



Pengaruh 6-Benzilaminopurin (BAP) terhadap Induksi Tunas dari Nodus anggrek *Dendrobium mussauense* melalui teknik Thin Cell Layer (TCL)

Effect of 6-Benzilaminopurine (BAP) on Shoot Induction from Node of *Dendrobium mussauense* orchid through Thin Cell Layer Technique (TCL)

Media & Zozy Aneloi Noli *

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang

SUBMISSION TRACK	ABSTRACT
Submitted : 2023-12-11 Revised : 2024-02-18 Accepted : 2024-02-21 Published : 2024-04-22	<i>Dendrobium mussauense</i> has attractive flowers and potential as a parent of a hybrid orchid. <i>D. mussauense</i> is an orchid species listed as vulnerable in IUCN. Clonal propagation is an important biotechnological tool for the conservation of orchids. Thin cell layer (TCL) is a micropropagation method using thin-sized explants that facilitate the diffusion of nutrients to tissues. TCL producing shoot regeneration was better than conventional in vitro techniques. The success of the TCL technique to induce shoot is influenced by cytokinin such as BAP. This study examined induction shoot through two explant cutting techniques, namely TCL and non-TCL explant, at various concentrations of BAP. The non-TCL explant was more effective than the TCL explant in inducing the shoot of <i>D. mussauense</i> . The half-strength Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.9 mg.L ⁻¹ BAP was a suitable concentration to induce the shoot of <i>D. mussauense</i> through non-TCL explant. The average shoot length was 1,8 cm, and the average number of shoots was 5/explant. To increase the success of the TCL technique, it is necessary to try the use of various cytokinins and various types of explant.
KEYWORDS	
BAP, <i>Dendrobium mussauense</i> , In vitro, Nodus, Tunas	
*CORRESPONDENCE	
email: zozynoli@sci.unand.ac.id	

PENDAHULUAN

Dendrobium mussauense merupakan anggrek epifit yang memiliki bunga berwarna krem dengan venasi keunguan pada *labellum* (Puccio, 2022). Anggrek ini termasuk ke dalam *section spatulata* atau *section cerotobium*. *Section spatulata* memiliki bunga yang bervariasi, indah, dan tahan lama sehingga lebih menarik dibandingkan *section* lainnya. Hal tersebut mengakibatkan *section spatulata* memiliki nilai jual yang tinggi (Yam dan Lee 2013). *Section spatulata* memiliki bunga dengan tipe Antelope yang terdiri dari sepal dan petal yang cenderung melintir (Hidayati *et al.*, 2016). Dalam IUCN anggrek *D. mussauense* termasuk kedalam kategori vulnerable dan masih belum diketahui adanya upaya konservasi terhadap spesies tersebut (IUCN, 2022). Salah satu upaya konservasi yang dapat dilakukan adalah mikropropagasi secara *in vitro*.

Thin cell layer (TCL) merupakan metode perbanyakan menggunakan eksplan yang berukuran tipis (Yulianti *et al.*, 2017).

Perbanyakan melalui teknik TCL lebih efektif karena eksplan yang berukuran tipis sehingga difusi nutrisi ke dalam jaringan eksplan lebih mudah (Agisimanto, 2015). Cetin *et al.*, (2021) menyebutkan bahwa penggunaan teknik TCL lebih prospektif untuk perbanyakan klon. Meskipun demikian mikropropagasi tanaman menggunakan teknik TCL juga memiliki kelemahan seperti terjadinya *browning* yang mengakibatkan eksplan mengalami kematian. Penelitian yang dilakukan oleh Wattanapan *et al.* (2018) menunjukkan bahwa eksplan mengalami *browning* setelah 3 minggu kultur. *Browning* terjadi karena adanya senyawa fenolik yang dihasilkan selama pemotongan eksplan (Kaewubon *et al.*, 2015).

Keberhasilan mikropropagasi anggrek melalui teknik TCL dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (ZPT). ZPT berupa sitokinin menginduksi perkembangan eksplan membentuk kalus embrionik maupun embrio zigotik (Partibhan *et al.*, 2018). Pemberian benzil amino purin (BAP) pada konsentrasi 2 µM efektif dalam menginisiasi *protocorm like bodies* (PLB) dan

perkembangannya membentuk tunas pada anggrek *Brasiliidium forbesii* (Gomes *et al.*, 2015). Penambahan 0,5 mg.L⁻¹ BAP menginduksi pembentukan embrio somatik *Dendrobium aqueum* yang berwarna hijau dengan frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi lainnya. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian sitokinin dalam konsentrasi rendah lebih baik dibandingkan dengan pemberian pada konsentrasi tinggi (Partibhan *et al.*, 2018).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Maret 2023 di Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang dan Laboratorium Robiquetia Garden and Lab, Padang.

Metode Penelitian

Sumber eksplan pada penelitian ini adalah nodus dari planlet anggrek *D. mussauense* yang diperoleh dari Laboratorium Robiquetia Garden and Lab. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah teknik pengambilan eksplan yang terdiri dari teknik TCL dengan ketebalan eksplan 1 mm dan teknik non TCL dengan ketebalan 1 cm. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari:

- a. 0 mg.L⁻¹
- b. 0,1 mg.L⁻¹
- c. 0,5 mg.L⁻¹
- d. 0,9 mg.L⁻¹
- e. 1,3 mg.L⁻¹.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi peralatan kultur

Seluruh peralatan yang digunakan disterilisasi menggunakan oven dan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Peralatan tanam disterilisasi kembali di Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan penyinaran lampu UV selama 2 jam sebelum digunakan.

Pembuatan Media

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah

Murashige dan Skoog (MS) yang ditambah dengan 1g/L pepton untuk setiap perlakuan. 1 liter media MS dibuat dengan menambahkan gula sebanyak 30 g, agar sebanyak 7 g dan arang aktif sebanyak 1 g. Media kultur disterilisasi menggunakan autoklave selama 20 menit pada tekanan 0,165 Mpa dengan suhu 121°C.

Penanaman Eksplan

Planlet anggrek *D. mussauense* yang berumur dua tahun kultur yang terdiri dari 2 nodus digunakan sebagai sumber eksplan. Bagian planlet yang dijadikan sebagai eksplan adalah nodus pertama dan nodus kedua. Eksplan TCL dipotong secara transversal dengan ketebalan 1 mm sementara eksplan non TCL dipotong secara transversal dengan ketebalan 1 cm.

Parameter Penelitian dan Analisis Data

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah persentase eksplan hidup, persentase eksplan *browning*, persentase eksplan membentuk tunas, Jumlah tunas/eksplan, dan panjang tunas. Analisis data persentase eksplan hidup, persentase *browning*, jumlah tunas dan panjang tunas disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase hidup dan persentase *browning* anggrek *Dendrobium mussauense*

Eksplan memiliki persentase hidup yang tinggi pada saat 4 minggu kultur. Pada saat 8 minggu kultur, persentase hidup eksplan mengalami penurunan karena *browning* (Tabel 1). Pelukaan yang disebabkan karena pemotongan eksplan mengakibatkan terjadinya stres sehingga eksplan menghasilkan senyawa fenolik sebagai bentuk pertahanan. Senyawa fenolik akan mengalami oksidasi oleh enzim polifenol oksidase (PPO) membentuk kuinon (Singh, 2018). Quinon yang berikatan dengan protein sel mengakibatkan terjadinya gangguan metabolisme sel sehingga eksplan mengalami kematian (Zhao *et al.*, 2021). Pada penelitian ini persentase hidup eksplan tidak dipengaruhi oleh penambahan BAP, melainkan oleh *browning*. Pada penelitian ini penggunaan arang aktif untuk mencegah terjadinya *browning* masih belum efektif. Persentase hidup tertinggi

setelah 8 minggu kultur terdapat pada eksplan non TCL tanpa penambahan BAP, diikuti penambahan 0,9 mg. L⁻¹ dan 1,3 mg.L⁻¹ BAP (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan kontrol mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan eksplan. Penambahan BAP memberikan pengaruh yang sama dengan perlakuan kontrol terhadap pertumbuhan *Dendrobium* sp. Hal ini dikarenakan eksplan mengandung hormon endogen yang cukup untuk pertumbuhannya (Sakina *et al.*, 2019).

Persentase hidup eksplan merupakan kemampuan eksplan untuk bertahan hidup. Persentase hidup dipengaruhi oleh kemampuan eksplan dalam menyerap nutrisi dan hormon pada media tanam, serta kontaminasi yang mengakibatkan kematian eksplan (Rineksane dan Sukarjan, 2015). Selain itu *browning* juga mempengaruhi persentase hidup eksplan. Hal tersebut disebabkan karena senyawa fenol dapat menghambat penyerapan unsur hara sehingga mengakibatkan eksplan mengalami kematian (Marlin *et al.*, 2012). Eksplan memiliki respon yang berbeda disebabkan karena perbedaan kandungan hormon endogen meskipun dengan penambahan hormon sitokinin dan auksin dalam konsentrasi yang sama (Harahap *et al.*, 2023).

Pada penelitian ini sebagian besar eksplan TCL maupun non TCL mengalami *browning*.

Tabel 1. Persentase hidup eksplan setelah 4 dan 8 minggu kultur dan persentase *browning* anggrek *Dendrobium mussauense* setelah 8 minggu kultur

Perlakuan (mg.L ⁻¹)	Persentase hidup eksplan (%)		Persentase <i>browning</i> (%)
	4 MSK	8 MSK	
TCL, 0 BAP	100	0	100
TCL, 0,1 BAP	100	0	100
TCL, 0,5 BAP	100	0	100
TCL, 0,9 BAP	100	0	100
TCL, 1,3 BAP	100	0	100
Non TCL, 0 BAP	100	66,67	33,33
Non TCL, 0,1 BAP	100	0	100
Non TCL, 0,5 BAP	100	0	100
Non TCL, 0,9 BAP	100	33,33	66,67
Non TCL, 1,3 BAP	100	33,33	66,67

Keterangan: MSK (minggu setelah kultur)

Browning ditandai dengan perubahan warna eksplan menjadi kecoklatan (Handayani *et al.*, 2022). Perubahan warna disebabkan karena terjadinya kerusakan klorofil dan karotenoid (Laukkanen *et al.*, 2002). Kandungan klorofil mempengaruhi laju fotosintesis (Noli *et al.*, 2021). Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah nodus, Bhattacharyya *et al.* (2014) menyebutkan bahwa kandungan fenolik pada batang anggrek *D. nobile* lebih tinggi pada batang dibandingkan daun. Penelitian yang dilakukan oleh Wattanapan *et al.* (2018) juga menunjukkan sebagian besar eksplan TCL mengalami *browning* setelah 3 minggu kultur.

Pemotongan eksplan mengakibatkan terjadinya pelepasan senyawa fenol sebagai bentuk upaya pertahanan. Akumulasi senyawa beracun dapat membunuh sel dan jaringan tanaman (Amente dan Chimdessa, 2021). *Browning* dimediasi oleh sekelompok enzim seperti peroksidase, polifenol oksidase dan L-fenilalanin amonialisase (Li *et al.*, 2015). Substrat dari enzim tersebut adalah senyawa fenolik yang terdapat pada vakuola. Ketika adanya pelukaan jaringan, enzim tersebut akan bereaksi dengan substrat yang mengakibatkan oksidasi senyawa fenolik (Holderbaum *et al.*, 2010).

Pertumbuhan tunas anggrek *Dendrobium mussauense*

Eksplan TCL dan non TCL pada saat 4 minggu kultur mampu menginduksi pembentukan mata tunas. Setelah 8 minggu sebagian besar eksplan mengalami *browning*. Eksplan non TCL membentuk tunas dengan persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan TCL. Hal ini disebabkan karena semua eksplan TCL mengalami *browning*. Persentase pembentukan tunas tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol sementara penambahan BAP pada konsentrasi 0,9 mg.L⁻¹ dapat meningkatkan meningkatkan jumlah dan panjang tunas (Tabel 2). BAP merupakan hormon sitokinin yang dapat menginduksi pembentukan tunas (Akbar *et al.*, 2017). Pada penelitian ini pemberian sitokinin masih belum memberikan pengaruh yang signifikan dalam menginisiasi perbanyak tunas. Hal ini disebabkan karena sebagian besar eksplan yang telah membentuk mata tunas pada saat 4 minggu kultur mengalami *browning* sehingga tidak menunjukkan perkembangan lebih lanjut.. Penelitian yang dilakukan oleh Rineksane *et al.* (2018) menyebutkan bahwa pemberian 0,5 dan 1 mg.L⁻¹ BAP menghasilkan tunas anggrek *Grammatophyllum speciosum* yang lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya. Pemberian 1,3 mg.L⁻¹ BAP menghasilkan jumlah tunas yang

lebih sedikit dibandingkan 0,9 mg.L⁻¹ BAP. Sakina *et al.* (2019) menyebutkan bahwa rendahnya jumlah tunas anggrek *Dendrobium* diduga disebabkan karena ketidakseimbangan hormon endogen dan hormon eksogen. Penambahan hormon eksogen dalam jumlah yang tidak tepat dapat menghambat pertumbuhan tanaman (Kartiman *et al.*, 2018).

Hormon merupakan stimulator yang dapat mempercepat pengangkutan protein ke nukleus. Dengan demikian dapat mempersingkat waktu yang dibutuhkan oleh sel untuk menyelesaikan siklusnya. Penambahan hormon meningkatkan laju pembelahan sel, sehingga inisiasi siklus pembelahan sel terjadi lebih awal dibandingkan perlakuan kontrol. Hormon merangsang aktivitas DNA polimerase yang berperan dalam replikasi DNA selama siklus sel. Meningkatnya laju pembelahan sel menunjukkan penambahan hormon dapat meningkatkan aktivitas mitosis dibandingkan kontrol (Kamal *et al.*, 2021). Sitokinin berperan dalam pembelahan sel dan regenerasi kalus (Jameson dan Song, 2016). Sitokinin mengaktifkan enzim fosfatase yang menyebabkan pelepasan fosfat dari protein CDK (*cyclin dependent kinase*). Protein CDK yang hanya terdiri dari satu fosfat akan aktif dan menginduksi sel untuk memasuki fase mitosis (Schaller *et al.*, 2014).

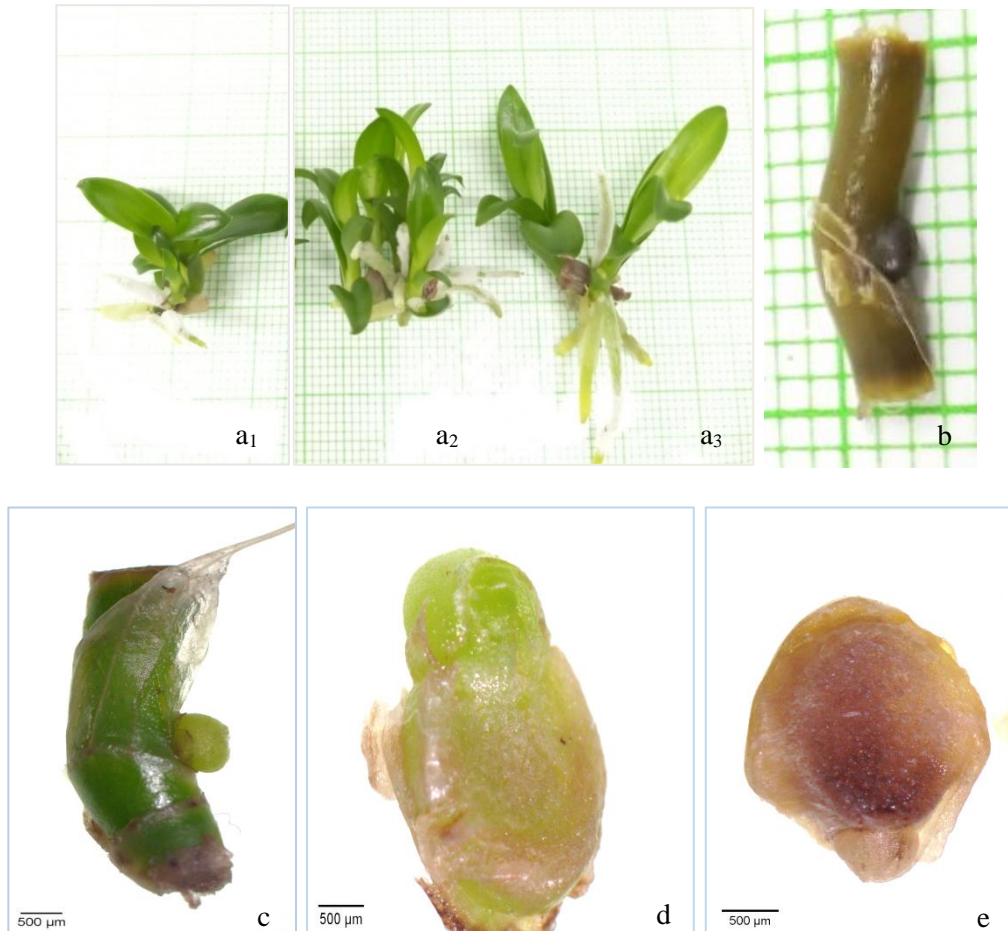
Tabel 2. Pengaruh beberapa konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tunas anggrek *Dendrobium mussauense* setelah 4 dan 8 minggu kultur

Perlakuan (mg.L ⁻¹)	Persentase terbentuk bakal tunas (%) (4 MSK)	8 MSK		
		Persentase terbentuk bakal tunas (%)	Jumlah tunas	Panjang tunas (cm)
TCL, 0 BAP	0	0	0	0
TCL, 0,1 BAP	33,33	0	0	0
TCL, 0,5 BAP	33,33	0	0	0
TCL, 0,9 BAP	33,33	0	0	0
TCL, 1,3 BAP	33,33	0	0	0
Non TCL, 0 BAP	100	66,67	3,5	1,6
Non TCL 0,1 BAP	100	0	0	0
Non TCL, 0,5 BAP	100	0	0	0
Non TCL, 0,9 BAP	100	33,33	5	1,8
Non TCL, 1,3 BAP	100	3333	3	1,8

Keterangan: MSK (minggu setelah kultur)

Gambar 1. merupakan respon anggrek *D. mussauense* yang diperbanyak melalui teknik TCL dan non TCL dengan penambahan beberapa konsentrasi BAP. Eksplan non TCL pada perlakuan kontrol dan penambahan BAP mampu menginduksi bakal tunas pada saat 4 minggu kultur. Setelah 4 minggu kultur sebagian besar eksplan mengalami *browning*. *Browning* mengakibatkan terjadinya penurunan persentase terbentuknya tunas. Perkembangan tunas

membentuk plantlet hanya terjadi pada eksplan yang tidak mengalami *browning* yaitu pada perlakuan kontrol, 0,9 mg.L⁻¹ BAP dan 1,3 mg.L⁻¹ BAP. Jumlah tunas terbanyak dan tertinggi terdapat pada perlakuan 0,9 mg.L⁻¹ BAP. Eksplan TCL dalam 4 minggu penanaman mampu menginduksi bakal tunas. Setelah 4 minggu eksplan mengalami *browning* yang mengakibatkan kematian eksplan.



Gambar 1. Respon anggrek *Dendrobium mussauense*. a. Membentuk plantlet (a₁: non TCL 0 mg.L⁻¹ BAP), (a₂: non TCL 0,9 mg.L⁻¹ BAP), (a₃: non TCL 1,3 mg.L⁻¹ BAP), b. *browning* (non TCL 0,1 mg.L⁻¹), c. Terbentuknya bakal tunas (non TCL 1,3 mg.L⁻¹ BAP pada saat 1 bulan kultur), d. Terbentuknya bakal tunas (TCL 1,3 mg.L⁻¹ BAP saat 1 bulan kultur, e. *browning* (TCL 1,3 mg.L⁻¹ BAP pada saat 2 bulan kultur). (c,d,e perbesaran 0,67).

KESIMPULAN

Penggunaan teknik non TCL dalam pemotongan eksplan lebih efisien untuk menginduksi tunas anggrek *D. mussauense* dibandingkan dengan teknik TCL. Pemberian 0,9 mg.L⁻¹ BAP dapat meningkatkan jumlah dan panjang tunas anggrek *D. Mussauense*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Andalas yang telah mendukung selama pelaksanaan hingga keberhasilan penyelesaian dari penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D. 2015. *Thin Cell Layer* Mempercepat Pembuatan Populasi Genotip Unggul. Hortikultura. *Iptek Hortikultura* 11: 67-72.
- Akbar, M. A., E. Faridah., S. Indrioko dan T. Herawan. 2017. Induksi Tunas, multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke secara *in vitro*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 11(1):1-13.
- Amente, G dan E. Chimdessa. 2021. Control of browning in plant tissue culture: A review. *Journal of Scientific Agriculture* 5: 67-71.
- Bhattacharyya, P., P. Paul., S. Kumaria dan P. Tandon. 2018. Transverse Thin Cell Layer (t-TCL) Mediated Improved Micropropagation Protocol for Endangered Medicinal Orchid *Dendrobium aphyllum* Roxb: an Integrated Phytomolecular Approach. *Acta Physiologiae Plantarum* 40(8):137-150.
- Cetin, N., B Guler dan A. Gurel. 2021. In Vitro Regeneration Potential of Thin Cell Layer Explants of Lentisk (*Pistacia lentiscus* var. Chia) Plant. *Bilecik Seyh Edebali Universitesi Fen Bilimleri Dergisi* 8(2): 960-977.
- Gomes, L. R. P., C. D. R. B. Franceschi dan L. L. F Ribas. 2015. Micropropagation of *Brasiliidium forbesii* (Orchidaceae) through Transverse and Longitudinal Thin Cell Layer Culture. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 37(2): 143-149.
- Handayani E., M. B. Irsyadi., R. L. M. N Alawiyah dan I. Aris. 2022. Effect of Explants Sterilization and Plant Growth Regulators on Embryo Culture of Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *International Conference on Sustainable Agriculture*
- Harahap, F., I. Hariyadi., M. Silitonga., C. Suryani., S. Edi dan A. P. Ningsih. 2023. In vitro Growth of *Cattleya* sp Orchid from Leaf Explants with Growth Regulators. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus* 9(1): 192-200.
- Hidayati, N. Z., D. Saptadi dan L. Soetopo. 2016. Analisis Hubungan Kekerabatan 20 Spesies Anggrek *Dendrobium* Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal Produksi Tanaman* 4 (4) 291-297.
- Holderbaum, D. F., T. Kon., T. Kudo dan M.P. Guerra. 2010. Enzymatic browning, polyphenol oxidase activity, and polyphenols in four apple culti vars: Dynamics during fruit development. *Horticultural Science* 45(8):1150- 1154.
- IUCN 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org>
- Jameson, P.E dan J. Song. 2016. Cytokinin: A keydriver of seed yield. *Journal of Experimental Botany* 67(3): 593-606.
- Kaewubon, P., N. Hutadilok-Towatana., J. A. Teixeira da Silva dan U. Meesawat. 2015. Ultrastructural and Biochemical Alterations During Browning of Pigeon Orchid (*Dendrobium crumenatum* Swartz) Callus. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 121(1): 53-69.
- Kamal, M.I., K. A. Zaied., M. K. Hussein dan A. H. A. Hady. 2021. Cytogenetic effects of Naphthalene Acetic Acid and Benzylaminopurine in Meristematic Cells of Onion Roots. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 12(1):11-24.
- Kartiman, R., D. Sukma., S. I. Aisyah dan A. Purwito. 2018. Multiplikasi invitro anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* lindl.) pada Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* (JBBI) 5(1): 75-87.
- Laukkanen, H., H. Häggman., S. Kontunen-Soppela dan A. Hohtola. 2002. Tissue browning of in vitro cultures of Scots pine: role of peroxidase and polyphenol oxidase. *Physiologia Plantarum* 106(3): 337:343.
- Li, Y., X. Wang., J. Chen., N. Cai., H. Zeng., Z. Qiao dan X. Wang. 2015. A method for micropropagation of *Cornus wilsoniana*: An important biofuel plant. *Industrial Crops and Products* 76:49-54.
- Marlin, M., Y. Yulian dan H. Hermansyah. 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang Curup dengan Penambahan Sukrosa, BAP, dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor* 11(2): 275-283
- Noli, Z.A., S. Suwirman., I. Izmiarti., R. Oktavia dan P. Aliyanti. 2021. Respon Padi Gogo (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Pemberian Biostimulan Dari Ekstrak Rumpuk Laut *Padina minor*. *Bioscientist* 9(2): 412-419.
- Parthibhan, S., M. V. Rao., J. A. Teixeira da Silva dan T. S. Kumar. 2018. Somatic Embryogenesis from Stem Thin Cell Layers of *Dendrobium aqueum*. *Biologia Plantarum* 62(3): 439-450.
- Puccio, P. 2022. *Dendrobium mussauense* <https://www.monaconatureencyclopedia.com/dendrobium-mussauense2/?lang=en> 20 Desember 2022.
- Rineksane, I. A., dan M. Sukarjan. 2015. Regenerasi Anggrek Vanda tricolor Pasca Erupsi Merapi Melalui Kultur *In Vitro*. Seminar Nasional. Universitas PGRI. Yogyakarta. Pp: 378-384.
- Rineksane, I. A., S. S. Nafi'ah dan S. S. Dewi. 2018. The Combination of Rice Water and BAP Enhances the Multiplication of *Grammatophyllum speciosum*. *Journal of Agro Science*, 6(2): 92-99.
- Sakina, S., S. Anwar dan F. Kusmiyati. 2019. In vitro *Dendrobium* orchid (*Dendrobium* sp.) plantlet

- growth in different concentration of BAP and NAA. *Jurnal Pertanian Tropik* 6(3): 430-437.
- Schaller, G. E., I. H. Street dan J. J. Kieber. 2014. "Cytokinin and the cell cycle." *Current opinion in plant biology* 21: 7 - 15.
- Singh, C. R. 2018. Review on problems and its remedy in plant tissue culture. *Asian Journal of Biological Sciences* 11(4): 165–172.
- Wattanapan N., C. Nualsri dan U. Meesawat. 2018. In Vitro Propagation through Transverse Thin Cell Layer (tTCL) Culture System of Lady's Slipper Orchid: *Paphiopedilum callosum* var. *sublaeve*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 40(2): 306-313.
- Yam, T.W dan Lee, Y.I. 2013. Chromosome pairing behaviour in the interspecific hybrids of *Dendrobium* section *Spatulata*. *Acta Horticulturae* 977: 109–113.
- Yulianti, F., H. Arisah dan D. Agisimanto. 2017. Pengujian Stabilitas Genetik Planlet Citrumelo Hasil TCL dari Kultur *In Vitro* dengan Menggunakan Teknik Sekuen Berulang. *Jurnal Hortikultura* 27(2):165-172.
- Zhao, S., H. Wang., K. Liu., L. Li., J. Yang., X. An., P. Li., L. Yun dan Z. Zhang. 2021. The role of JrPPOs in the browning of walnut explants. *Plant Biology* 21(9):1-12