

Scientific Article

## INDUKSI TUNAS DARI KOTILEDON JERUK SIAM PONTIANAK (*Citrus nobilis* L. var. *microcarpa*) DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK PISANG AMBON DAN BAP

*Shoot induction of siam pontianak orange (Citrus nobilis* L. var. *microcarpa*) cotyledon with additional ambon banana extract and BAP

Aniza Apriyanti, Zulfa Zakiah\*, Mukarlina

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Tanjungpura  
 Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak, Kalimantan Barat 78124

### Informasi Artikel

Diterima/Received : 18 Juni 2023  
 Disetujui/Accepted : 27 Desember 2023  
 Diterbitkan/Published : 31 Desember 2023

\*Koresponden E-mail :  
 zulfazakiah@gmail.com

DOI:  
<https://doi.org/10.55981/bkr.2023.2450>

Cara mengutip :  
 Apriyanti A, Zakiah Z, Mukarlina. 2023.  
 Induksi tunas dari kotiledon jeruk siam  
 Pontianak (*Citrus nobilis* L. var. *microcarpa*)  
 dengan penambahan ekstrak pisang Ambon  
 dan BAP. Buletin Kebun Raya 26(3): 148–157.  
 DOI:  
<https://doi.org/10.55981/bkr.2023.2450>

### Kontributor

#### Kontributor Utama/Main author:

Aniza Apriyanti  
 Zulfa Zakiah  
 Mukarlina

#### Kontributor Anggota/Author member:

-

**Keywords:** ambon banana extract, BAP, cotyledons, shoot induction, siam pontianak orange

**Kata Kunci:** BAP, ekstrak pisang ambon, induksi tunas, jeruk siam pontianak, kotiledon

### PENDAHULUAN

Jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* L. var. *microcarpa*) merupakan jenis jeruk siam yang menjadi salah satu komoditas tanaman unggulan di Pontianak,

### Abstract

Siam pontianak orange (*Citrus nobilis* L. var. *macrocarpa*) is a type of siam orange which is one of the leading crop commodities in West Kalimantan. Seedling propagation using tissue culture technology can be enhanced by modifying the growth media through the addition of complex organic compounds such as banana extract. The study aimed to determine the effect of ambon banana extract and BAP on MS media in promoting shoot growth from cotyledon explant. The study used a Complete Randomized Design factorial pattern with two treatment factors. The first factor is ambon banana extract, which has four levels of concentration: 0%, 5%, 10%, and 15%. The second factor is BAP, which has four levels of concentration: 0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, and 3 mg/l. The results showed that the addition of a single banana extract, a single BAP, and the combination of banana extract and BAP all significantly influenced the number of leaves. The addition of a single BAP had a significant effect on shoot emergence, the number of buds, the height of the shoots, and the number of roots. The highest number of leaves was observed in the combined treatment of 15% ambon banana extract and 3 mg/l BAP (P3B3), with an average of 11.80 leaves. The fastest shoot emergence occurred at a concentration of 3 mg/l BAP (B3), with an average of 8.75 days, and the highest number of buds was observed at a BAP concentration of 3 mg/l (B3), with an average of 2.95 buds.

### Abstrak

Jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* L. var. *microcarpa*) merupakan jenis jeruk siam yang menjadi salah satu komoditas tanaman unggulan di Kalimantan Barat. Perbanyak bitbit secara *in vitro* dengan teknologi kultur jaringan dapat dilakukan dengan memodifikasi media pertumbuhan melalui penambahan senyawa organik kompleks seperti ekstrak pisang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak pisang ambon dan BAP pada media MS terhadap pertumbuhan tunas dari eksplan kotiledon. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu ekstrak pisang ambon dengan empat taraf konsentrasi: 0%, 5%, 10%, dan 15%. Faktor kedua yaitu BAP dengan empat taraf konsentrasi: 0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, dan 3 mg/l. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak pisang ambon tunggal, BAP tunggal dan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun. Pemberian BAP tunggal berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas, jumlah tunas, tinggi tunas dan jumlah akar. Jumlah daun terbanyak diamati pada perlakuan kombinasi konsentrasi 15% ekstrak pisang ambon dan 3 mg/l BAP (P3B3), dengan rerata 11,80 helai. Waktu muncul tunas tercepat pada konsentrasi 3 mg/l BAP (B3) dengan rerata 8,75 hari dan jumlah tunas terbanyak diperoleh pada konsentrasi 3 mg/l BAP (B3) dengan rerata 2,95 tunas.

Kalimantan Barat. Jeruk ini banyak dibudidayakan di Kecamatan Tebas, Kabupaten Sambas, Provinsi Kalimantan Barat. Selain itu, juga terdapat di beberapa daerah lain seperti Semparuk, Salatiga, Tekarang, Sebawi, Pontianak Barat, dan Pontianak Utara (Badan Pusat

Statistik Kabupaten Sambas 2020). Jeruk siam pontianak memiliki rasa yang manis dan kulit buah yang tipis dengan warna hijau kekuningan (Sari 2008). Jeruk siam pontianak memiliki kandungan vitamin C yang tinggi yaitu berkisar antara 20–60 mg/100 ml sari buah (Dahliansyah & Yanuarti 2020).

Berdasarkan data BPS Kabupaten Sambas (2020), produksi jeruk siam pontianak di Kabupaten Sambas mengalami penurunan dari 1.237.394 kuintal pada tahun 2019 menjadi 1.152.747 kuintal pada tahun 2020. Data BPS Kota Pontianak (2020) menunjukkan adanya penurunan jumlah produksi jeruk siam Pontianak di Kota Pontianak yaitu dari 4.806 kuintal pada tahun 2019 menjadi 3.468 kuintal pada tahun 2020. Menurut Wijaya et al. (2017), salah satu penyebab menurunnya produksi buah jeruk secara signifikan akibat keterbatasan jumlah bibit. Selain itu, menurunnya produksi jeruk siam secara signifikan juga disebabkan adanya lalat buah dan penyakit CVPD (*Citrus Vein Pholem Degeneration*) yang menyebabkan gagal panen (Purba 2019).

Tanaman jeruk siam dapat diperbanyak secara generatif dengan biji maupun secara vegetatif dengan okulasi, stek, cangkok, sambung pucuk, dan sambung samping (Isda et al. 2014; Margareta et al. 2019). Kedua cara tersebut masing-masing memiliki kelebihan dan kelemahan. Menurut Purnomosidhi (2002), kelemahan perbanyak secara generatif yaitu memerlukan waktu yang lama untuk menghasilkan buah, sedangkan kekurangan perbanyak secara vegetatif yaitu memerlukan pohon induk yang banyak sehingga memerlukan biaya yang besar.

Perbanyak bibit secara *in vitro* merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk menyediakan bibit dalam waktu singkat dengan jumlah banyak, bebas hama penyakit, dan memiliki sifat yang sama seperti induknya (Nurhayati 2004). Keberhasilan dalam kultur jaringan didukung oleh beberapa faktor seperti sumber eksplan, komposisi media, dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan. Salah satu eksplan yang dapat digunakan untuk induksi tunas adalah kotiledon. Menurut Rahman (2008), eksplan berupa kotiledon masih bersifat meristematis dan bagian permukaannya tersusun atas struktur sel-sel yang berperan dalam penyerapan air. Adanya struktur sel yang terdapat pada permukaan kotiledon tersebut membantu dalam penyerapan nutrisi dan air menjadi lebih baik sehingga akan membantu mempercepat induksi tunas.

Zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan berfungsi untuk memacu pertumbuhan, mengontrol pertumbuhan tunas, akar, dan pembentukan kalus (Lestari 2011; Prasetyorini 2019). Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan pada kultur *in vitro* adalah auksin dan sitokinin dalam bentuk sintetik atau senyawa organik. *Benzylaminopurine* yang lebih dikenal dengan nama

singkatan BAP, merupakan salah satu zat pengatur tumbuh sintetik golongan sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan. BAP berperan dalam mendorong pembelahan sel, morfogenesis, perkembangan daun, dan diferensiasi tunas adventif dari kalus dan organ-organ (Zulkarnaen 2009; Prasetyorini 2019). Fatonah et al. (2018) melaporkan eksplan kotiledon jeruk siam asal Kampar Riau berhasil menginduksi tunas (100%) pada perlakuan dengan penambahan 1–3 mg/l BAP.

Penelitian kultur kotiledon jeruk dengan penambahan BAP dan bahan organik telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Lombardo et al. (2011) menunjukkan bahwa kultur eksplan kotiledon *Citrus x clementia* cv. "Monreal" mampu menginduksi tunas terbanyak (4,27 tunas) pada media MS dengan penambahan 13,2  $\mu$ M BAP dan bahan organik berupa ekstrak malt 500 mg/l. Iqbal et al. (2021) menjelaskan bahwa eksplan kotiledon jeruk lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) yang dikultur pada media MS menunjukkan kemampuan hidup 97,97% dan berhasil menginduksi kalus (95,41%) pada media dengan penambahan 2,0 mg/l 2,4-D. Regenerasi kalus membentuk tunas masih rendah (4,33%) diperoleh pada perlakuan 3 mg/l BAP yang dikombinasikan dengan 0,75 mg/l IAA dan 500 mg/l ekstrak malt.

Senyawa organik lain dapat digunakan sebagai sumber zat pengatur tumbuh alami, salah satunya yaitu ekstrak pisang ambon. Menurut Damiska et al. (2015), pisang mengandung hormon pertumbuhan seperti auksin dan giberelin. Selain itu, ekstrak pisang ambon mengandung karbohidrat dan mineral seperti kalsium, fosfor, dan besi yang dapat mempercepat pertumbuhan dan diferensiasi sel pada tanaman (Umami 2008; Djajaneegara 2010). Hasil penelitian Delviandra et al. (2021) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak pisang ambon sebanyak 50 g/l merupakan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan eksplan tunas aksilar tanaman pisang roti.

Penggunaan BAP dapat dikombinasikan dengan penambahan zat pengatur tumbuh organik yaitu ekstrak pisang ambon. Nursolihah et al. (2022) melaporkan bahwa kombinasi 5% ekstrak pisang ambon dengan 1 ppm BAP merupakan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan *protocorm* anggrek *Dendrobium nindii* X *Dendrobium Jaya Srani*. Ekstrak pisang ambon dan BAP dapat mendorong pertumbuhan sel pada tanaman sehingga dapat mempercepat tumbuhnya tunas dan daun dari *protocorm*.

Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi tunas dari eksplan kotiledon jeruk siam pontianak dengan pemberian BAP dan ekstrak pisang ambon dengan konsentrasi yang berbeda dan mengetahui konsentrasi ekstrak pisang ambon dan BAP yang terbaik untuk pertumbuhan tunas.

## BAHAN DAN METODE

### Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak. Penelitian dilakukan dari bulan Mei 2021 hingga Januari 2022.

### Bahan dan alat penelitian

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah buah jeruk siam pontianak yang diperoleh langsung dari perkebunan jeruk di daerah Sambas, media Murashige and skoog (MS), agar-agar, sukrosa, akuades steril, sitokinin (BAP), alkohol 70%, spiritus, NaOH 1N, dan HCl 1N. Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), autoclave, bunsen, botol kultur, pH indikator, dan peralatan penunjang laboratorium lainnya.

### Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial 2 faktor. Faktor pertama yaitu ekstrak pisang ambon (P) dengan 4 taraf konsentrasi yaitu 0% (P0), 5% (P1), 10% (P2), dan 15% (P3). Faktor kedua yaitu BAP (B) dengan 4 taraf konsentrasi yaitu 0 mg/l (B0), 1 mg/l (B1), 2 mg/l (B2) dan 3 mg/l (B3). Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 ulangan, sehingga diperoleh 80 unit percobaan.

### Tahapan penelitian

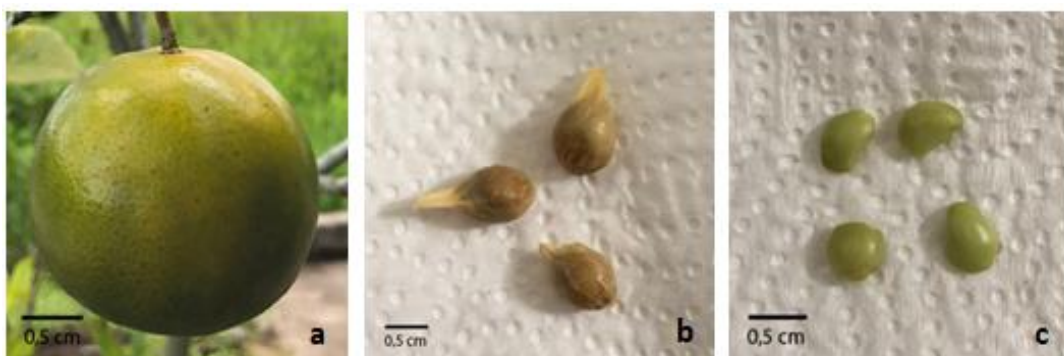
Tahapan penelitian yang dilakukan adalah persiapan dan pembuatan media, sterilisasi buah jeruk, penanaman eksplan, sub kultur, pengamatan dan pengukuran parameter, serta analisis data.

### Persiapan media

Media tanam yang digunakan adalah media MS dengan kombinasi perlakuan ekstrak pisang ambon dan BAP yaitu ekstrak pisang ambon (0%, 5%, 10%, dan 15%) dan BAP (0, 1, 2, dan 3 mg/L). Pembuatan media diawali dengan pembuatan larutan stok hara MS yang terdiri atas stok hara makro, hara mikro, dan vitamin. Larutan stok BAP dibuat dengan konsentrasi 200 mg/l. Pembuatan media dilakukan dengan cara melarutkan 30 g gula pasir dengan akuades dan mencampurkan dengan larutan stok, kombinasi perlakuan serta agar yang telah dipanaskan, selanjutnya dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Media MS yang telah homogen ditambahkan larutan HCl 1N dan NaOH 1N untuk mendapatkan pH dengan kisaran 5,6–5,8. Media yang sudah siap dimasukkan ke dalam botol kultur dengan volume media masing-masing 20 ml dan selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media yang telah steril disimpan pada ruang inkubasi pada suhu sekitar  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ .

### Sterilisasi buah jeruk

Biji diambil dari buah jeruk yang sudah matang (Gambar 1a). Buah jeruk dicuci bersih dengan detergen selanjutnya dibilas dan disterilisasi di bawah air mengalir selama 30 menit. Buah yang sudah bersih selanjutnya disterilisasi dengan cara dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dilewatkan di atas lampu spiritus sebanyak tiga kali. Buah jeruk dibelah, diambil bijinya untuk mendapatkan kotiledon (Gambar 1b, 1c). Biji yang digunakan yaitu biji yang bentuknya seragam, tidak terlalu kecil, tidak kempes, dan tidak luka (Prastowo & Roshetko 2006).



Gambar 1. Jeruk siam pontianak: a) buah matang, b) biji, c) kotiledon

### Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam L AFC. Kotiledon dipotong menjadi dua dan bagian pinggirnya dilukai dengan cara dipotong, kemudian ditanam pada media perlakuan di dalam botol, selanjutnya botol ditutup rapat. Setiap botol ditanam satu eksplan, setiap perlakuan terdiri atas lima ulangan. Eksplan yang telah ditanam diinkubasi selama empat minggu.

### Sub kultur

Sub kultur dilakukan sebanyak dua kali dengan interval waktu empat minggu. Minggu ke-12 setelah tanam dilakukan pengamatan dan pengukuran parameter pertumbuhan.

### Parameter pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian yaitu persentase eksplan membentuk tunas, waktu muncul tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah akar. Parameter waktu muncul tunas diamati sehari setelah penanaman sampai 4 minggu setelah tanam (mst). Jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah daun (helai), dan jumlah akar diamati dan diukur pada minggu ke-12.

### Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA). Hasil uji ANOVA yang berbeda nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf nyata 5% menggunakan SPSS (Pramesti 2011).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

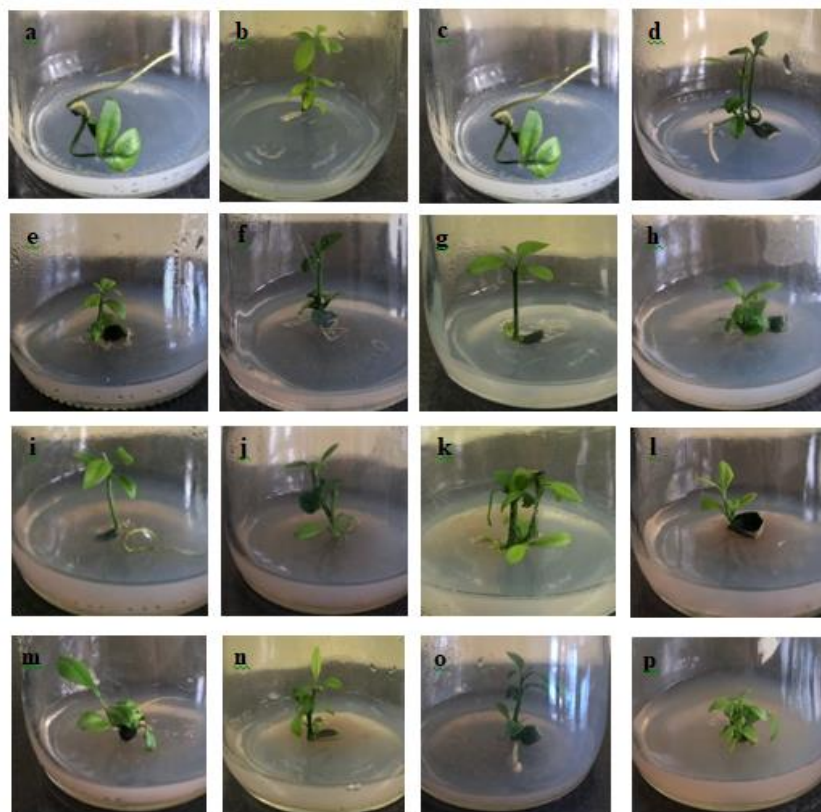
### Persentase eksplan membentuk tunas

Pembentukan tunas pada eksplan kotiledon diawali dengan terjadinya pembengkakan pada eksplan. Pembengkakan ini kemudian disusul dengan terbentuknya jaringan berwarna kehijauan pada bagian atas atau bagian bawah potongan eksplan kotiledon yang ditanam. Mawaddah *et al.* (2021) menyatakan terjadinya pembentukan tunas merupakan salah satu indikator keberhasilan dalam kultur jaringan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya pertumbuhan eksplan yang baik. Hal tersebut dapat dilihat dari persentase keberhasilan hidup eksplan kotiledon dan kemampuan eksplan membentuk tunas. Dari 80 eksplan kotiledon yang ditanam tidak ada yang mati dengan persentase hidup eksplan dan eksplan membentuk tunas 100% (Tabel 1, Gambar 2).

**Tabel 1.** Persentase eksplan membentuk tunas kultur kotiledon jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst

Konsentrasi BAP (mg/l)	Persentase eksplan membentuk tunas (%)				Rerata
	Konsentrasi ekstrak pisang ambon (%)				
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	100	100	100	100	100
B1 (1)	100	100	100	100	100
B2 (2)	100	100	100	100	100
B3 (3)	100	100	100	100	100



**Gambar 2.** Eksplan kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) yang membentuk tunas pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst (a=P0B0, b=P0B1, c=P0B2, d=P0B3, e=P1B0, f=P1B1, g=P1B2, h=P1B3, i=P2B0, j=P2B1, k=P2B2, l=P2B3, m=P3B0, n=P3B1, o=P3B2, p=P2B3)

### Waktu muncul tunas

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan tunggal ekstrak pisang ambon ( $F_{15,64}=6,303$ ,  $p=0,001$ ; ANOVA) dan perlakuan tunggal BAP ( $F_{15,64}=15,151$ ,  $p=0,000$ ; ANOVA) berpengaruh nyata

terhadap waktu muncul tunas, sedangkan kombinasi ekstrak pisang dan BAP ( $F_{15,64}=1,517$ ,  $p=0,161$ ; ANOVA) tidak berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas (Tabel 2).

**Tabel 2.** Rerata waktu muncul tunas kultur kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP

Konsentrasi BAP (mg/l)	Rerata waktu muncul tunas (hst)				Rerata
	Konsentrasi ekstrak pisang ambon (%)				
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	13,60±1,67	11,40±2,60	9,80±0,83	10,80±1,92	11,40 C
B1 (1)	11,60±1,51	9,80±1,30	9,20±0,83	9,20±1,30	9,95 B
B2 (2)	9,20±1,30	9,20±1,09	9,00±1,22	8,80±0,83	9,05 A
B3 (3)	9,00±1,22	9,00±1,41	8,80±0,83	8,20±0,44	8,75 A
Rata-rata	10,85 B	9,85 A	9,20 A	9,25 A	

Keterangan: - hst = hari setelah tanam

- nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf besar yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji lanjut Duncan

Pada penelitian ini, waktu muncul tunas tercepat ditunjukkan oleh perlakuan tunggal ekstrak pisang ambon dan perlakuan tunggal BAP yaitu ekstrak pisang ambon konsentrasi 10% (9,20 hari) dan 3 mg/l BAP (8,75 hari). Sedangkan, pada perlakuan tanpa penambahan BAP dan tanpa ekstrak pisang ambon memerlukan waktu muncul tunas lebih lama masing-masing 11,40 hari dan 10,85 hari (Tabel 2 dan Gambar 3).



**Gambar 3.** Tunas kotiledon jeruk siam pontianak pada perlakuan 10% ekstrak pisang ambon + 0 mg/l BAP (P2B0) hari ke 9. Tanda panah putih = tunas

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa waktu muncul tunas pada eksplan kotiledon jeruk siam pontianak dipengaruhi oleh perlakuan tunggal ekstrak pisang ambon dan perlakuan tunggal BAP (Tabel 2). Perlakuan tunggal ekstrak pisang ambon pada konsentrasi 5% (P1), 10% (P2), dan 15% (P3) menghasilkan waktu muncul tunas kotiledon jeruk siam pontianak lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan tanpa ekstrak pisang (P0). Hasil ini diduga karena kandungan auksin, sitokinin, dan giberelin yang terdapat dalam ekstrak pisang ambon 5%, 10%, 15% sudah mencukupi untuk pembelahan dan

diferensiasi sel kotiledon sehingga mempercepat waktu muncul tunas kotiledon jeruk siam pontianak. Menurut Widiastoety & Bahar (1995), ekstrak pisang ambon yang ditambahkan pada media kultur jaringan mengandung auksin dan sitokinin, sehingga dapat merangsang pembelahan sel dan mendorong diferensiasi sel. Arditti & Ernst (1992) menyatakan bahwa ekstrak pisang ambon mengandung auksin dan giberelin, kedua ZPT tersebut dapat memacu morfogenesis dan mempercepat terbentuknya tunas pada tanaman anggrek. Rajagukguk et al. (2018) menyatakan bahwa giberelin akan memacu pembentukan enzim yang melunakkan dinding sel terutama pada enzim proteolitik yang akan melepaskan aminotriptofan (prekursor auksin), sehingga kadar auksin akan meningkat. Waktu muncul tunas pada penelitian ini (8,75–11,40 hst) lebih cepat dibandingkan hasil penelitian Fatonah et al. (2018) pada kultur kotiledon jeruk siam asal Kampar pada media MS dengan penambahan 1–5 mg/l BAP dengan tunas muncul antara 10–19 hst.

### Jumlah tunas

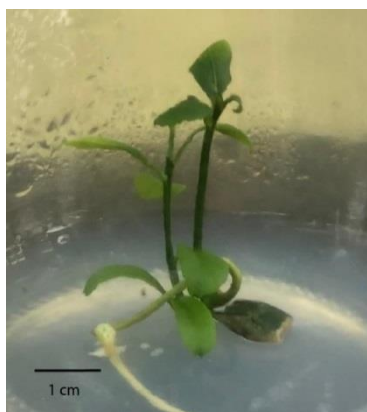
Hasil analisis ANOVA menunjukkan perlakuan tunggal BAP ( $F_{15,64}=5,199$ ,  $p=0,003$ ; ANOVA) berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, sedangkan perlakuan tunggal ekstrak pisang ( $F_{15,64}=0,502$ ,  $p=0,683$ ; ANOVA) dan perlakuan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP ( $F_{15,64}=1,260$ ,  $p=0,276$ ; ANOVA) tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas (Tabel 3).

Jumlah tunas terbanyak yang dihasilkan pada penelitian ini dipengaruhi oleh perlakuan tunggal BAP. Perlakuan tunggal BAP memberikan hasil terbaik pada konsentrasi BAP 3 mg/l (B3) terhadap jumlah tunas yaitu 2,95 tunas. Jumlah tunas terendah terdapat pada perlakuan tanpa penambahan ZPT yaitu 1,55 tunas (Tabel 3 dan Gambar 4).

**Tabel 3.** Rerata jumlah tunas kultur kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst

Konsentrasi BAP (mg/l)	Rerata Jumlah Tunas				Rerata
	Konsentrasi ekstrak pisang ambon (%)				
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	1,60±0,89	1,60±0,89	1,40±0,89	1,60±0,54	1,55 A
B1 (1)	2,40±1,51	1,80±0,44	2,20±1,30	2,00±0,70	2,10 AB
B2 (2)	2,80±1,09	2,20±1,30	2,80±1,09	2,20±1,30	2,50 BC
B3 (3)	1,80±0,83	2,80±2,04	3,00±1,41	4,20±1,30	2,95 C
Rata-rata	2,15	2,10	2,35	2,50	

Keterangan: nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf besar yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji lanjut Duncan

**Gambar 4.** Tunas terbanyak (2,95 buah) yang terbentuk dari kultur kotiledon jeruk siam pontianak pada perlakuan 0% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP (POB3)

Pemberian BAP 3 mg/l (B3) secara tunggal menghasilkan waktu muncul tunas kotiledon jeruk siam pontianak lebih cepat dan jumlah tunas terbanyak (Tabel 2 dan Tabel 3). Pada Tabel 2 dan 3 terlihat bahwa penambahan BAP 3 mg/l ke dalam media menghasilkan perimbangan dengan ZPT endogen di dalam eksplan, sehingga mampu merangsang pembelahan dan diferensiasi sel kotiledon jeruk siam membentuk tunas. Hal ini didukung oleh Bakar *et al.* (2016), bahwa konsentrasi sitokinin dan auksin dengan perimbangan yang mampu merangsang pembelahan sel menjadi lebih cepat. Menurut Santoso & Nursandi (2004), BAP merupakan salah satu jenis sitokinin yang mampu merangsang pembelahan sel dan mempercepat

pembentukan tunas. Fatonah *et al.* (2018) menjelaskan bahwa konsentrasi 1–5 mg/l BAP mampu menghasilkan jumlah tunas lebih banyak (3,6–4,0 tunas) dibandingkan perlakuan kontrol (2,0 tunas) pada kultur kotiledon jeruk siam asal Kampar. Tavano *et al.* (2009) memperoleh jumlah tunas terbanyak (4,56 tunas) dari eksplan epikotil yang menyertakan sebagian kotiledon *Citrus volkameriana* yang di kultur pada media MS dengan penambahan 1,0 mg/l BAP. Namun, hasil yang berbeda diperoleh dari penelitian Ibrahim (2012), yaitu jumlah tunas sebanyak 3,33 tunas berhasil diinduksi dari kultur kotiledon *Citrus grandis* pada perlakuan 2 mg/l BAP, namun pada konsentrasi BAP yang lebih tinggi (4 mg/l) memberikan respons berupa pembentukan kalus.

#### Tinggi tunas

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan tunggal BAP ( $F_{15,64}=8,856$ ,  $p=0,000$ ; ANOVA) berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas, sedangkan perlakuan tunggal ekstrak pisang ( $F_{15,64}=0,266$ ,  $p=0,850$ ; ANOVA) dan perlakuan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP ( $F_{15,64}=1,000$ ,  $p=0,450$ ; ANOVA) tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas (Tabel 4). Tunas tertinggi yang dihasilkan pada penelitian ini diperoleh pada konsentrasi tanpa penambahan ZPT yaitu 2,41 cm. Tinggi tunas terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi 3 mg/l BAP yaitu 1,13 cm (Tabel 4).

**Tabel 4.** Rerata Tinggi tunas kultur kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst

Konsentrasi BAP (mg/l)	Rerata Tinggi Tunas (cm)				Rerata
	Konsentrasi ekstrak pisang ambon (%)				
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	2,16±0,79	2,64±1,39	2,58±0,83	2,26±0,90	2,41 B
B1 (1)	1,46±0,41	1,56±0,91	2,16±0,62	1,16±0,92	1,58 A
B2 (2)	1,83±1,13	1,41±0,73	1,30±0,51	1,88±0,88	1,60 A
B3 (3)	1,58±0,86	1,06±0,38	0,97±0,35	0,89±0,21	1,13 A
Rata-rata	1,75	1,67	1,75	1,55	

Keterangan: nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf besar yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji lanjut Duncan

Ukuran tinggi tunas pada perlakuan tanpa penambahan BAP lebih besar dibandingkan perlakuan konsentrasi BAP lainnya. Hal ini diduga disebabkan ZPT endogen pada eksplan sudah mencukupi untuk mendukung pembelahan sel pada meristem apikal tunas, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan tinggi tunas. Semakin tinggi konsentrasi sitokinin yang diberikan, maka tinggi planlet yang dihasilkan semakin menurun (Nuraini, 2022). Menurut Noah et al. (2021), tingginya sitokinin dapat menghambat rangsangan auksin dan pemanjangan sel. Hasil penelitian Tzatzani et al. (2018) menjelaskan kultur pucuk dan daun *Citrus aurantium* pada media MS dengan penambahan 2 mg/l BAP meningkatkan jumlah tunas (2,2 tunas), namun menyebabkan tinggi tunas lebih rendah (7,5 mm) dibandingkan tinggi tunas pada perlakuan 0,5 mg/l BAP (9,8 mm).

Pada perlakuan penambahan konsentrasi BAP (1, 2, dan 3 mg/l) menunjukkan tinggi tunas yang tidak berbeda nyata antar konsentrasi, namun berbeda nyata dengan perlakuan tanpa BAP. Penambahan sitokinin diduga menjadikan rasio auksin dan sitokinin dalam eksplan menjadi tidak sesuai untuk merangsang pembelahan sel meristem apikal tunas tetapi lebih diarahkan untuk pembelahan sel pada primordia tunas sehingga jumlah tunas menjadi meningkat. Hal ini

didukung oleh Untari (2003), bahwa tunas yang memanjang tidak memerlukan penambahan sitokinin, walaupun organ tersebut dalam pertumbuhannya memerlukan ZPT tersebut untuk proses pemanjangan sel, tetapi kandungan sitokinin endogen dalam jaringan kemungkinan sudah mencukupi, sehingga penambahan sitokinin eksogen akan meningkatkan perimbangan auksin dan sitokinin dalam kultur dan menekan pertumbuhan tinggi tanaman. Kondisi ini juga diduga dapat disebabkan energi yang diperlukan untuk pemanjangan tunas digunakan untuk membentuk calon tunas baru, sehingga perpanjangan tunas terhambat. Menurut Handayani (2000), kompetisi dalam memperebutkan nutrisi makanan akan terjadi apabila jumlah tunas yang dihasilkan lebih banyak, sehingga pertumbuhan tinggi tunas akan berjalan lambat.

**Jumlah daun**

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa faktor tunggal ekstrak pisang ambon ( $F_{15,64}=5,198, p=0,003$ ; ANOVA), faktor tunggal BAP ( $F_{15,64}=22,944, p=0,000$ ; ANOVA), dan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP ( $F_{15,64}=2,140, p=0,038$ ; ANOVA) berpengaruh nyata terhadap jumlah daun (Tabel 5).

**Tabel 5.** Rerata jumlah daun kultur kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst

Konsentrasi BAP (mg/l)	Rerata Jumlah Daun (Helai)				Rerata
	Konsentrasi ekstrak pisang (%)				
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	2,80 <sup>a</sup> ±1,09	3,80 <sup>ab</sup> ±0,83	5,80 <sup>bcd</sup> ±1,48	5,40 <sup>bcd</sup> ±0,89	4,45 A
B1 (1)	8,60 <sup>ef</sup> ±2,19	5,20 <sup>abc</sup> ±2,28	7,40 <sup>cdef</sup> ±2,30	7,20 <sup>cde</sup> ±1,78	7,10 B
B2 (2)	7,20 <sup>cde</sup> ±3,27	8,00 <sup>def</sup> ±1,22	8,80 <sup>ef</sup> ±1,30	8,40 <sup>ef</sup> ±1,14	8,10 B
B3 (3)	6,80 <sup>cde</sup> ±1,48	8,80 <sup>ef</sup> ±3,42	10,20 <sup>fg</sup> ±2,68	11,80 <sup>g</sup> ±1,30	9,40 C
Rata-rata	6,35 A	6,45 A	8,05 B	8,20 B	

Keterangan: Faktor A, B, AXB berbeda nyata. Angka-angka pada setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf besar yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap masing-masing faktor tunggal pada uji Duncan taraf 5% dan angka-angka pada setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Jumlah daun terbanyak yang dihasilkan pada penelitian ini dipengaruhi oleh perlakuan tunggal BAP, tunggal ekstrak pisang ambon, dan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP. Perlakuan kombinasi konsentrasi 15% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP (P3B3) memberikan hasil terbaik untuk jumlah daun yaitu 11,80 helai. Jumlah daun terendah terdapat pada konsentrasi tanpa penambahan ZPT yaitu 2,80 helai (Tabel 5 dan Gambar 5).



**Gambar 5.** Jumlah daun terbanyak (11,80 helai) dari kultur kotiledon jeruk siam pontianak pada perlakuan 15% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP (P3B3).

Perlakuan kombinasi konsentrasi 15% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP (P3B3) menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu 11,8 helai (Tabel 5 dan Gambar 5). Hasil ini diduga ZPT eksogen yang ditambahkan ke dalam media berupa ekstrak pisang ambon dan BAP pada konsentrasi 15% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP (P3B3) menyebabkan terjadi perimbangan atau rasio sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan jumlah auksin dalam jaringan sehingga bekerja secara optimal dalam pembelahan sel dan pembentukan primordia daun. Menurut Fereol *et al.* (2002), dalam pembentukan daun konsentrasi auksin dan sitokinin dengan perimbangan yang tepat antara ZPT endogen dan eksogen akan bekerja secara optimal untuk mendorong pembelahan sel dan memacu pertumbuhan tunas dan daun. Jumlah daun terbanyak yang dihasilkan pada tunas jeruk siam pada penelitian ini, selain dipengaruhi oleh ZPT eksogen dan endogen juga dipengaruhi oleh kadar glukosa dan hara

makro yang cukup di dalam ekstrak pisang ambon konsentrasi 15%. Menurut Prasmeyanti (1999), glukosa merupakan bahan dasar dalam pembentukan energi yang dapat digunakan untuk memacu pembelahan sel primordia tunas dan daun. Selain itu, ekstrak pisang ambon juga mengandung unsur nitrogen yang dapat memacu pertumbuhan tinggi tanaman dan merangsang pembentukan daun.

#### Jumlah akar

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan tunggal BAP ( $F_{15,64}=2,914$ ,  $p=0,041$ ; ANOVA) berpengaruh nyata terhadap jumlah akar, sedangkan perlakuan tunggal ekstrak pisang ( $F_{15,64}=2,025$ ,  $p=0,119$ ; ANOVA) dan perlakuan kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP ( $F_{15,64}=1,103$ ,  $p=0,374$ ; ANOVA) tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar (Tabel 6).

**Tabel 6.** Rerata jumlah akar kultur kotiledon jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var *microcarpa*) pada media MS dengan penambahan ekstrak pisang ambon dan BAP berumur 12 mst

Konsentrasi BAP (mg/l)	Rerata Jumlah Akar Konsentrasi ekstrak pisang (%)				Rerata
	P0 (0)	P1 (5)	P2 (10)	P3 (15)	
B0 (0)	1,40±0,89	1,20±0,44	1,20±0,44	2,40±1,67	1,55 B
B1 (1)	1,20±0,44	1,00±0,00	1,20±0,44	1,20±0,44	1,15 A
B2 (2)	1,00±0,00	1,20±0,44	1,20±0,44	1,20±0,44	1,15 A
B3 (3)	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,20±0,44	1,05 A
Rata-rata	1,15	1,10	1,15	1,50	

Keterangan: nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf besar yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji lanjut Duncan

Jumlah akar terbanyak yang dihasilkan pada penelitian ini diperoleh pada konsentrasi tanpa penambahan ZPT yaitu 1,55 buah. Jumlah akar terendah diperoleh pada perlakuan konsentrasi 3 mg/l BAP yaitu 1,05 buah (Tabel 6).

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah akar diperoleh bahwa pada perlakuan tanpa BAP (B0) menghasilkan jumlah akar terbanyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 6). Hasil ini diduga tanpa penambahan sitokinin maka rasio auksin di dalam eksplan lebih tinggi dari sitokinin sehingga memicu pembentukan akar. Menurut Holland (1997) dan Wattimena *et al.* (1992), auksin berfungsi untuk pembentukan akar dan pemanjangan sel. Davies (1995) menambahkan bahwa rasio auksin yang lebih tinggi dari pada sitokinin akan memacu pembesaran dan pemanjangan sel-sel primordia akar. Hasil penelitian Kartiman *et al.* (2018) juga memperlihatkan hasil yang sama dengan penelitian ini yaitu pertumbuhan panjang akar tertinggi pada tanaman anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*) diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan sitokinin BAP.

## KESIMPULAN

Pemberian kombinasi ekstrak pisang ambon dan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun. Konsentrasi 15% ekstrak pisang ambon + 3 mg/l BAP merupakan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan jumlah daun yaitu 11,8 helai. Pemberian BAP tunggal berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah akar. Penelitian lebih lanjut mengenai jenis bahan organik lainnya yang mampu menjadi pengganti ZPT sintetik untuk pertumbuhan kotiledon jeruk siam pontianak perlu dilakukan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Perhimpunan Yayasan Bumi Khatulistiwa karena telah membantu dalam kegiatan penelitian ini baik secara moril dan materiil.



## DAFTAR PUSTAKA

- Arditti J, Ernst R. 1992. Fundamentals of Orchid Biology. John Wiley, New York.
- Bakar M, Mandang J, Kojoh D, Demmasabu S. 2016. Penggunaan BAP dan Kinetin pada induksi tunas dari protocorm anggrek dendrobium (*Dendrobium* sp.) pada kultur in vitro. Jurnal UNSRAT 7(4): 1–6.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Sambas. 2020. Sambas Dalam Angka. BPS Kabupaten Sambas. [www.Sambaskab.bps.go.id] [di unduh 3 Maret 2022].
- Badan Pusat Statistik Kota Pontianak. 2020. Kota Pontianak Dalam Angka. BPS Kota Pontianak. [www.Pontianakkota.bps.go.id] [di unduh 3 Maret 2022].
- Dahliansyah I, Yanuarti P. 2020. Pemberian madu *Trigona* sp. (Kelulut) dan sari buah jeruk siam sambas terhadap kadar hemoglobin darah (Hb) ibu. Jurnal Surya Medika 6(1): 157–162. doi: 10.33084/jsm.v6i1.1630.
- Damiska S, Wulandari RS, Darwati H. 2015. Penambahan ragi dan ekstrak biji jagung terhadap pertumbuhan tunas manggis secara *in-vitro*. Jurnal Hutan Lestari 3(1): 35–42. doi: 10.26418/jhl.v3i1.8896.
- Davies P. 1995. The plant hormone their nature, occurrence and function. In Davies P (ed.) Plant hormone and their role in plant growth development. Dordrecht Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht.
- Delviandra D, Nopsagiarti T, Haitami A. 2021. Uji berbagai ekstrak pisang sebagai suplemen terhadap pertumbuhan eksplan tanaman pisang roti pada media MS. Jurnal Green Swarnadwipa 10(1): 109–117.
- Djajanegara I. 2010. Pemanfaatan limbah buah pisang dan air kelapa sebagai bahan media kultur jaringan anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) tipe 229. Jurnal Teknologi Lingkungan 11(1): 373–380. doi: 10.29122/jtl.v11i3.1182.
- Fatonah S, Lestari W, Isda MN, Purba L. 2018. In vitro shoot regeneration of *Citrus nobilis* Lour. from intact seed and cotyledon eExplants. SABRAO Journal of Breeding and Genetics 50 (2): 168–179.
- Fereol L, Chovelon V, Causse S, Michaux Ferriere N, Kahane R. 2002. Evidence of a somatic embryogenesis process for plant regeneration. Cell Biology and Morphogenesis 21: 197–203.
- Handayani T. 2000. Perbanyak tanaman kantong semar (*Nepenthes* spp.) dengan stek batang. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional. Kebun Raya Bogor, 5 November 2000. pp. 171–175.
- Holland MA. 1997. Occan's razor applied to hormonology: Are cytokinins produced by plants. Plant Physiology 115(3): 865–868. doi: 10.1104/pp.115.3.865.
- Ibrahim MA. 2012. *In vitro* plant regeneration of local pummelo (*Citrus Grandis* (L.) Osbeck.) via direct and indirect organogenesis. Genetics and Plant Physiology 2 (3–4): 187–191.
- Iqbal M, Bakshi P, Kour K, Sinha BK, Iqbal M. 2021. Effect of different growth regulators on in vitro regeneration of cotyledon explants of rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) via callus induction. International Journal of Chemical Studies 9(1): 1853–1859. doi: 10.22271/chemi.2021.v9.i1z.11495
- Isda MN, Fatonah S, Lestari W, Hutapea EY. 2014. Induksi tunas dan pembentukan akar dari eksplan kotiledon jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar secara *in vitro*. Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA. Bogor.
- Kartiman R, Sukma D, Aisyah SI, Purwito A. 2018. Multiplikasi in vitro anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada perlakuan kombinasi NAA dan BAP. Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia 5(1): 75–87.
- Lombardo G, Alessandro R, Scialabba A, Sciandra M, De Pasquale F. 2011. Direct organogenesis from cotyledons in cultivars of *Citrus clementina* Hort. Ex Tan. American Journal of Plant Sciences 2: 237–244. doi: 10.4236/ajps.2011.22025.
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Jurnal AgroBiogen 7(1): 63–68.
- Margareta F, Budianto, Sutoyo. 2019. Studi tentang metode perbanyak tanaman jeruk siam pontianak (*Citrus Nobilis* var *microcarpa*) secara vegetatif di Kebun Percobaan Puntan Desa Sidomulyo Kota Batu. Berkala Ilmiah Pertanian 2(1): 26–29. doi: 10.19184/bip.v2i1.16152.
- Mawaddah SK, Saputro NW, Lestari A. 2021. Pemberian Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin terhadap multiplikasi tunas tanaman jahe (*Globba leucantha* var. *bicolor* Holttum) pada kultur *in vitro*. Bioma 23(1): 43–50. doi: 10.14710/bioma.23.1.43-50.
- Noah AM, Casanova-Sáez R, Ango REM, Antoniadi I, Karady M, Novák O, Niemenak N, Ljung K. 2021. Dynamics of auxin and cytokinin metabolism during early root and hypocotyl growth in *Theobroma cacao*. Plants 10(5): 967. doi: 10.3390/plants10050967.
- Nuraini A, Aprilia E, Murgayanti AP, Wulandari. 2022. Pengaruh konsentrasi *Benzylaminopurine* terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar rami klon lokal

- Wonosobo secara *in vitro*. Jurnal Kultivasi 21(2): 167–172. doi: 10.24198/kultivasi.v21i2.36540.
- Nurhayati. 2004. Variasi konsentrasi BAP dan IAA pada perbanyakan jeruk keprok mangga (*Citrus nabilis* L. var. *chripsocarpa*) secara *in vitro*. Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian 2(1): 8-12.
- Nursolihah U, Laksono RA, Saputro NWD. 2022. Respon pertumbuhan protocorm anggrek *Dendrobium nindii* X *Dendrobium Jaya Srani* dengan penambahan berbagai konsentrasi *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan ekstrak pisang ambon secara *in vitro*. Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan 8(1): 60–66. doi: 10.5281/zenodo.5814304.
- Pramesti G. 2011. SPSS 18.0 Dalam Rancangan Percobaan. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Prasetyorini MS. 2019. Buku ajar kultur jaringan. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Pakuan, Bogor.
- Prasmeyanti A. 1999. Pengaruh bubuk buah beberapa kultivar pisang terhadap pertumbuhan vegetatif planlet *Dendrobium kamiya'S Pride* x *Dendrobium Rulita Beauty* pada Media Vacin dan Went (1949) Modifikasi [Skripsi]. FMIPA Jurusan Biologi UI, Depok.
- Prastowo N, Roshetko JM. 2006. Teknik pembibitan dan perbanyakan vegetatif tanaman buah. World Agroforestry Centre (ICRAF) dan Winrock International. Bogor.
- Purba EC, Purwoko BS. 2019. Teknik pembibitan, pemupukan, dan pengendalian hama penyakit tanaman komoditi jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) di Kecamatan Simpang Empat dan Kecamatan Payung, Kabupaten Karo, Sumatra Utara, Indonesia. Jurnal Pro-Life 6(1): 66–75.
- Purnomosidhi P, Suparman JM, Roshetko M. 2002. Perbanyakan dan budidaya tanaman buah-buahan dengan penekanan pada durian, mangga, jeruk, melinjo dan sawo. Pedoman Lapang, International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF) dan Winrock International, Bogor.
- Rahman IB, Purwoko BS, Dewi IS. 2008. Perbanyakan jeruk besar *Citrus maxima* (Burm.) Merr, kultivar Cikoneng dengan eksplan kotiledon dan epikotil. Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura. Fakultas Pertanian IPB, Bogor.
- Rajaguguk S, Dwiyani R, Astawa ING. 2018. Pengaruh konsentrasi GA3 terhadap induksi tunas tanaman anggur (*Vitis vinivera* L.) secara *in vitro*. Jurnal Agroekoteknologi Tropika 7(2): 285–294.
- Santoso U, Nursandi F. 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang Press, Malang.
- Sari ES. 2008. Pentingnya pengujian kandungan gula pada jeruk pontianak (*Citrus Nobilis* var. *microcarpa*) sebagai jaminan kualitas rasa. Unit PSMB Dinas Perindag, Pontianak.
- Tavano ECR, Stipp LCL, Muniz FR, Mourão Filho FAA, Mendes, BMJ. 2009. In vitro organogenesis of *Citrus volkameriana* and *Citrus aurantium*. Biologia Plantarum 53(2): 395–399.
- Tzatzani TT, Dimassi K, Therios I. 2018. Organogenesis of *Citrus* rootstocks using mature explants. Journal of Agriculture and Environmental Sciences 7(1): 10–15.
- Ummi M. 2008. Ekstrak pisang sebagai suplemen media MS dalam media kultur tunas pisang raja bulu (*Musa paradisiaca* l. Aab group) *In-vitro* [Skripsi]. Program studi hortikultura fakultas pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Untari R. 2003. Pengaruh jenis media organik dan NAA terhadap pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) di dalam kultur *in vitro* [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wattimena GA. Gunawan LW, Mattjik NA, Syamsudin E, Wiendi NMA, Ernawati A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Institut Pertanian Bogor Press, Bogor.
- Widiastoety FA, Bahar FA. 1995. Pengaruh berbagai sumber dan kadar karbohidrat terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium*. Jurnal Hort 5(3): 76–80.
- Wijaya NI, W Adiantayasa IG, Wirawan M, Sritamin M, Puspawati, Sudarma IM. 2017. Hama dan penyakit pada tanaman jeruk serta pengendaliannya. Buletin Udayana Mengabdi 16(1): 51–57.
- Zulkarnaen. 2009. Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya. Bumi Aksara, Jakarta.