Pengaruh Konsentrasi GA3 Terhadap Induksi Tunas Tanaman Anggur (Vitis vinivera L.)

ISSN: 2301-6515

Secara In Vitro

SONDANG RAJAGUKGUK RINDANG DWIYANI*) I NYOMAN GEDE ASTAWA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana Jln. P.B. Sudirman, Denpasar 80231, Bali.

*)Email: rindangdwiyani@yahoo.co.id

ABSTRACT

The Effect of GA3 Concentration on The Induction of Grapevine (Vitis vinifera L.) Shoots Grown In Vitro

The research concerning 'The Effect of GA3 Concentration on the Induction of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Shoots Grown *In Vitro*' have been conducted during period of February to August 2016 at The Laboratory of Plant Tissue Culture, Faculty of Agriculture, Udayana University. The objective of the research was to find out the most appropriate concentration of GA3 in stimulating of grapevine shoot grown *in vitro*. The experiment was laid out in a Completely Randomized Design with 5 treatments of GA3 concentration. The treatments were 0, 10, 20, 30, 40 ppm of GA3, each was replicated five times. The results showed that the treatment of 20 ppm GA3 was the most appropriate concentration in stimulating growth of grapevine shoots. The highest percentage of explants growing shoots i.e. 33.3% was obtained with the treatment of 20 ppm of GA3, compared to 6,6% (0 ppm), 0% (10 ppm), 20% (30 ppm), 6,6% (40 ppm).

Keywords: *Grapevine*, *Shoots*, *GA3*, *in vitro*

1. Pendahuluan

Anggur merupakan tanaman buah berupa perdu merambat yang termasuk ke dalam keluarga Vitaceae. Anggur biasanya digunakan untuk membuat jus, jelly, minuman anggur, minyak biji anggur dan kismis, atau dimakan langsung. Buah ini juga dikenal karena mengandung banyak senyawa polifenol dan resveratol yang berperan aktif dalam berbagai metabolisme tubuh, serta mampu mencegah terbentuknya sel kanker dan berbagai penyakit lainnya. Aktivitas ini juga terkait dengan adanya senyawa metabolit sekunder di dalam buah anggur yang berperan sebagai senyawa antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Prihatman, 2000).

Dalam budidaya tanaman anggur membutuhkan modal awal yang cukup tinggi

dikarenakan proses budidayanya yang memakan biaya banyak yaitu mulai dari penanaman, pemangkasan, penjarangan buah, pemanenan serta perlakuan lain yang sangat perlu dilakukan degan intensif dan benar agar usahatani tanaman anggur tersebut mendapatkan hasil yang maksimal. Mengingat tanaman ini mampu menghasilkan produktivitas berkisar 10-20 kg dengan panen 2-3 kali pertahun, sehingga tanaman buah anggur sangat berpotensi di Indonesia dan tentunya memiliki nilai ekonomi yang tinggi (Sumarsono dkk, 2009). Namun selain masalah modal awal yang cukup tinggi, masalah penyediaan bibit yang unggul, bebas penyakit dan tersedia dalam jumlah besar juga merupakan salah satu sumber masalah petani tanaman anggur.

Untuk mendapatkan bibit anggur saat ini ada 2 cara yakni dengan cara generatif dan vegetatif. Cara yang umum digunakan oleh petani adalah secara vegetatif konvensional yaitu melalui stek. Namun cara itu tidak menjamin bahwa bibit tanaman anggur yang dihasilkan sehat dan bersih, karena kemungkinan adanya penularan patogen dilapang. Salah satu solusi alternatif pengadaan bibit sehat dan bersih untuk tanaman anggur yaitu melalui kultur jaringan.

Kultur jaringan atau kultur in vitro adalah teknik menumbuhkan organ, jaringan, sel (atau protoplas) tanaman secara in vitro pada media yang mengandung nutrisi dilaboratorium dalam kondisi aseptik. Teori ini didasari oleh teori totipotensi sel, yaitu teori yang menyebutkan bahwa sel tanaman memiliki potensi untuk tumbuh menjadi tanaman secara utuh. Teknik ini digunakan untuk berbagai tujuan, yang utamanya adalah untuk perbanyakan tanaman. Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan ini termasuk perbanyakan secara vegetatif dan anakan yang dihasilkan akan sama dengan induknya (*true-to type*). Selain sifat (*true-to type*) pada anaknya, teknik perbanyakan dengan cara ini lebih efisien karena dari bahan tanam yang berukuran kecil akan dihasilkan anakan dalam jumlah banyak. Bibit tanaman yang dihasilkan juga lebih sehat dan bersih, sehingga untuk tujuan perdagangan bibit, maka hasil dari kultur jaringan jauh lebih baik (Dwiyani, 2015).

Adapun faktor-faktor yang perlu diperhatikan untuk keberhasilan kultur jaringan yaitu bahan sterilisasinya, kandungan unsur kimia dalam media.Media merupakan salah satu faktor penting untuk keberhasilan teknik kultur jaringan untuk maksud apapun. Kecocokan media akan menentukan keberhasilan eksplan merespon, tumbuh dan berkembang. Komponen pokok medium meliputi makronutrien, mikronutrien, sumber karbon, hormon (ZPT), vitamin, asam amino dan asam-asam organik, air dan agar.

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, meghambat dan merubah proses fisiologis tumbuhan. Penggunaan giberelin dapat meningkatkan persentase pertumbuhan tunas anggur secara *in vitro*. Terdapat ± 80 jenis giberelin yang diketahui saat ini. Krisnamoorthy *dalam* Gardner *et al.* (1991) menyatakan bahwa sejumlah besar giberelin dengan struktur kimia dan kegiatan biologis yang diperlukan terdapat secara alami, dan

banyak diisolasi dari bakteri, fungi, lumut, paku dan dan diidentifikasi sebagai substansi seperti GA. Semua organ tanaman mengandung berbagai macam GA3.

Pada tingkat yang berbeda-beda, tetapi sumber terkaya dan mungkin tempat sintesisnya ditemukan pada buah, biji, tunas, daun muda, dan ujung akar. GA3 telah dilaporkan berguna untuk regenerasi tunas in vitro (Chakraborty *et al.*, 2000), promosi pertumbuhan, produksi biomassa dan panjang serat xilem (Ericksson *et al.*, 2000). Selanjutnya, GA3 dapat berperan sebagai pengganti auksin pada induksi pucuk dan dengan demikian rasio sitokinin-GA3 sangat menentukan diferensiasi jaringan tanaman tertentu (Sekioka dan Tanaka 1981).

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan tempat penelitian

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana yang beralamat di Jalan Pulau Moyo Denpasar pada bulan Febuari 2016 hingga Agustus 2016.

2.2 Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar air flow cabinet*, lemari pendingin, oven, autoklaf, timbangan analitik, mikro pipet, handsprayer, pembakar bunsen, *scalpel* dengan ukuran 3 dan 4, pinset berukuran kecil, sedang dan besar, batang pengaduk, botol kultur, cawan petri, labu ukur, gelas ukur, gelas enlemeyer, corong, label, *magnetik stirer*, kamera, pensil, kertas label, aluminium foil, pH indikator dan pisau steril.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas lateral tanaman anggur, deterjen, fungisida, klorox (sodium hypochloride), akuades steril, air, spritus, tisu, alkohol 70% dan 95%, media MS (Murashige dan Scoog, 1962) dan hormon GA3.

2.3 Metode penelitian

Penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan konsentrasi GA3, yaitu :

 $M_0 = 0 \text{ ppm } GA3$

 $M_1 = 10 \text{ ppm GA3}$

 $M_2 = 20 \text{ ppm GA3}$

 $M_3 = 30 \text{ ppm GA3}$

 $M_4 = 40 \text{ ppm GA3}$

Perlakuan tersebut diulang 5 kali, sehingga ada unit 25 perlakuan. Setiap unit perlakuan diwakili oleh satu buah botol kultur yang ditanam 3 buah eksplan. Media dasar yang digunakan adalah media MS. Dalam penelitian ini tidak dilakukan uji statistik, karena rendahnya tingkat keberhasilan dalam penelitian kultur jaringan. Sehingga data hasil penelitian ini hanya dibahas secara deskriptif. Penelitian kultur

in-vitro tanpa menggunakan uji statistik pernah dilaporkan oleh Girsang (2008), Dwiyani (2010) dan Rineksane (2015).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan terhadap Presentase Kontaminasi, Browning, Membengkak, Bertunas, Berdaun

Perlakuan	%	%	%	%
	Browning	Membengkak	Bertunas	Berdaun
Mo	20	13	6,6	0
M_1	26	6	0	0
M_2	13	46	33,3	13
M_3	33	33	20	6,6
\mathbf{M}_4	53	13	6,6	0

Keterangan: M₀=0ppm, M₁=10ppm, M₂=20ppm, M₃=30ppm, M₄=40ppm

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa peubah konsentrasi zat pengatur tumbuh GA3 mempengaruhi jumlah presentase dari setiap perlakuan.

Tabel 2. Saat Terjadinya Pembengkakan, Saat Muncul Tunas dan Saat Muncul Daun

	Rata-Rata Waktu Pembentukan (hst)			
Perlakuan	Membengkak	Bertunas	Berdaun	
Mo	12,5	16	-	
\mathbf{M}_1	10	-	-	
\mathbf{M}_2	6,7	12,2	17,5	
M_3	10,4	13,4	20	
M_4	12	14	-	

Keterangan: M₀=0ppm, M₁=10ppm, M₂=20ppm, M₃=30ppm, M₄=40ppm

3.2 Pembahasan

Dalam kultur jaringan besar kecilnya ukuran eksplan akan mempengaruhi kondisi fisiologis maupun biologis eksplan tersebut ketika akan diberikan perlakuan secara *in-vitro*. Makin besar ukuran eksplan akan mempermudah proses kultur dan menyebabkan lebih banyak planlet yang dihasilkan, namun akan diperoleh anakan yang bebas virus semakin sedikit seperti percobaan yang dilakukan oleh Dale&Cheyene (1993) pada tanaman clover.

Pada penelitian ini data kontaminasi tertinggi terjadi pada media dengan perlakuan M_1 yaitu sebesar 70 % . Eksplan yang ditanam pada media memiliki ukuran yang cukup besar yaitu berkisar antara 2-2,5cm sehingga peluang terjadinya

kontaminasi semakin besar, hal ini sejalan dengan pernyataan Dwiyani (2015) bahwa ukuran eksplan yang semakin besar akan menyebabkan eksplan lebih kuat dalam proses sterilisasi sehingga memungkinkan presentase eksplan bertahan hidup paska sterilisasi semakin besar dan diperoleh jumlah planlet yang lebih banyak. Namun semakin besar ukuran eksplan menyebabkan keikutsertaan jaringan pembuluh pada eksplan eksplan yang digunakan sehingga kemungkinan adanya virus dan bakteri. Selain faktor ukuran kontaminasi bisa terjadi kemungkinan disebabkan karena kurang sempurnanya sterilisasi pada saat proses penanaman eksplan dalam laminator.

Kontaminasi oleh mikroba merupakan salah satu masalah serius dalam kultur *in vitro* tanaman dan merupakan penyebab utama hilangnya kultur tanaman. Upaya untuk meningkatkan skala produksi (scaling up) kultur in vitro tanaman seringkali terhambat oleh adanya kontaminasi mikroba. Berbagai jenis mikroorganisme (fungi, kapang, bakteri, virus, dan viroid) dan mikroantropoda (tungau dan trips) telah diidentifikasi sebagai kontaminan dalam kultur jaringan tanaman (Leifert & Cassells, 2001).

Selain akibat pelukaan, pencoklatan atau browning yang terjadi pada penelitian ini, mungkin pula disebabkan karena konsentrasi yang dicobakan cukup pekat. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Yusnita(2004) bahwa sterilan berpengaruh terhadap tingkat kontaminasi dan konsentrasinya berpengaruh langsung terhadap pencoklatan pada eksplan. Dengan demikian, penggunaan bahan sterilan pada konsentrasi yang sesuai memberikan hasil sterilisasi eksplan yang baik.

Tabiyeh *et al.* (2006) mengemukakan bahwa pencoklatan dalam kultur jaringan disebabkan karena meningkatnya produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi oleh aktivitas enzim oksidase (PPO) dan polimerasinya. Fenilalanin amonia liase (PAL) adalah salah satu enzim dalam fenilpropanoid yang sangat berpengaruh terhadap terjadinya pencoklatan. Salah satu penyebab utama pencoklatan dalam kultur in vitro adalah luka karena pemotongan pada jaringan. Luka tersebut memacu stres dan menyebabkan peningkatan aktivitas PAL yang diikuti oleh produksi fenilpropanoid dan menyebabkan pencoklatan.

Penanggulangan browning pada jaringan khususnya pada eksplan yang baru diisolasi dan pada media tumbuh yang digunakan dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu cara dari beberapa pendekatan,yaitu: menghilangkan senyawa fenol, modifikasi potensial redoks, penghambatan aktivasi enzim fenol oksidase, penurunan aktivitas fenolase dan ketersediaan substrat (Hutami, 2008).

Pengaruh besar atau kecilnya konsentrasi zat pengatur tumbuh yang akan diaplikasikan ke media juga dapat mempengaruhi jumlah eksplan yang akan mengalami browning. Hal ini sejalan dengan pendapat Ahmad *et al.* (1995) waktu yang dibutuhkan untuk pencoklatan dipengaruhi oleh konsentrasi dan kombinasi zat pengatur tumbuh dalam media induksi.

Dalam penelitian ini, browning diduga terjadi karena pengaruh oleh konsentrasi zat pengaruh tumbuh. Melalui data dapat dilihat bahwa browning

tertinggi terjadi pada perlakuan M₃ dan M₄ dengan konsentrasi 30ppm dan 40ppm. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka dapat menyebabkan media menjadi bersifat toksik ketanaman. Pada kultur jaringan, pemberian hormon atau zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media akan menentukan arah perkembangan suatu kultur (Lin, 2003). Dengan adanya rangsangan dari zat pengatur tumbuh endogen atau zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (eksogen), metabolisme sel yang tidak aktif berubah menjadi aktif (Marini dan Magri, 2003).

Di dalam kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman (Gaba, 2005). Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masingmasing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004).

Zat pengatur tumbuh giberalin yang digunakan pada penilitian ini cukup mempengaruhi perkembangan dari eksplan anggur. Akibat pemberian giberalin tersebut terjadi beberapa perubahan bentuk pada eksplan akibat adanya perangsangan dan efek dari pemberian hormon dalam hal ini perubahan tersebut dikatakan sebagai tahap perkembangan. Adapun tahapan perkembangan yang terjadi pada eksplan dalam penelitian ini yakni dimulai dengan terjadinya pembengkakan.

GA3 telah dilaporkan berguna untuk regenerasi tunas in vitro (Chakraborty *et al.*, 2000), promosi pertumbuhan, produksi biomassa dan panjang serat xilem (Ericksson *et al.*, 2000). Selanjutnya, GA3 dapat berperan sebagai pengganti auksin pada induksi pucuk dan dengan demikian rasio sitokinin-GA3 sangat menentukan diferensiasi jaringan tanaman tertentu (Sekioka dan Tanaka 1981).MS yang dilengkapi dengan GA3 tidak dapat memberikan pengaruh promotif terhadap jumlah tunas rata-rata yang diinduksi per eksplan dan perkembangan tunas berikutnya dari tunas apikal dan aksilaris keduanya pada konsentrasi rendah dan tinggi. Namun, terjadi peningkatan panjang tunas rata-rata pada peningkatan konsentrasi GA3. Hasil serupa diperoleh di Tylophora indica (Rani dan Rana 2010). GA3 telah dilaporkan kondusif untuk regenerasi tunas in vitro (Chakraborty *et al.*, 2000), promosi pertumbuhan, produksi biomassa dan panjang serat xilem (Ericksson *et al.*, 2000). Selanjutnya, GA3 dapat berperan sebagai pengganti auksin pada induksi pucuk dan dengan demikian rasio sitokinin-GA3 sangat menentukan diferensiasi jaringan tanaman tertentu (Sekioka dan Tanaka 1981).

Peran giberelin pada pemanjangan sel melalui 2 cara yaitu : (1) Peningkatan kadar auksin. Giberelin akan memacu pembentukan enzim yang melunakkan dinding sel terutama enzim proteolitik yang akan melepaskan aminotriptofan (prekursor auksin) sehingga kadar auksin meningkat. Giberelin merangsang pembentukan polihidroksi asam sinamat yaitu senyawa yang menghambat kerja dari enzim asam indil asetat (iodoacetic acid,IAA) oksidase dimana enzim ini merupakan enzim

perusak auksin. (2) Giberelin merangsang terbentuknya enzim α -amilase dimana enzim ini akan menghidrolisis pati sehingga kadar gula dalam sel akan naik yang akan menyebabkan air lebih banyak lagi masuk ke sel sehingga sel memanjang (Revis dan Ubaidillah, 2012). Pembengkakan sel dipengaruhi oleh penyerapan air yang mengakibatkan dinding sel mengendur dan membesar, sehingga ukuran eksplan membesar. Hal ini juga didukung dengan pernyataan Zivand (2006) yang menyatakan bahwa agar sel terus tumbuh membesar, maka penyerapan air harus berlangsung terus menerus.

Pengenduran dinding sel sangat dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh/hormon yang diberikan sesuai dengan fungsinya masing-masing. Setiap sel mempunyai kepekatan tersendiri terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan, selain itu waktu yang dibutuhkan setiap sel untuk melakukan pembelahan tidak sama, karena sel yang berbeda mungkin saja memiliki siklus sel yang berbeda.

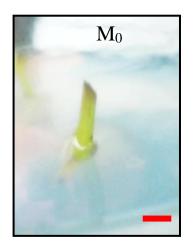
Pembengkakan yang terjadi pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan awal akibat penyerapan air dan nutrisi dari media yang selanjutnya disertai dengan tahapan perbanyakan sel. Proses ini sesuai dengan pernyataan Santoso (2001), bahwa sel tumbuhan memiliki kemampuan untuk menyerap air dan unsur hara sehingga menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran dan jumlah sel yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya pembengkakan jaringan.

Eksplan yang membengkak akan memunculkan bakal tunas. Pada penelitian ini ekplan yang mengalami proses pembengkakan tercepat terjadi pada perlakuan M2 dengan pemberian konsentrasi Giberalin sebesar 20ppm. Hal ini kemungkinan terjadi karena pada perlakuan tersebut zat pengatur tumbuh yang diberikan memberikan respon terbaik. Setelah pembengkakan terjadi biasanya akan memunculkan tunas baru. Seiring perkembangannya tunas tersebut akan memunculkan daun segar. Tahapan perkembangan eksplan mulai dari saat awal penanaman, kemudian terjadinya pembengkakan pada eksplan dan saat muncul tunas dan saat muncul daun. Hal tersebut terjadi karena eksplan tunas muda yang dipakai bersifat meristematik. Yusnita (2004), menyatakan bahwa jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sehingga selnya masih aktif membelah.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa masing-masing eksplan memberikan respon yang berbeda-beda meskipun konsentrasi dan jenis zat pengatur tumbuh yang diberikan sama. Bahkan beberapa eksplan memberikan respon yang berbeda dari yang diharapkan secara teori. Zulkarnain (2011) juga menyatakan bahwa kondisi fisiologis eksplan memiliki peranan penting bagi keberhasilan teknik kultur jaringan. Kondisi fisiologis dari suatu tanaman bervariasi secara alami, sejalan dengan pertumbuhan tanaman yang melewati fase-fase yang berbeda dan perubahan kondisi lingkungan. Suatu respon pertumbuhan tertentu di dalam sistem kultur jaringan adalah sebagai hasil interaksi antara kondisi fisiologis bersih dari tanaman bersangkutan akibat pengaruh kondisi internal dan eksternal (Abbas, 2011).

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa tidak semua eksplan tunas anggur yang mampu membentuk tunas dan daun. Perlakuan M_2 dan M_3 merupakan perlakuan dengan presentase membengkak, bertunas dan berdaun tertinggi yakni 13% dan 6,6%.

Perlakuan tersebut juga yang berhasil hingga menumbuhkan daun berbentuk utuh dan hijau segar. Sedangkan perlakuan dengan presentase dan perkembangan terbaik yakni perlakuan M₂ dengan pemberian GA3 sebesar 20ppm. Hal ini sejalan dengan penelitian Basri (2004) disimpulkan Pertumbuhan anggrek Vanda lebih sesuai pada komposisi media VW yang ditambahkan 20 ppm giberelin dan 250 mL air kelapa per liter media dengan rata-rata tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daundan jumlah akar yang terbentuk masing-masing 1,82 cm, 2,55 tunas, 2,00 helai daun dan 2,25 helai akar per planlet.











Keterangan: M₀=0ppm, M₁=10ppm, M₂=20ppm, M₃=30ppm, M₄=40ppm

Gambar 1 Perkembangan eksplan tunas anggur pada berbagai perlakuan konsentrasi GA3 6 MST ;Skala=1cm

Penelitian ini cukup berpengaruh terhadap perkembangan tunas anggur dengan perlakuan M_2 apabila dilihat dari keseluruhan hasil presentase. Namun tidak berpengaruh cukup baik pada perlakuan yang lain dikarenakan banyak faktor penyebab terganggunya perkembangan eksplan. Meskipun demikian, penelitian ini sudah memberikan informasi berharga untuk penelitian selanjutnya dalam kultur jaringan tunas anggur.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

- 1. Pada penelitian ini pengaruh pemberian GA3 terbaik terhadap perkembangan tunas anggur terjadi pada perlakuan M₂ dengan konsentrasi 20 ppm dengan presentase bertunas dan berdaun tertinggi yaitu 33,35% dan 13%.
- 2. Media yang berhasil sampai menumbuhkan daun hanya pada media perlakuan M_2 (GA3 20 ppm) dan M_3 (GA3 30 ppm).

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut:

- 1. Media MS dengan penambahan 20 ppm GA3 dapat disarankan untuk perbanyakan tanaman anggur melalui organogenesis secara langsung dengan eksplan berupa irisan buku dari tunas lateral.
- 2. Perlu dilakukan rangkaian ulang untuk proses sterilisasi eksplan.

Daftar Pustaka

Ahmad Z., A. Hussain, N. Zaidi, Z. Iqbal, and F.H. Shah.1995. A study of relationship between growth regulators and browning in Pistacia vera Calli. Plant Tiss. Cult. 5(2):125-129.

Basri, Z., 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Tadulako Press, Palu.

Chakraborty D, Mandal AKA, Datta SK. Retrieval of new coloured *chrysanthemum* through organogenesis from Sectorial chimera. Curr Sci. 2000;789:1060–1061.

Dwiyani R. 2010. Improvement of Genetic Transformation Efficiency in Vanda Tricolor Orchid Using Acetocyringone, 14(25):27-32

Dwiyani, R.2015. Kultur Jaringan Tanaman. Pelawa Sari (75):65-66

Ericksson ME, Israelsson M, Olssono O, Moritz T. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylene fiber length. Nat Biotechnol. 2000;18:784–788. doi: 10.1038/77355.

Gaba, V.P. 2005. Plant Growth Regulator. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) Plant Tissue Culture and Development. CRC Press. London. p. 87-100.

Gardner, F. P., R. B. Pearce, R. L. Mitchell. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya.

Hutami, S. 2006. Penggunaan arang aktif dalam kultur in vitro. Berita Biologi 8(1):83-89.

- Leifert C & AC Cassells (2001). Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 37, 133-138.
- Lin CS, Chen CT, Lin CC, Chang WC. A method for inflorescence proliferation. Plant Cell Rep. 2003;21:838–843.
- Marini F, Magrì AL, Marini D, Balestrieri F. Characterization of the lipid fraction of Niger seeds (*Guizotia abyssinica* Cass.) from different regions of Ethiopia and India and chemometric authentication of their geographical origin. Eur J Lipid Sci Technol. 2003;105:697–704. doi: 10.1002/ejlt.200300797.
- Murashige, T. dan Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum. dalam Zulkarnain, 2009. Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya. Bumi Aksara, Jakarta.
- Prihatman, K. 2000. Budidaya Pertanian: Anggur. Sistem Informasi Pembangunan di Pedesaan, BAPPENAS. Pustaka Mina. Jakarta.
- Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, and M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic and biotechnology efects of growth regulators on in vitro plant regeneration. Crop Sci. 44:1839-1846.
- Sekioka TA, Tanaka JS. Differentiation in callus culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.) Hortic Sci. 1981;16:451.
- Sumarsono, H. 2008. Berkebun 21 jenis Tanamana Buah. Penebar Swadaya. Jakarta. Soemarsono, R.S, B. Nusantoro dan A. Suryadi. 1995. Perbandingan keuntungan usahatani anggur pada beberapa varietas unggul. Laporan Sub Balithorti. Malang.
- Tabiyeh, D.T., F. Bernard, and H. Shacker. 2006. Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in Pistacia vera shoot tips culture. ISHS Acta Hort. 726. 201-204
- Yusnita., 2004. Kultur Jaringan. Agromedi. Pustaka. Jakarta