oleh karena itu, harus ada upaya penyediaan bibit secara massal yang efektif dan efisien, salah satunya melalui teknik kultur jaringan.

Teknik perbanyakan terbaik saat ini untuk anggrek yaitu melalui kultur jaringan (Santoso dkk., 2020). Kultur jaringan merupakan suatu teknik memilih galur tanaman dan menghasilkan individu baru yang bersih dari hama dan penyakit, dengan jumlah yang banyak dengan waktu yang singkat (Gunawan, 1992). Faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan kultur *in-vitro* diantaranya yaitu, eksplan, media yang digunakan, dan lingkungan (Apriliyana & Wahidah, 2021). Perbanyakan kultur jaringan dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan yang tepat, diantaranya yaitu embrio somatik anggrek atau yang lebih dikenal *Protocorm Like Bodies* (PLB) (Aryati dkk., 2015). PLB merupakan suatu struktur berupa bulatan-bulatan yang terbentuk dari jaringan eksplan dan atau kalus *in vitro* (Wijayani dkk., 2007). Untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *protocorm* yang diinginkan bisa didapatkan dengan mengatur teknik pemberian media dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang tepat.

Repetitif embriogenesis somatik bisa juga disebut dengan embriogenesis somatik sekunder yang merupakan proses terbentuknya embrio somatik baru yang berasal dari embrio somatik (Raemakers, 1995). Pada embriogenesis somatik pertumbuhan sel disebabkan oleh pembelahan sel yang terus menerus bukan disebabkan karena penambahan ukuran sel. Embriogenesis somatik sekunder lebih memiliki banyak

keuntungan karena dalam hal multiplikasi dan dapat meningkatkan tingkat keseragaman (Naing, 2013). Embriogenesis repetitif dapat tetap tumbuh tanpa kehilangan kemampuan regenerasi (Jain, 1995). Embriogenesis repetitif bersifat bipolar atau memiliki dua arah tumbuh yang akan tumbuh menjadi tunas dan akar (Franklin dan Dias, 2006).

Murashige dan Skoog (MS) merupakan salah satu media yang banyak digunakan dalam kultur jaringan (Inkiriwang dkk., 2016). Unsur-unsur yang penting dalam media kultur jaringan adalah hara makro dan mikro, karbohidrat, vitamin, dan agar (Nurul, 2017).

Media merupakan tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan (Mahmoud & Kosar, 2013). Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair. Media padat umumnya berupa padatan gel, seperti agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air (Mahmoud & Kosar, 2013). Media padat berperan sama seperti tanah, yaitu memberikan dukungan fisik pada tanaman kultur untuk mempertahankan kontak dengan udara untuk respirasi (Chimdessa, 2020). Penggunaan media cair memiliki resiko eksplan terendam dan mati karena kekurangan oksigen atau hiperhidrasi (Chimdessa, 2020).

Teknik media *thin liquid film film* merupakan penggunaan media cair dengan sistem mencelupkan sementara ekplan ke dalam media cair (Etienne & Berthouly, 2002). Pada penelitian Adelberg (2005) menunjukkan bahwa penggunaan teknik media *thin liquid film* dapat meningkatkan multiplikasi pada tanaman *Hosta* sp. Mikropropagasi tanaman *Hosta* sp. pada media *Murashige and Skoog* (MS) cair memiliki berat basah yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman *Hosta* sp. yang ditanam pada media *Murashige and Skoog* (MS) padat. Teknik media *double-layer* merupakan penggunaan dua media yaitu media cair dan media padat secara bersamaan (Demirkaya & Çömlekçioğlu, 2021). Teknik media *double-layer* memiliki komposisi yang sama antara media cair maupun media padat yang digunakan (Demirkaya & Çömlekçioğlu, 2021).

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang repetitif embriogenesis somatik PLB anggrek *Dendrobium* sp. pada teknik media padat, *thin liquid film film* dan *double-layer* untuk memaksimalkan embrio somatik yang dihasilkan dari PLB anggrek *Dendrobium* sp.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu:

- 1.2.1 Bagaimana pertumbuhan dan perkembangan PLB *Dendrobium* sp. yang dikultur pada teknik media padat *thin liquid film* dan *double-layer*?

1.2.2 Teknik media manakah yang paling berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan PLB *Dendrobium* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk:

1.3.1 Mengetahui pertumbuhan dan perkembangan PLB *Dendrobium* sp. yang dikultur pada teknik media padat, *thin liquid film* dan *double-layer*

1.3.2 Mengetahui teknik media yang paling berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan PLB *Dendrobium* sp.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu:

1.4.1 Manfaat dari penelitian ini kedepannya dapat mengetahui teknik media yang paling efektif dan efisien dalam melakukan kultur *in vitro* terutama dalam multiplikasi anggrek.

1.4.2 Manfaat penelitian ini sebagai informasi mengenai teknik kultur *in vitro* yang bisa menghasilkan tanaman yang unggul bagi peneliti maupun petani.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu pertumbuhan dan Perkembangan PLB *Dendrobium* sp. lebih baik pada teknik media *thin liquid film* dan *double-layer* dibandingkan dengan teknik media padat.

1.6 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini yaitu eskplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah PLB *Dendrobium* sp. yang berumur 3 bulan yang didapatkan dari Laboratorium Taman Arjuna, Singosari, Kabupaten Malang.

BAB V

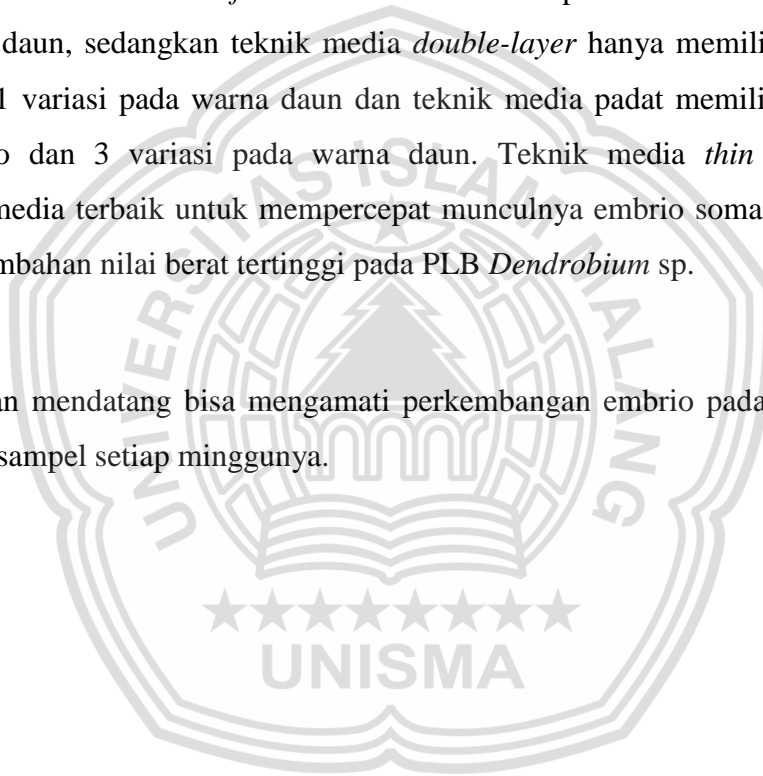
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa perbedaan teknik media padat, *thin liquid film* dan *double-layer* berpengaruh terhadap berat bersih, waktu munculnya akar kedua dan embrio somatik pertama pada PLB *Dendrobium* sp. Perbedaan teknik media padat, *thin liquid film* dan *double-layer* tidak berpengaruh terhadap munculnya tunas, munculnya akar pertama dan panjang akar pada PLB *Dendrobium* sp. Teknik media *thin-film* memiliki 3 variasi pada warna embrio dan 4 variasi pada warna daun, sedangkan teknik media *double-layer* hanya memiliki 1 variasi warna embrio dan 1 variasi pada warna daun dan teknik media padat memiliki 1 variasi pada warna embrio dan 3 variasi pada warna daun. Teknik media *thin liquid film* merupakan teknik media terbaik untuk mempercepat munculnya embrio somatic pertama, juga memiliki penambahan nilai berat tertinggi pada PLB *Dendrobium* sp.

5.2 Saran

Untuk penelitian mendatang bisa mengamati perkembangan embrio pada mikroskop dengan mengambil sampel setiap minggunya.



DAFTAR PUSTAKA

- Adelberg, J. 2005. Efficiency in thin-film liquid system for *Hosta* micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81(3) : 359–368. <https://doi.org/10.1007/S11240-004-6657-Y>
- Adihaningrum, H. 2019. Aktivitas Biosida Serbuk Pelepah Pisang Kepok Pada Pertumbuhan Benih Padi Hitam Secara In Vitro 4(1): 1–23. <http://eprints.ums.ac.id/74074/>
- Admojo, L., A. Indrianto., dan H. Hadi. 2014. Perkembangan Penelitian Induksi Kalus Embriogenik pada Jaringan Vegetatif Tanaman Karet Klonal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). *Warta perkaretan* 33(1): 19-28.
- Afreen, F., S. M. A., Zobayed dan T., Kozai. 2002. Photoautotrophic Culture of *Coffea arabusta* Somatic Embryos: Photosynthetic Ability and Growth of Different Stage Embryos. *Annals of Botany* 90(1): 11–19. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCF150>
- Ainiah, N., T. Rahayu., dan A. Hayati. 2020. Analisis Karakter Fenotip Beberapa Spesies *Dendrobium*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* 5(2): 10–16. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v5i2.166>
- Alister, B. M., J. Finnie., M. P. Watt., dan F. Blakeway. 2005. Use of the temporary immersion bioreactor system (RITA®) for production of commercial Eucalyptus clones in Mondi Forests (SA). *Liquid Culture Systems for in Vitro Plant Propagation*, 425–442. https://doi.org/10.1007/1-4020-3200-5_33
- Andiani, Y. 2016. *Usaha Pembibitan Anggrek dalam Botol (Tehnik In-vitro)*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Andriani, D., dan P. Heriansyah. 2021. Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: Agricultural Journal* 4(2): 192–199. <https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723>
- Andriyani, A. 2017. *Membuat Tanaman Anggrek Rajin Berbunga*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Apriliyana, R., dan B. F. Wahidah. 2021. Perbanyak anggrek *Dendrobium* sp. secara in vitro: Faktor-faktor keberhasilannya. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi* 1(2): 33–46. <https://doi.org/10.24252/FILOGENI.V1I2.21992>

- Apriyanthi, D.P.R.V.A., A.SW. Laskmi., dan N.P. Widiyanti. 2022. Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar* 7(2): 24-33.
- Arimbawa, W.P. 2016. *Dasar-Dasar Agronomi. Bahan Ajar.* Denpasar: Universitas Udayana.
- Ascough, G. D., dan C. W. Fennell. 2004. The regulation of plant growth and development in liquid culture. In *South African Journal of Botany* 70(2): 181–190). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30234-9](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30234-9)
- Assagaf, M. H. 2012. *1001 Species Anggrek yang Dapat Berbunga di Indonesia.* Kataelha.
- Avila, A. D. L., S. M. Pereyra., dan J. A. Argüello. 1996. Potato micropropagation: Growth of cultivars in solid and liquid media. *Potato Research* 39(2): 253–258. <https://doi.org/10.1007/bf02360916>
- Azizi, A. A. A., I. R. Tambunan., dan D. Efendi. 2017. Multiplikasi Tunas In Vitro Berdasarkan Jenis Eksplan Pada Enam Genotipe Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 23(2): 90-97. <https://doi.org/10.21082/litri.v23n2.2017.90-97>
- Bahar, Y. H. 2014. Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014. Direktorat Jendral Hortikultura, Kementerian Pertanian. <https://hortikultura.pertanian.go.id/wpcontent/uploads/2016/02/Statistik-Produksi-Hortikultura-2013.pdf>
- Basri, A. H. H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia* 10(6): 64–73.
- Chimdessa, E. 2020. Composition and Preparation of Plant Tissue Culture Medium. *Journal of Tissue Culture and Bioengineering.* <https://doi.org/10.29011/26886502.000020>
- Darmono, D. W. 2006. *Agar Anggrek Rajin Berbunga.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Debergh, P., J. De Riek., dan D. Matthys. 1994. Nutrient supply and growth of plants in culture. In *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture.* Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0790-7_5
- Demirkaya, B., dan N. Çömlekçioğlu. 2021. Effects of Biotin and Ascorbic Acid Applications on Haploid Embryo Induction in Semisolid and Double Layer Nutrient Media in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anther Culture. *International*

Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences 5(2) : 191–196.
<https://doi.org/10.31015/jaefs.2021.2.8>

Dharmadewi, A. A. I. M. 2020. Analisis Kandungan Klorofil Pada Beberapa Jenis Sayuran Hijau Sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Supplement. *Emasains : Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains* 9(2): 171–176.
<https://doi.org/10.5281/ZENODO.4299383>

Dorusposari, B. 2003. Pengaruh Zat Tumbuh Kinetin dan Naphthaline Acetic Acid Terhadap Pembentukan dan Perkembangan Mersitem Ujung Batang inaan Anggrek Hibrida Phalaenopsis: Star Rio" Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.

Evans, D.A., W.R. Sharp., dan C.E. Flick. 1981. Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis. In *Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture*. Ed. T.A. Thorpe, New York. Academic Press Inc 45-113.

Etienne, H., dan Berthouly, M. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 69(3): 215–231.
<https://doi.org/10.1023/A:1015668610465/METRICS>

Fang, S. C., J. C. Chen., dan M. J. Wei. 2016. Protocorms and Protocorm-Like Bodies Are Molecularly Distinct from Zygotic Embryonic Tissues in *Phalaenopsis aphrodite*. *Plant Physiology* 171(4): 2682–2700. <https://doi.org/10.1104/PP.16.00841>

Febrizawati, F., M. Murniati., dan S. Yoseva. 2014. Pengaruh Komposisi Media Tanam dengan Konsentrasi Pupuk Cair terhadap Pertumbuhan Tanaman Anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.). *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau* 1(2): 1–12. <https://www.neliti.com/id/publications/187066/>

Fleming, A. 2006. Metabolic aspects of organogenesis in the shoot apical meristem. *Journal of Experimental Botany* 57(9): 1863–1870.
<https://doi.org/10.1093/JXB/ERJ178>

Franklin, G., dan A.C.P. Dias. 2006. Organogenesis and embryogenesis in several *Hypericum perforatum* genotypes. *In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant* 42: 324–330. <https://doi.org/10.1079/IVP2006787>.

- George, E.F., dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetics Ltd.
- George, E. F., M. A. Hall., dan G. J. D. Klerk. 2008. Plant propagation by tissue culture 3rd edition. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition* 1: 1–501. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3/COVER>
- Gunawan, L. . 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. PAU Bioteknologi Tanaman IPB. Bogor.
- Habiba, S. U., K. Shimasaki., M. Ahasan., dan M. Alam. 2014. Effect of 6-Benzylaminopurine (BA) and Hyaluronic Acid (HA) under White Light Emitting Diode (LED) on Organogenesis in Protocorm-Like Bodies (PLBs) of. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences* 14(7): 605–609.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester., F. T. Davies Jr., dan R. L. Geneve. 2013. *Plant Propagation Principles and Practices* Pearson New International Edition. IEEE.
- Inayah, T. 2015. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Pada Induksi Embrio Somatik Dua Kultivar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara In Vitro. *Agribusiness Journal* 9(1): 61–70. <https://doi.org/10.15408/aj.v9i1.5086>
- Inkiriwang, A. E. B., J. Mandang., dan S. Runtuuwu. 2016. Substitusi Media Murashige dan Skoog/MS dengan Air Kelapa dan Pupuk Daun Majemuk pada Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* secara in vitro. *Jurnal Bios Logos* 6(1). <https://doi.org/10.35799/JBL.6.1.2016.16258>
- Jain, N., M. W. Bairu., W. A. Stirk., dan J. V. Staden. 2009. The effect of medium, carbon source and explant on regeneration and control of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens*. *South African Journal of Botany* 75(1): 117–121. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2008.08.005>
- Jain, S.M., dan P.K. Gupta. 1995. Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants. *Springer, the Netherlands* 321–343.
- Jayasankar, S., B. R. Bondada., Z. Li., dan D. J. Gray. 2003. Comparative anatomy and morphology of *Vitis vinifera* (Vitaceae) somatic embryos from solid- and liquid-culture-derived proembryogenic masses. *American Journal of Botany* 90(7): 973–979. <https://doi.org/10.3732/AJB.90.7.973>

- Kasutjaningati, K. 2013. Media Alternative Perbanyak In-Vitro (*Phalaenopsis amabilis*). *Jurnal Agroteknos* 3(3) : 184–189.
- Kriswanto, B. 2020. Pengaruh Media dan Perbandingan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh pada Regenerasi Anggrek *Phalaenopsis* sp. melalui Pembentukan Embrio Somatik. In *Digital Repository Universitas Jember*. Program Studi Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember 2020. <https://repository.unej.ac.id/xmlui/handle/123456789/100430>
- Lee, Y. I., S. T. Hsu., dan E. C. Yeung. 2013. Orchid protocorm-like bodies are somatic embryos. *American Journal of Botany* 100(11): 2121–2131. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300193>
- Mahmoud, O., dan M. Kosar. 2013. Regeneration and histological of plants derived from leaf explants in vitro culture of strawberry. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)* 5: 943–950.
- Mardin, S. 2002. *Media Tumbuh Kultur Jaringan Tanaman. Makalah pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman.*
- Mariska, I. 2003. *Perbanyak Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan.* Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/9802>
- Mashudi, M. F., dan A. D. Ambarwati. 1998. Seleksi In vitro Tanaman Padi Tahan kekeringan dengan Teknik Kultur Jaringan. *Buletin Pertanian* 13(1): 10–14.
- Merkle, S.A., dan H.E. Sommer. 1986. Somatic embryogenesis in tissue culture of *Liriodendron tulipifera*. *Can. J. For. Res* 16: 420-422.
- Mose, W., A. Indrianto., A. Purwantoro., dan E. Semiarti. 2017. The Influence of Thidiazuron on Direct Somatic Embryo Formation from Various Types of Explant in *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid. *HAYATI Journal of Biosciences* 24(4): 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.11.005>
- Mukminin, L. H., P. M. Al Asna., dan F. K. Setiowati. 2016. Pengaruh Pemberian Giberelin Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp.). *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi* 2(2):90. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v2i2.2487>

- Naing, A.H., J.D Chung dan K.B. Lim. 2011. Plant Regeneration through Indirect Somatic Embryogenesis in Coelogyne cristata Orchids. *American Journal Of Plant Science* 2: 262-267.
- Nilsen, E. T., D. M. Orcutt., dan M. G. Hale. 1996. *The physiology of plants under stress*. <https://www.wiley.com/enus/Physiology+of+Plants+Under+Stress%3A+Soil+and+Biotic+Factors-p9780471170082>
- Ningrum, F., dan N. Mayta. 2022. Pemberian air rebusan kentang pada media Murashige Skoog terhadap pertumbuhan protokorm anggrek sendu (*Grammatophyllum stapeliiflorum*) secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Pertanian* 19(1): 19–28. <https://doi.org/10.31849/jip.v19i1.8514>
- Nisa, N. A., T. Rahayu., dan G. E. Jayanti. 2021. Peranan BAP dan Air Kelapa pada Medium VW terhadap Organogenesis *Dendrobium* sp. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* 8(2): 298. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p14>
- Nishimura, G. 1981. Comparative Morphology of *Cattleya* and *Phalaenopsis* (Orchidaceae) Seedlings 142(3): 360–365. <https://doi.org/10.1086/337235>
- Nofrianinda, V., F. Yulianti., dan E. Agustina. 2018. Pertumbuhan Planlet Stroberi (*Fragaria ananassa* D) Var. Dorit pada Beberapa Variasi Media Modifikasi In Vitro di Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO). *Biotropic : The Journal of Tropical Biology* 1(1): 32–41. <https://doi.org/10.29080/biotropic.2017.1.1.32-41>
- Nurul, F. 2017. Isolasi Agarosa Dari Agar Dan Aplikasinya Sebagai Komponen Medium Tanaman Obat Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) dengan Metode in Vitro. *Skripsi*. Universitas Andalas.
- Prado, E., dan A. Berville. 1990. Induction of somatic embryo development by liquid culture in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Science* 67(1): 73–82. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(90\)90052-P](https://doi.org/10.1016/0168-9452(90)90052-P)
- Rachmawati, F., A. Purwito., N. M. A. Wiendi., N. A. Mattjik., dan B. Winarto. 2016. Perbanyakannya Massa Anggrek *Dendrobium Gradita* 10 Secara In Vitro Melalui Embriogenesis Somatik. *Jurnal Hortikultura* 24(3): 196. <https://doi.org/10.21082/jhort.v24n3.2014.p196-209>

- Raemakers, C.J.M., Jacobsen, E. dan Visser, R.G.F. 1995. Secondary Somatic Embryogenesis and Application in Plant Breeding. *Euphytica*. 81: 93-107
- Rahayu, E. S., U. Anggraito., dan S. F. Dwisada, S. F. 2015. Kultur Fotoautotrofik : Solusi Mikropropagasi Tumbuhan Berkayu. *MIPA Unnes Press*. Malang.
- Rahmah, S., T. Rahayu., dan A. Hayati. 2018. Kajian Penambahan Bahan Organik Pada Media Tanam VW Pada Organogenesis Anggrek *Dendrobium* Secara In Vitro. *Jurnal SAINS ALAMI (Known Nature)* 1(1): 93–103. <https://doi.org/10.33474/j.sa.v1i1.1392>
- Rahmi, I., I. Suliansyah., dan T. Bustamam. 2010. Pengaruh Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Pucuk Jeruk Kanci (*Citrus* sp.) Secara In Vitro. *Jerami* 3(3): 210–219. http://demo.inlislitev3.perpusnas.go.id/uploaded_files/temporary/DigitalCollection/MGExOTY2NWJkZWZmNjM5MWQxMDBjOGEyMzVmMDk1Yzc4ZmU3MTYyMw==.pdf
- Royal Horticultural Society. 2019. RHS Colour Chart. RHS Media. UK.
- Saad, A. I. M., A. M. Elshahed., A. I. M. Saad., dan A. M. Elshahed. 2012. Plant Tissue Culture Media. *Recent Advances in Plant in Vitro Culture*. <https://doi.org/10.5772/50569>
- Salisbury, dan Frank. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Santoso, E., T. Rahayu., dan A. Hayati. 2020. Pengaruh Air Kelapa (*Cocos nucifera* L) dengan Medium VW terhadap Pertumbuhan Protocorm Anggrek secara in vitro The effect of coconut water (*Cocos nucifera* L) with VW medium on the *Phalaenopsis* sp. protocorm growth in vitro. *Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI (Known Nature)* 3: 37–43.
- Santoso, U. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM PRESS. Malang.
- Setyowati, D., G.E Jayanti., T. Rahayu., dan D. Agisimanto. 2023. Pengaruh Variasi Konsentrasi Indole Butyricacid (IBA) pada Anggrek (*Dendrobium hybrid*) Terhadap Pertumbuhan Dan Survival Dalam Media Cocopeat. *Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI* 38–48. <https://doi.org/10.33474/j.sa.v5i2.16959>

- Sivakumar, G., K. W. Yu., E. J. Hahn., dan K. Y. Paek. 2005. Optimization of organic nutrients for ginseng hairy roots production in large-scale bioreactors. *Current Science* 89(4): 641–649.
- Sutanto, A., dan M.A. Aziz. 2006. Induksi dan Regenerasi Embriogenesis Somatik Pepaya. *J. Hort* 16(2): 89-95.
- Tjitrosoepomo, G. 2013. Taksonomi Tumbuhan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Wati, T., I. A. Astarini., M. Pharmawati., dan E. Hendriyani. 2020. Perbanyak Begonia Bimaensis Undaharta & Ardaka Dengan Teknik Kultur Jaringan. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* 7(1): 112. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i01.p15>
- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara in vitro. Seri Kultur Jaringan Tanaman*. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Wicaksono, F. Y., A. F. Putri., Y. Yuwariah, Y. Maxiselly., dan T. Nurmala. 2017. Respons tanaman gandum akibat pemberian sitokinin berbagai konsentrasi dan waktu aplikasi di dataran medium Jatinangor. *Kultivasi* 16(2). <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v16i2.13805>
- Widiastoety, D., N. Solvia., dan M. Soedarjo. 2010. Potensi Anggrek Dendrobium Dalam Meningkatkan Variasi Dan Kualitas Anggrek Bunga Potong. *Jurnal Litbang Pertanian* 29(2): 101–106.
- Wijayani, Y., Solichatun., dan W. Mudyantini. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi Protocorm Like Body Anggrek *Grammatophyllum scriptum* dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi* 4(2): 33–40. <https://doi.org/10.13057/biotek/c040201>
- Williams, R. 1995. Automation and environmental control in plant tissue culture. In *Automation and environmental control in plant tissue culture*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-015-8461-6>
- Winda, S. 2017. Penampilan Kultivar Pisang Barangan (*Musa Acuminata* L.) dan Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* L.) Melalui Perbanyak In Vitro. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.

- Wirmasari, R., dan N. Mayta. 2019. Respons Pertumbuhan Protocorm Anggrek *Grammatophyllum stapelliflorum* (Teijsm & Binn.) J.J.Sm. Secara In Vitro pada Beberapa Komposisi Media. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 7 (2).
- Yan, R., Wang, C., Wang, J., Nie, R., dan Sun, H. 2020. High-efficiency somatic embryogenesis techniques for different hybrids of cut lilies. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 143(1): 145–157. <https://doi.org/10.1007/s11240-02001904-4>
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Malang.
- Yusnita, D. H. 2022. Embriogenesis Somatik *In Vitro* Untuk Perbanyak Klonal dan Pemuliaan Tanaman. Bandar Lampung : Pusaka Media
- Ziralou, Y. P. B. 2021. Metode Perbanyak Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* Poiret) dengan Teknik Kultur Jaringan atau Stek Planlet. *Jurnal Inovasi Penelitian* 2(3): 1037–1046. <https://doi.org/10.47492/JIP.V2I3.819>
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara. Jakarta.

