

Morfogenesis Anggrek *Dendrobium* ‘Gradita 31’ dengan Penggunaan Benzyladenine atau Thidiazuron

(Morphogenesis of *Dendrobium* ‘Gradita 31’ Orchid Using Benzyladenine or Thidiazuron)

Rahmadyah Hamiranti^{1*}, Nanang Wahyu Prajaka¹,
Yeni¹, Lisa Erfa¹ dan Desi Maulida¹

¹Jurusan Budidaya Tanaman Pangan, Politeknik Negeri Lampung, Jl. Soekarno-Hatta No. 10, Rajabasa Raya, Kec Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141, Indonesia

*Penulis untuk korespondensi. e-mail: rahmahamiranti@polinela.ac.id

ABSTRACT

Dendrobium Gradita 31 has superior characteristics that are in demand by the market in Indonesia, so seeds with sameness quality, the same characteristics as the parent and in large quantities are needed. Tissue culture is one solution to support the availability of seeds in large quantities and have a high level of sameness quality. The process of regulating the type of ZPT and concentration in the culture media does not always produce the same regeneration pathway. This research aims to determine the regeneration pathway and to obtain the best type and concentration of cytokinin to support its regeneration pathway. This study used a completely randomized design with 3 replications. The first factor is the type of cytokinin, BA and Tdz. The second factor is the concentration of Benzyladenine and Thidiazuron, 1, 2 and 3 mg/l. The data was analyzed using analysis of variance, and mean value was tested using tukey test 5%. The results of this study indicate that the regeneration pathway in the formation of adventitious shoots was indirect embryogenesis. The use of Tdz 3 mg/l was able to produce the highest percentage of somatic embryo formation and the highest number of somatic embryos. The fastest shoot formation time, shoot formation percentage and the highest number of shoots per clump were found BA 2 mg/l.

Keywords: *Dendrobium*, BA, Tdz

Disubmit : 30 November 2023; **Diterima:** 30 November 2023 **Disetujui :** 27 Desember 2023

PENDAHULUAN

Dendrobium merupakan salah satu anggrek yang populer dikancah florikultur internasional sebagai bunga hias dan bunga potong, karena warna, bentuk yang beranekaragam, serta durasi waktu bunga yang lama (Arobaya *et al.*, 2022; Pyati, 2022; Kuehnle, 2007). *Dendrobium* sebagai salah satu anggrek epifit, di Indonesia terdiri dari 275 spesies, dibudidayakan secara luas, dan permintaan pasar yang tinggi menjadikan anggrek ini salah satu komoditas bunga ekspor yang penting karena mencapai 34% dari total produksi anggrek Indonesia (Rachmawati *et al.*, 2015; Juswara *et al.*, 2016).

Dendrobium ‘Gradita 31’ memiliki bunga yang didominasi dengan warna ungu, hampir mirip dengan induk betinanya yaitu *Dendrobium* Sonia. Keunggulan dari varietas

ini adalah memiliki tangkai bunga yang panjang dan jumlah kuntum bunga yang banyak. Satu tangkai bunga bisa menghasilkan 8-10 kuntum bunga. Jumlah tangkai bunga per pseudobulb 2-3 tangkai, sehingga total kuntum bunga mencapai 16-30 buah. Selain itu anggrek ini dapat beradaptasi dengan baik di dataran rendah sampai tinggi dengan ketinggian 150-1.100 m dpl (Lampiran Surat Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia, Direktur Jenderal Hortikultura, Hasanuddin Ibrahim, 2011).

Karakter-karakter unggul yang dimiliki anggrek ini menjadi alasan tingginya minat konsumen, sehingga diperlukan bibit dengan kualitas seragam, sifat yang sama dengan induknya dan dalam jumlah yang banyak. Untuk memenuhi kebutuhan pasar perbanyak secara konvensional tidak cukup efektif, karena *Dendrobium* jenis ini hanya mampu menghasilkan anakan sebanyak 2 anakan per tahun. Sedangkan jika diperbanyak melalui biji tingkat keseragaman karakter-karakter unggul akan rendah.

Kultur jaringan merupakan salah satu solusi dalam menunjang ketersediaan bibit dalam jumlah besar dan memiliki tingkat keseragaman yang tinggi. Kultur jaringan merupakan metode menumbuh-kembangkan bagian kecil dari tanaman (misalnya daun, akar, atau mata tunas) secara *in vitro* dan aseptik dengan keadaan lingkungan yang terkontrol baik secara fisik maupun kimia. Hampir semua sel pada tanaman kompeten dalam membentuk individu baru. Sehingga bagian apapun dari tanaman, dengan regulasi tertentu dalam pengaturan perbandingan zpt dapat dijadikan sebagai eksplan (Yusnita, 2015; Hapsoro dan Yusnita, 2018). Hal ini dikarenakan sel-sel pada tanaman memiliki kemampuan yang disebut dengan totipotensi sel. Totipotensi sel merupakan kemampuan suatu sel atau protoplas pada tanaman untuk menjadi sebuah individu baru yang dapat membentuk tanaman yang lengkap (Toonen *et al.*, 1994).

Proses pengaturan jenis zpt dan konsentrasi di dalam media kultur tidak selalu menghasilkan pola regenerasi yang sama oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui pola regenerasi yang dialami serta untuk mendapatkan jenis dan konsentrasi sitokinin yang terbaik dalam mendukung pola regenerasi yang didapatkan.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya dalam optimasi penggunaan media dan penentuan zpt yang tepat dalam regenerasi *Dendrobium* 'Gradita 31' (Hamiranti *et al.*, 2023). Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Oktober 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Tanaman Pangan, Politeknik Negeri Lampung.

Sumber Eksplan

Sumber eksplan diperoleh dari Balai Tanaman Hias berupa *seedling* anggrek *Dendrobium* 'Gradita 31' berumur 3 bulan. *Seedling* tersebut kemudian diambil bagian potongan *basal part* dengan ukuran ± 2 cm dengan tidak memotong bagian titik tumbuh yang dekat dengan akar. Bagian inilah yang dijadikan sebagai eksplan yang diuji dalam penelitian ini.

Persiapan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penanaman adalah pinset, *scalpel*, pisau *blade*, LAFC, lampu Bunsen, hand sprayer, botol kultur dan cawan petri. Sebelum digunakan untuk penanaman. pinset, *scalpel*, kapas, dan petridis disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,2 kg/cm² selama 30 menit. Botol kultur, *beaker glass*, gelas

ukur dan erlenmeyer juga disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,2 kg/cm² selama 60 menit.

Persiapan Media

Pada penelitian sebelumnya media dasar yang disarankan untuk digunakan kembali pada regenerasi anggrek ini adalah ½ MS (Hamiranti *et al.*, 2023). Media dasar ½ MS adalah media Murashige dan Skoog (1962) yang dimodifikasi dari konsentrasi unsur hara makro menjadi setengahnya. Kemudian media dasar ini diperkaya dengan thiamine-HCL (0,1 mg/l), asam nikotinat (0,5 mg/l), piridoksin-HCL (0,5 mg/l) dan mio inositol (100 mg/l). Bahan lain yang ditambahkan adalah sukrosa 30 g/l, NAA 0,5 mg/l, peptone 2 g/L, asam askorbat 200 mg/l dan asam sitrat 150 mg/l. Selanjutnya ZPT (Benziladenin atau Thidiazuron) ditambahkan ke dalam larutan sesuai dengan perlakuan. Kemudian mengatur pH menjadi 5,8. Penambahan KOH 1 N dilakukan jika pH awal yang tertera kurang dari 5,8, sebaliknya jika pH awal lebih dari 5,8 maka diberi HCL 1 N. Setelah mengatur pH menjadi 5,8 kemudian media dimasak dengan penambahan 7 g/l bubuk agar-agar hingga mendidih lalu media dituangkan ke dalam botol-botol kultur sebanyak 20 ml per botol. Botol yang sudah berisi media kemudian ditutup dengan plastik bening, diikat dengan karet dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,2 kg/cm² selama 15 menit.

Penanaman Eksplan dan Ruang Kultur

Eksplan ditanam dalam keadaan aseptik di dalam ruang transfer dengan menggunakan LAFC. Posisi penanaman eksplan diletakkan secara horizontal dan di atas permukaan media kultur. Pengulturan eksplan dilakukan di dalam ruang kultur tanpa cahaya dengan suhu 20°C ± 2°C sampai muncul calon tunas, kemudian dipindahkan ke ruang kultur dengan pencahayaan lampu. Kegiatan subkultur dilakukan setiap 4 minggu sekali pada media kultur yang sama.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan yang disusun secara faktorial (2x3). Faktor pertama adalah jenis sitokinin yaitu BA dan Tdz. Faktor kedua adalah konsentrasi Benziladenin (BA) dan Thidiazuron (Tdz) yaitu 1, 2 dan 3 mg/l. Setiap unit percobaan terdiri dari 4 botol kultur yang masing-masing berisi 2 eksplan. Variabel pengamatan yaitu persentase pembentukan embrio somatik, jumlah ES per eksplan, waktu muncul tunas (minggu setelah tanam-MST), persentase pembentukan tunas dan jumlah tunas per *clump*. Data yang diperoleh dari setiap variabel pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam, dan jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, nilai tengah perlakuan diuji dengan uji BNJ 5%. Analisis ragam dan uji lanjut diolah dengan aplikasi *Statistical Tool for Agricultural Research* (STAR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan morfologi eksplan mulai terlihat dengan munculnya pembengkakan dengan struktur kompak dan berwarna putih kekuningan pada minggu ke 8-10 setelah tanam. Pembengkakan jaringan ini menjadi pertanda bahwa ada sel-sel kalus yang sedang berkembang. Pada minggu ke 14-16, jaringan yang membengkak mulai membentuk struktur bulat (globular) berwarna putih dan muncul di tepi atas jaringan yang membengkak. Proses fase regenerasi yang terlihat pada penelitian ini juga ditemukan pada penelitian Boldaji, *et al.* (2021), Hardjo, *et al.* (2021), Juntada, *et al.* (2015), Kasi

dan Semiarti (2017), Minh (2019), Naing, *et al.* (2011), Pyati (2019) dan Rachmawati, *et al.* (2019).

Fase embriogenesis somatik tidak langsung pada tanaman monokotil ditandai dengan adanya pembengkakan jaringan yang mengalami dediferensiasi sel menjadi sel kalus. Sel-sel kalus yang kompeten selanjutnya membentuk kalus embriogenik sebagai respon dari zpt yang diberikan. Kumpulan sel-sel embriogenik kemudian membentuk embriosomatik tahap globular ditandai dengan adanya struktur jaringan yang membulat dan selanjutnya memasuki tahap koleoptil dengan bentuk jaringan yang memanjang dan kemudian mulai berubah warna menjadi hijau membentuk tunas (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Hasil analisis ragam (Tabel 1) pada penelitian ini menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi serta interaksi dari kedua perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap semua variabel pengamatan, kecuali waktu bertunas. Pada variabel pengamatan waktu bertunas pemberian BA atau Tdz memberikan pengaruh yang nyata. Kombinasi kedua perlakuan kemudian diuji lanjut dengan menggunakan uji lanjut BNJ 5%. Rekapitulasi hasil uji lanjut BNJ 5% pada semua variabel pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil analisis ragam terhadap semua variabel pengamatan

No.	Variabel Pengamatan	Jenis Sitokinin	Konsentrasi Sitokinin	Interaksi
1	Pembentukan embrio somatik (%)	*	*	*
2	Jumlah embrio somatik	*	*	*
3	Waktu bertunas (MST)	*	tn	tn
4	Pembentukan tunas (%)	*	*	*
5	Jumlah tunas per <i>clump</i>	*	*	*

Tabel 2. Hasil uji lanjut BNJ 5% pada semua variabel pengamatan dengan kombinasi perlakuan jenis dan konsentrasi sitokinin

Kombinasi perlakuan	Pembentukan embrio somatik (%)	Jumlah embrio somatik	Waktu bertunas (MST)	Pembentukan tunas (%)	Jumlah tunas per <i>clump</i>
BA 1 mg/l	46.81 d	28.77 d	19.07 a	43.83 c	12.60 c
BA 2 mg/l	74.43 b	30.09 d	18.62 a	54.08 a	16.27 a
BA 3 mg/l	66.00 c	28.54 d	19.78 a	50.24 b	14.34 b
Tdz1 mg/l	72.50 b	44.21 c	34.39 b	13.91 d	6.15 f
Tdz 2 mg/l	73.33 b	53.24 b	34.67 b	13.69 d	7.28 e
Tdz 3 mg/l	89.17 a	59.74 a	35.78 b	14.04 d	8.39 d

Dari hasil uji lanjut BNJ 5% (Tabel 2), penggunaan Tdz 3 mg/l merupakan kombinasi terbaik pada variabel pengamatan pembentukan embrio somatik dan jumlah embrio. Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian lainnya pada anggrek *Phalaenopsis* (Boldaji, *et al.*, 2021), dan *Dendrobium* (Chung, *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2007). Kemampuan Tdz dalam menginduksi pembentukan dan multiplikasi embrio

somatik diduga karena Tdz mampu menempel pada salah satu sisi *Cytokinin Binding Protein* (CBP) yang terdapat pada membran sel sehingga mampu merang lebih banyak produsi sitokinin endogen, sedangkan BA tidak memiliki sifat ini. Dengan adanya peningkatan sitokinin di dalam sel, pembelahan sel dan morfogenesis jaringan akan lebih cepat dan menghasilkan embrio somatik lebih cepat dan lebih banyak.

Pada variabel pengamatan waktu bertunas yang memiliki pengaruh nyata adalah perlakuan jenis sitokinin, sedangkan konsentrasi dan interaksinya tidak berpengaruh nyata (Tabel 1). Dari hasil uji lanjut BNJ 5%, penggunaan BA menghasilkan tunas tercepat dibandingkan dengan TDZ (Tabel 2). Pada variabel pembentukan tunas kombinasi paling baik didapatkan pada perlakuan BA 2mg/l.

Penggunaan BA mampu mendorong pembelahan sel, mempercepat proses regenerasi hingga mempercepat pembentukan tunas (Al-Saleh *et al.*, 2019). Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian pada anggrek *Dendrobium malones* (Anjum, *et al.*, 2006), *Vanda tessellate* (Bhattacharjee dan Islam, 2017), *Dendrobium* 'Chiengmai Pink' (Chung, *et al.*, 2005) bahwa penggunaan BA mampu mempercepat proses regenerasi dari embrio menjadi tunas.

Dari hasil penelitian jumlah tunas tertinggi didapatkan pada perlakuan kombinasi BA 2 mg/l sejumlah 16,27 tunas. Penggunaan BA juga banyak dilaporkan mampu menghasilkan jumlah tunas paling tinggi jika dibandingkan dengan sitokinin jenis lain pada anggrek *Dendrobium* sp. (Hossen, *et al.*, 2021), *Ansellia africana* (Vasudevan dan Staden, 2011), *Spathoglottis plicata* (Romeida, *et al.*, 2013), *Phalaenopsis* 'Golden Peoker' (Cruz, *et al.*, 2023), *Dryadella zebrina* (dos Santos Anjos, *et al.*, 2021) dan *Moringa oleifera* (Gupta *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pembentukan tunas adventif dari *basal part* *Dendrobium* 'Gradita 31' menunjukkan pola regenerasi embriogenesis tidak langsung. Penggunaan Tdz 3 mg/l mampu menghasilkan persentase pembentukan embrio somatik dan jumlah embrio somatik tertinggi. Penggunaan BA 2 mg/l mampu menghasilkan waktu muncul tunas tercepat, persentase pembentukan tunas dan jumlah tunas per *clump* tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Saleh, M.M., Shibli, R.A., Al-Qadiri, H.M., Tahtamouni, R.W., Darwish, M.M., and Al-Qudah, T.S. 2019. Investigating the antimicrobial potential of in- vitro grown microshoots and callus cultures of *Ammi visnaga* (L.) Lam. *Jordan J of Biol Sci.*12(1):43-48.
- Anjum, S., Zia, M., and Chaudhary, M. F. 2006. Investigations of different strategies for high frequency regeneration of *Dendrobium malones* "Victory." *African Journal of Biotechnology*, 5(19): 1738–1743.
- Arobaya, A.Y.S., Zuhud, E.A.M., Siregar I.Z., and Irawati. 2022. Short Communication: Diversity and distribution of epiphytic orchid *Dendrobium* section *Spatulata* on the host plants in the Cycloop Mountain Nature Reserve of Papua, Indonesia. *Biodiversitas*. 23(4): 2025-2034. DOI:10.13057/biodiv/d230438.
- Bhattacharyya, P., Kumaria, S., Job, N., and Tandon P. 2016. Enmasse production of elite clones of *Dendrobium crepidatum*: A threatened, medical orchid used in Traditional Chinese Medicine (TCM). *J Appl Res Med Aromat Plants*, 3: 168-176.

- Boldaji, H. N., Dylami, S. D., Aliniaiefard, S., and Norouzi, M. 2021. Efficient method for direct embryogenesis in phalaenopsis orchid. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 9(2): 37–50. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.296696.339>.
- Chung, H. H., Chen, J. T. and Chang, W. C. 2005. Cytokinins induce direct somatic embryogenesis of *Dendrobium* 'Chiangmai Pink' and subsequent plant regeneration. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 41: 765-769.
- Chung, H. H., Chen, J. T. and Chang, W. C. 2007. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Dendrobium*. *Biol.Plant*, 51(2): 346-350.
- Cruz, K.Z.C.M., Alencar, A.A.S., Santana, J.G.S., and Alves, L.E.O. 2023. The Auxin and Cytokinin Balance Influence the in Vitro 2 Regeneration of Phalaenopsis Shoots (Orchidaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. t doi: <https://doi.org/10.1101/2023.07.11.548545>.
- dos Santos Anjos, J., Alves Stefanello, C., do Nascimento Vieira, L., Polesi L.G., Guerra, M.P., and de Freitas Fraga, H.P. 2021. The cytokinin 6-Benzylaminopurine improves the formation and development of *Dryadella zebrina* (Orchidaceae) in vitro shoots. *Brazilian Journal of Botany*. 44: 811–819. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00753-5>.
- Gupta, S., Kachhwaha, S., Kothari, S.L., and Jain, R. 2020. Synergistic effect of cytokinins and auxins enables mass clonal multiplication of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.): a wonder. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*. 56: 458–469. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10065-0>
- Hamiranti, R., Yeni, dan Prajaka, N.W. 2023. Regenerasi In Vitro Anggrek *Dendrobium* Melalui Embriogenesis Somatik Dari Eksplan Daun. Laporan Penelitian DIPA Politeknik Negeri Lampung.
- Hapsoro, D. and Yusnita. 2018. *Kultur Jaringan “Teori dan Praktik”*. Andi.Yogyakarta. 167 hlm.
- Popy Hartatie Hardjo, P.H., Savitri, W.D., Artadana, I.B.M. Putra, S.E.D., Parac, E.P., Jan, A. 2021. Callus-mediated Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Vanda tricolor* Lindl. var. *Pallida*. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 14(5): 933-937.
- Hossen, Md.M, Saha, S., Khatun, F., and Yasmin, S. 2022. Effects of plant growth regulators on in vitro growth and development of orchid (*Dendrobium* sp.) from protocorm like bodies (PLBs). *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 19(3): 294-301.
- Juntada, K., Taboonmee, S., Meetum, P., Poomjae, S., and Chiangmai, P.N. 2015. Somatic Embryogenesis Induction from Protocorm-like Bodies and Leaf Segments of *Dendrobium Sonia* “Earsakul.” *Silpakorn U Science & Tech J*, 9(2): 9–19.
- Juswara, L., Schuiteman, A., and Droissart, V. 2016. Four new orchid species from the Lengguru fold belt, West Papua. Indonesia. *Phytokeys*, 61: 47 - 59.

- Kasi, P.D., dan Semiarti, E. 2017. Pengaruh thidiazuron dan naphthaleneacetic acid untuk induksi embriogenesis somatik dari daun anggrek *Phalaenopsis* "Sogo Vivien". *Dinamika*, 7(1):31-40.
- Kuehnle, A.R. 2007. *Orchids: Dendrobium. Flower Breeding and Genetics*. Springer. 20: 539–560.
- Lampiran Surat Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 4985/Kpts/SR.120/12/2011, Direktur Jenderal Hortikultura, Hasanuddin Ibrahim' 2011, p. 4275.
- Minh, V.T. 2019. Micropropagation of *Rhynchostylis Gigantea* Orchid By Somatic Embryogenic Cultures. *CBU International Conference Proceedings*, 7: 969–974. <https://doi.org/10.12955/cbup.v7.1486>.
- Murasnige T., and Skoog F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 15.
- Naing, A.H., Chung, J.D., and Lim, K.B. 2011. Plant Regeneration through Indirect Somatic Embryogenesis in *Coelogyne Cristata* Orchid. *American Journal of Plant Sciences*, 2: 262-267. doi:10.4236/ajps.2011.22028.
- Pyati, A. N. 2022. In vitro Propagation of orchid (*Dendrobium ovatum* (L.) Kraenzl.) through Somatic Embryogenesis. *Plant Tissue Cult. & Biotech*, 32(1): 53-66. DOI: <https://doi.org/10.3329/ptcb.v32i1.60472>.
- Rachmawati, F., Winarto, B., Mattjik, N.A., Wiendi, N.M.A., and Purwito, A. 2015. Shoot tips derived-somatic embryogenesis in mass propagation of *Dendrobium* Indonesia Raya 'Ina'. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(10): 1-10. doi: 10.9755/ejfa.2015.05.212.
- Rachmawati, F., Permanik, D., Mayang, R.B., and Winarto, B. 2019. Protokol Perbanyak Masal *Dendrobium 'Balithi CF22-58'* secara In Vitro Melalui Embriogenesis Somatik Tidak Langsung (In Vitro Propagation Protocol of *Dendrobium 'Balithi CF22-58'* via Indirect Somatic Embryogenesis). *Jurnal Hortikultura*, 29(2): 137-146. <https://doi.org/10.21082/jhort.v29n2.2019.p137-146>.
- Romeida A Sutjahjo, S.H., Purwito, A., Sukma, D., dan Rustikawati. 2013. Optimasi Pertumbuhan dan Multiplikasi Lini Klon PLBs Anggrek *Spathoglottis plicata* Blume melalui Modifikasi Komposisi Medium MS dan Sitokinin. *J. Hort. Indonesia* 4(1): 1-8.
- Toonen, M.A.J., Hendriks, T., Schmidt, E.D.L., Verhoeven, H.A., van Kammen, A., and de Vries, S.C. 1994. Description of somatic embryofoming single cells in carrot suspension cultures employing video cell tracking. *Planta*, 194:565-72.
- Vasudevan, R. and Staden, J.V. 2011. Cytokinin and explant types influence in vitro plant regeneration of Leopard Orchid (*Ansellia africana* Lindl.). *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 107: 123–129. doi:10.1007/s11240-011-9964-0.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman : Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Aura. Bandar Lampung. 86hlm.