

## **PERTUMBUHAN TUNAS CITRUMELO (*Citrus paradisi* Macfaden cv. Duncan × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf) PADA BERBAGAI KONSENTRASI NUTRISI UNTUK PERUMBUHAN LAMBAT (SLOW GROWTH) SECARA IN VITRO**

### **GROWTH OF SHOOT CITRUMELO (*Citrus paradisi* Macfaden cv. Duncan. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf) AT VARIOUS CONCENTRATION OF NUTRITION FOR SLOW GROWTH IN IN VITROCONDITION**

Fahma Sariahta Berutu<sup>1\*)</sup>, Dita Agisimanto<sup>2)</sup> dan Darmawan Saptadi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

<sup>2)</sup>Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO)

Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia

Email: fahmasariahta@gmail.com

#### **ABSTRAK**

Citrumelo merupakan kultivar batang bawah yang memiliki banyak keunggulan, salah satunya yaitu toleran terhadap kekeringan, dan toleran terhadap penyakit *phytophthora* sp. Guna untuk melestarikan sifat unggul dan pemanfaatannya dimasa mendatang, konservasi *ex situ* secara *in vitro* perlu dilakukan. Konservasi *in vitro* dapat dilakukan melalui metode penyimpanan pertumbuhan lambat (*slow growth*) dengan cara mengubah komposisi nutrisi dalam media melalui pengenceran konsentrasi normal dari 100%, 75%, sampai 50% pada media dasar MS, DKW, dan WPM. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tipe media dasar terhadap laju pertumbuhan tunas citrumelo, dan untuk mendapatkan konsentrasi nutrisi yang paling sesuai untuk pertumbuhan lambat tunas citrumelo. Penelitian ini telah dilaksanakan pada Bulan Desember 2015 hingga Maret 2016 di Laboratorium Somatic Embryogenesis, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO), Batu, Malang. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 9 kombinasi perlakuan dengan 5 kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5% yang

kemudian dilakukan analisis regresi untuk mengetahui besaran pengaruh antar peubah kuantitatif yang diamati, setelah itu dilakukan analisis laju pertumbuhan eksplan untuk mengetahui peningkatan bobot segar eksplan perhariannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, semakin rendahnya konsentrasi nutrisi maka akan memperlambat pertumbuhan eksplan. Media WPM memiliki laju pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan media perlakuan yang lain terutama pada konsentrasi nutrisi 50%. Hal tersebut diakibatkan karna media WPM merupakan media yang miskin nutrisi.

Kata Kunci : Citrumelo, Konsentrasi Nutrisi, In Vitro, Pertumbuhan Lambat, Konservasi

#### **ABSTRACT**

Citrumelo is rootstock cultivar that has many superiority. Therefore, to conserve the superior nature and its use for the future, it is needed to do *ex situ* conservation in *in vitro*. *In vitro* conservation may through a slow growth of storage method by changing the compositions of the nutrient in the medium through dilution of normal concentration from 100%, 75% to 50% in the basic medium like MS, DKW, and WPM. The purpose of this research is to find the influence of basic medium type to the growth rate of shootcitrumelo and to get the

most appropriate of nutrients concentration for the slow growth of the shoot citrumelo. This research conducted from December 2015 until March 2016 at laboratory of Somatic Embryogenesis, Indonesian Citrus and Subtropical Fruits Research Institute (ICSFRI), Batu, Malang. The research used a Completely randomized design (CRD) with 9 (nine) Combinations of treatment with 5 repetition. The data is analyzed by using analysis of variance (ANOVA), If there is a real impact, it is continued by DMRT with 5% level. Then we did a regression analysis to know how the influence between the quantitative observed variables. After that explant growth rate analysis is done to know the enhancement of the explant fresh weight per days. The result of this research showed that the low of the nutrients concentration will slow the explant growth. WPM medium has the slower growth than the other treatment medium mainly on the 50% nutrients concentration. This is because the WPM medium was a poor nutrition medium.

Keywords: Citrumelo, In Vitro, Concentration Nutrient, Slow Growth, Conservation

## PENDAHULUAN

Jeruk (*Citrus* sp.) merupakan salah satu tanaman buah yang penting di Indonesia, yang disukai oleh semua kalangan masyarakat. Indonesia memiliki banyak kultivar jeruk yang mempunyai sifat unggul dan sangat potensial untuk dikembangkan. Salah satunya adalah Citrumelo yang tergolong ke dalam kultivar unggul batang bawah dari hasil persilangan antara *Citrus paradisi* Macfaden cv. Duncan sebagai tetua betina dan *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. sebagai tetua jantan (Tucker *et al.*, 2001). Jeruk citrumelo pada umumnya digunakan sebagai batang bawah untuk produksi jeruk komersial (Molinari *et al.*, 2004) karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya toleran terhadap kekeringan, terhadap tanah masam, toleran terhadap penyakit *phytophthora* sp., dan dapat meningkatkan kadar jus buah (Purnomo *et al.*, 2000). Menurut Pittenger

(2015), citrumelo memiliki keunggulan dalam hal peningkatan jumlah buah dan kualitas buah yang dihasilkan batang atas dibandingkan dengan jenis batang bawah lainnya. Pentingnya batang bawah ini untuk pemanfaatannya dimasa datang, konservasi *ex situ* secara *in vitro* perlu dilakukan.

Konservasi merupakan suatu kegiatan perlindungan dan pemeliharaan sumberdaya alam yang dapat digunakan secara berkelanjutan. Konservasi sumber genetik bertujuan untuk mempelajari tingkat keragaman yang tersedia, dengan melakukan cara *in-situ* (dilakukan di habitat aslinya) dan *ex-situ* (di luar habitat aslinya) (Mathur *et al.*, 2011). Salah satu upaya yang dapat dilakukan melalui konservasi *ex-situ* yaitu secara *in vitro*. Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan dalam kegiatan konservasi *in vitro*, diantaranya adalah penyimpanan dalam keadaan tumbuh (jangka pendek), penyimpanan pertumbuhan lambat (*slow growth*), dan penyimpanan dengan pembekuan (jangka panjang) (Warseno, 2015). Metode konservasi *in vitro* paling banyak digunakan melalui penyimpanan pertumbuhan lambat, karena dapat memperlambat pertumbuhan dengan menurunkan proses pembelahan sel sehingga dapat meminimalisir kegiatan subkultur (Lonardo dan Capuana, 2013). Metode pertumbuhan lambat dapat dilakukan melalui berbagai cara, salah satunya dengan mengubah komposisi nutrisi dalam media melalui pengenceran konsentrasi normal dari 1/2 sampai 1/10 -nya yang dapat memperlambat atau membatasi pertumbuhan eksplan. Pengenceran media menyebabkan berkurangnya unsur hara makro, terutama unsur N yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tanaman (Kaviani, 2011).

Penelitian konservasi *in vitro* dengan metode pertumbuhan lambat sudah mulai dilakukan pada berbagai jenis tanaman, diantaranya yaitu pada tanaman jeruk Pamelon dengan perlakuan penurunan konsentrasi media MS (1/2 MS dan MS) maupun penambahan sukrosa (3%) dan retardant (7,5 ppm) (Tyas *et al.*, 2013). Penelitian pertumbuhan lambat pada jeruk Citrumelo dalam menunjang konservasi *in vitro* masih belum dilakukan. Penelitian

penggunaan 3 jenis media dasar (MS, DKW dan WPM) dengan berbagai konsentrasi perlu dilakukan, untuk mendapatkan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman. Jenis media yang digunakan akan mempengaruhi konsentrasi nutrisi yang diserap oleh tanaman, sehingga menyebabkan tanaman dapat tumbuh cepat atau lambat selama periode kultur *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Somatic Embryogenesis*, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO), di Jl. Raya Tlekung No.1, Kecamatan Junrejo, Batu, Jawa Timur. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2015 sampai April 2016. Bahan tanam yang digunakan pada penelitian ini yaitu jeruk citrumelo. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan perbedaan Konsentrasi nutrisi (100%, 75%, dan 50%) sebagai faktor tunggal. Percobaan terdiri atas media MS 100, MS 75, MS 50, DKW 100, DKW 75, DKW 50, WPM 100, WPM 75, dan WPM 50. Masing-masing perlakuan di ulang sebanyak 5 kali, setiap ulangan terdiri atas 45 satuan percobaan. Di dalam satu botol kultur ditanam 5 eksplan, sehingga jumlah seluruhnya yaitu 225 eksplan. Eksplan yang di gunakan berupa tunas pucuk (Shoot-tip)

citrumelo yang berasal dari kegiatan TCL (*Thin Cell Layer*). Eksplan berukuran seragam, dengan tinggi awal 1 cm, tanpa adanya daun. Media yang digunakan yaitu media MS, DKW, dan WPM dengan penambahan myo-inositol 250 mg/l, sukrosa 30 g/l. Tingkat keasaman (pH) media yang digunakan yaitu 5,7 – 5,8 sebelum dilakukan penambahan agar 10 g/l, dan campuran tersebut di autoclaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121oC selama 8 menit.

Eksplan mulai diamati pada 15 hari setelah tanam (HST), dan selanjutnya setiap dua minggu sekali selama 3 bulan. Variabel yang diamati yaitu: (a) Tinggi tunas, (b) Bobot segar eksplan, (c) Jumlah daun, (d) Jumlah tunas, (e) Jumlah tunas, (f) Jumlah akar, dan (g) Panjang akar. Data dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA). Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil variabel pengamatan, maka dilakukan analisis uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil dari analisis ragam bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi nutrisi menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap semua variabel pengamatan, kecuali tinggi tunas, jumlah akar, dan panjang akar (Tabel 1)

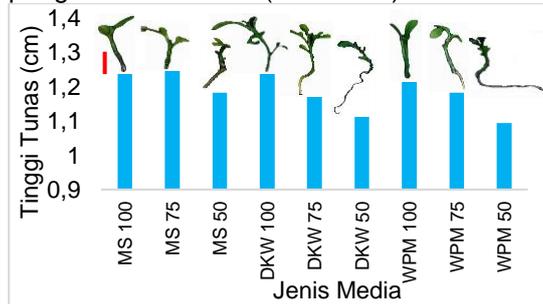
**Tabel 1** Hasil Analisis Ragam dan Uji DMRT Pertumbuhan Tunas Citrumelo Akibat Perlakuan Perbedaan Konsentrasi Nutrisi Pada Beberapa Media Tumbuh Pada Umur 90 HST.

Perlakuan	Tinggi Tunas (cm)	Bobot Segar Eksplan (mg)	Jumlah Daun	Jumlah Tunas	Jumlah Akar	Panjang Akar (mm)
MS 100	1.54	27.66 a	2.32 a	3.20 ab	0.04	0.05
DKW 100	1.45	20.03 abc	2.68 a	3.55 a	0.08	0.02
WPM 100	1.53	22.23 ab	2.12 ab	2.84 ab	0.08	0.32
MS 75	1.37	15.47 bcd	1.24 bc	2.40 bc	0.04	0.56
DKW 75	1.45	21.71 ab	1.92 ab	2.40 bc	0.12	1.08
WPM 75	1.32	14.65 bcd	1.92 ab	2.64 ab	0.08	0.28
MS 50	1.27	10.25 cd	0.84 c	1.52 c	0.16	2.12
DKW 50	1.41	24.19 ab	1.88 ab	2.80 ab	0.32	4.05
WPM 50	1.17	9.02d	0.68 c	1.44 c	0.12	2.24
Notasi	tn	*	*	*	tn	tn
KK	1.54%	4.20%	3.99%	3.03%	1.42%	6.77%

Keterangan : KK = Koefisien Keragaman, \*= Berbeda nyata, dan tn= tidak berbeda nyata. Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf 5%.

**Tinggi Tunas**

Hasil analisis ragam (Tabel 1) menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh tidak nyata terhadap variabel tinggi tunas, akan tetapi terdapat kecenderungan, semakin besarnya konsentrasi nutrisi akan meningkatkan tinggi tunas. Perbedaan konsentrasinutrisi dari 100%, 75%, dan 50% pada setiap tipe media dasar menghasilkan rata-rata tinggi tunas yang berbeda-beda pada pengamatan 90 HST (Gambar 1).



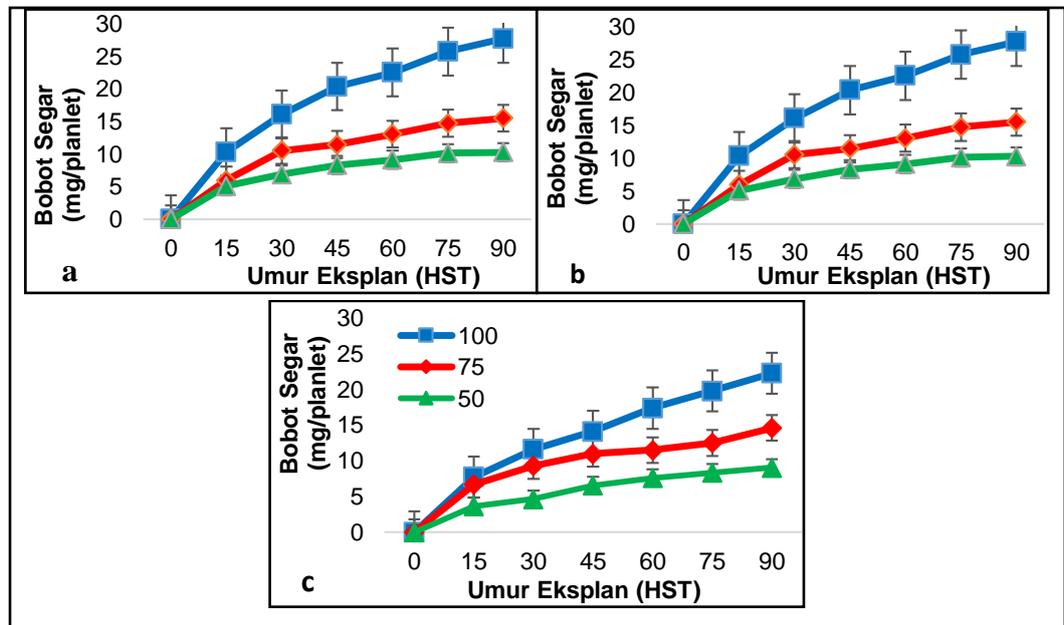
**Gambar 1.** Rata-rata pertambahan tinggi tunas (cm) pada umur 90 HST (bar = 1 cm)

Variabel tinggi tunas tertinggi diperoleh pada media MS 100 yaitu 1.54

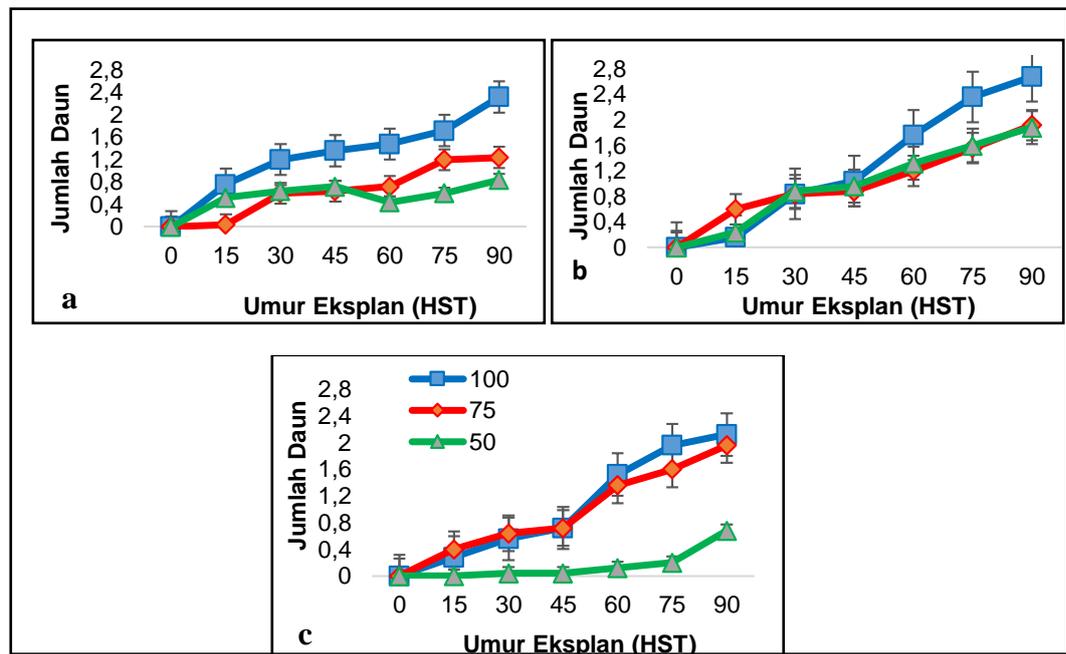
cm. Hal itu disebabkan media MS memiliki konsentrasi nitrat lebih tinggi yang dapat memacu pertumbuhan tinggi planlet. Menurut Darwati dan Rohimatun (2011), N yang bersumber dari  $KNO_3$  dan  $NH_4NO_3$  yang tinggi pada media tumbuh dapat merangsang pertumbuhan tinggi tanaman. Sementara media yang menghasilkan planlet terendah dihasilkan oleh media WPM 50% yaitu 1.17 cm, media WPM merupakan media yang memiliki konsentrasi nutrisi terendah dibandingkan media dasar lainnya. Rendahnya konsentrasi nutrisi pada media WPM menyebabkan laju pertumbuhannya melambat, sehingga media WPM dengan konsentrasi nutrisi 50% dapat mendukung kegiatan konservasi *in vitro* melalui pertumbuhan lambat.

**Bobot Segar Eksplan**

Perbedaan konsentrasi nutrisi pada beberapa media tumbuh dasar memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap variabel bobot segar planlet (mg/planlet) berdasarkan hasil analisis ragam(Tabel 1).



**Gambar 2** Laju pertumbuhan bobot segar planlet(mg/planlet) selama 90 HST pada media(a) MS (b) DKW, dan (c)WPM



**Gambar 3** Grafik laju pertumbuhan jumlah daun selama umur 90 HST pada media (a) MS, (b) DKW, (c) WPM

Perbedaan konsentrasi nutrisi pada media tumbuh dasar akan berbanding lurus dengan variabel bobot segar ( $\text{mg planlet}^{-1}$ ). Konsentrasi nutrisi yang rendah dapat memperlambat pertumbuhan bobot segar planlet begitu juga sebaliknya. Rata-rata bobot segar planlet menunjukkan bahwa media dengan konsentrasi nutrisi 50% memiliki rata-rata bobot segar yang lebih rendah dibandingkan dengan media yang mengandung konsentrasi nutrisi 100% yaitu pada media WPM 50, MS 50. Hal tersebut disebabkan rendahnya ketersediaan nutrisi pada media tumbuh, terutama pada kandungan potasium. Menurut Adelberg *et al.* (2013), berdasarkan hasil penelitiannya menunjukkan bahwa Potasium nitrat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bobot segar planlet. Perlakuan perbedaan konsentrasi nutrisi pada tiga jenis media tumbuh dasar berbanding lurus dengan laju pertumbuhan bobot segar ( $\text{mg/planlet}$ ) planlet (Gambar 2).

### Jumlah Daun

Hasil analisis ragam (Tabel 1) menunjukkan adanya pengaruh yang

sangat nyata terhadap variabel jumlah daun akibat perbedaan konsentrasi nutrisi pada beberapa jenis media tumbuh dasar. Tingginya konsentrasi nutrisi suatu media akan memicu pertumbuhan jumlah daun lebih cepat. Media yang menghasilkan jumlah daun terendah terdapat pada konsentrasi nutrisi 50% yaitu pada media WPM 50 dan MS 50. Menurut Yunita (2004), media WPM memiliki jumlah daun yang lebih rendah dibandingkan media yang lain, hal ini disebabkan inisiasi tunas yang terjadi tidak dilanjutkan dengan pertumbuhan dan perpanjangan tunas yang nantinya akan membentuk daun, karena pada media WPM memiliki unsur fosfor dan magnesium yang lebih rendah. Pada media DKW 50 rata-rata jumlah daun masih lebih tinggi dibandingkan dengan media MS 75 dan WPM 75. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Bell (2009), yang menyatakan bahwa media tumbuh dasar DKW memiliki keunggulan yang lebih dibandingkan media MS untuk memproduksi daun muda, yang digunakan untuk regenerasi eksplan. Perlakuan perbedaan konsentrasi nutrisi pada media tumbuh, berbanding lurus terhadap laju

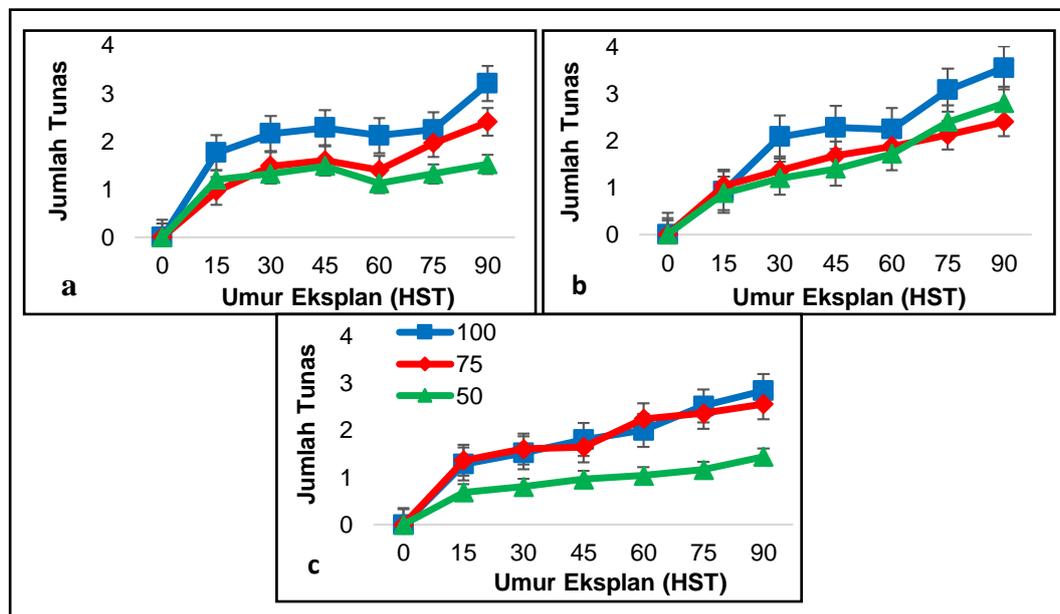
pertumbuhan eksplan (Gambar 3). Semakin tinggi konsentrasi nutrisi maka akan semakin cepat pula laju pertumbuhan eksplan dalam menghasilkan daun.

### Jumlah Tunas

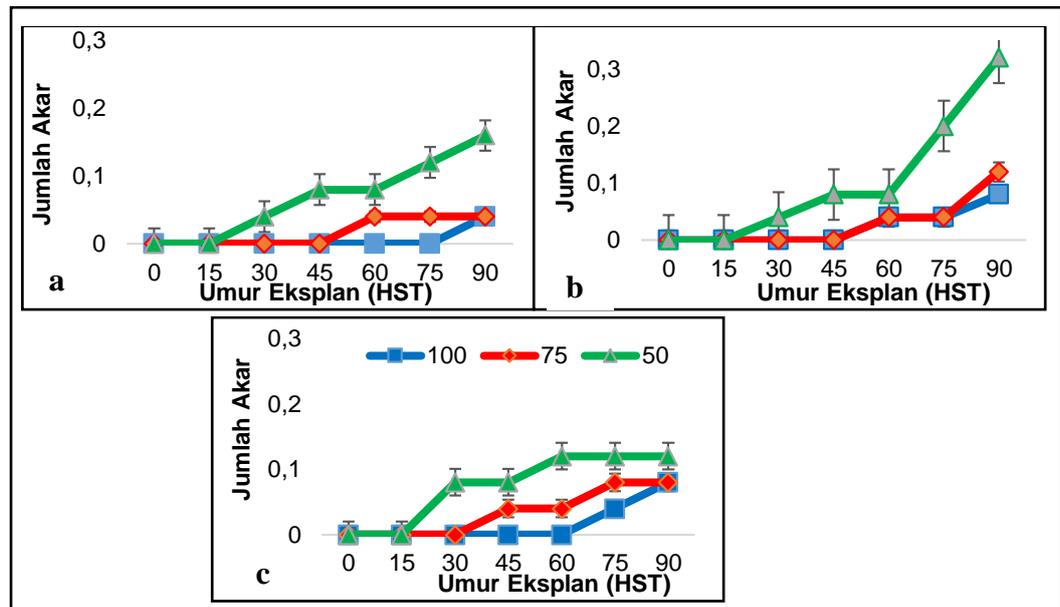
Pertambahan jumlah tunas berdasarkan uji ragam memiliki pengaruh yang nyata terhadap konsentrasi nutrisi pada beberapa media tumbuh dasar (Tabel 1). Rendahnya konsentrasi nutrisi akan diikuti oleh penurunan jumlah tunas pada planlet citrumelo. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Tokoporo *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa penurunan konsentrasi nutrisi MS dapat menunda pertumbuhan tunas dan meningkatkan durasi penyimpanan eksplan pisang. Pada umur 90 HST media yang menghasilkan rata-rata jumlah tunas citrumelo terendah terdapat pada media WPM 50, sedangkan media yang menghasilkan rata-rata jumlah tunas tertinggi terdapat pada media DKW 100. Pertambahan tunas planlet citrumelo pada media WPM dengan konsentrasi

100% dan 75% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (Tabel 1).

Pertambahan jumlah tunas mulai terlihat saat planlet berumur 15 HST (Gambar 4). Pada media MS 100 pertambahan tunas planlet mulai melambat saat umur 60 HST. Berbeda dengan media DKW 100, jumlah tunas planlet citrumelo saat awal tanam hingga 15 HST pertumbuhannya tidak secepat jumlah tunas pada media MS 100, hanya saja pada saat planlet berumur 30 HST, rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan media DKW 100 hampir sama dengan rata-rata jumlah tunas MS 100. Laju pertumbuhan jumlah tunas DKW 100 mengalami pertambahan yang cepat sehingga jumlah tunas planlet pada media DKW 100 lebih tinggi dibandingkan beberapa media perlakuan yang lain saat umur 90 HST. Media yang memiliki unsur Zn lebih sedikit, maka pertumbuhan tunas akan terhambat karena pembelahan sel meristem tidak sempurna. Hal tersebutlah yang mengakibatkan pertambahan jumlah tunas pada media WPM 50 lebih rendah.



**Gambar 4** Grafik laju pertumbuhan jumlah tunas selama umur 90 HST pada media (a) MS, (b) DKW, (c) WPM.



**Gambar 5** Grafik laju pertumbuhan jumlah akar pada media a) MS b) DKW dan c) WPM pada umur 90 HST.

#### Jumlah Akar dan Panjang Akar

Perlakuan perbedaan konsentrasi nutrisi media dasar pada eksplan (tunas) citrumelo diamati selama 90 hari. Perbedaan konsentrasi nutrisi pada tiga jenis media perlakuan tidak memperlihatkan adanya pengaruh nyata terhadap pertambahan jumlah akar dan panjang akar eksplan citrumelo pada uji analisis ragam (Tabel 1), akan tetapi terdapat kecenderungan pertambahan jumlah akar dan panjang akar akibat adanya perbedaan konsentrasi nutrisi. Perbedaan pertumbuhan jumlah dan panjang akar tersebut diakibatkan berbedanya tekanan osmotik yang dipengaruhi oleh jumlah total konsentrasi nutrisi di dalam suatu larutan nutrisi (Morgan, 200 dalam Adimihardja *et al.*, 2011).

Rata-rata pertambahan jumlah akar dan panjang akar eksplan citrumelo terbesar terdapat pada media dengan konsentrasi nutrisi 50% yaitu pada media DKW, WPM, dan MS. Menurut George *et al.* (2008), bahwa media yang memiliki konsentrasi nutrisi yang rendah dengan tekanan osmotik potensial yang rendah atau menengah (mis.  $\frac{1}{4}$  atau  $\frac{1}{2}$  MS) dapat menunjang pertumbuhan akar lebih banyak dan lebih panjang agar dapat menyerap nutrisi. Akan tetapi pada media DKW 50

pertambahan jumlah akar masih lebih tinggi dibandingkan media WPM 50 dan MS 50. Menurut George (1993), media WPM merupakan media terbaik untuk pertumbuhan akar dengan konsentrasi  $\frac{1}{2}$  garam mineral dan 4% sukrosa. Perbedaan hasil penelitian tersebut, selain disebabkan oleh konsentrasi nutrisi yang rendah juga bisa disebabkan adanya peran dari unsur sulfur (S) dan fosfor pada media tumbuh yang dapat memicu perkembangan akar. Fungsi pemberian sulfur dapat memacu perkembangan akar atau sebagai proteksi tubuh tumbuhan (Dodds dan Roberts, 1983). Pemberian unsur fosfor dalam jumlah yang tinggi akan menambah jumlah akar yang lebih banyak dibanding jumlah tunas (Salisbury, 1995 dalam Puspitaningtyas dan Untari 2006). Hal tersebut lah yang memacu pertambahan jumlah akar dan panjang akar yang lebih tinggi pada media DKW. Selain disebabkan adanya perbedaan jumlah unsur yang terdapat di dalam media, juga dipengaruhi oleh komposisi vitamin.

Vitamin yang digunakan pada media perlakuan yaitu tiamin (Vit. B1). Tiamin memiliki peran terhadap pertumbuhan akar, karena tiamin bekerja sebagai koenzim yang dapat merangsang sintesis auksin (Widiastoety *et al.*, 2009). Pada media DKW

ketersediaan tiamin lebih tinggi dibandingkan media MS dan WPM. Hal tersebutlah yang mengakibatkan pertambahan akar pada media DKW lebih panjang. Jumlah akar dan panjang akar terendah terdapat pada media dengan konsentrasi 100% yaitu pada media MS, WPM, dan DKW. Rendahnya konsentrasi nutrisi menyebabkan jumlah akar dan panjang akar semakin meningkat, meskipun berdasarkan uji ragam tidak adanya pengaruh nyata terhadap jumlah akar dan panjang akar akibat perbedaan konsentrasi nutrisi. Namun demikian, laju pertumbuhan jumlah akar pada masing-masing media perlakuan menunjukkan adanya perbedaan (Gambar 5).

### KESIMPULAN

Berdasarkan laju pertumbuhan pada semua variabel pengamatan, pada media MS, DKW, dan WPM konsentrasi nutrisi 50% dapat mendukung pertumbuhan lambat pada planlet citrumeloselama 90 HST, dan media WPM sangat mendukung kegiatan konservasi *in vitro* untuk pertumbuhan lambat selama 90 HST.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) yang telah memberika dukungan financial terhadap penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adelberg, J., T. Driesse, S. Halloran, and W. C. Bridges. 2013.** Relationship Between Nutrients and Plant Density In Liquid Media During Micropropagation and Acclimatization of Turmeric. *Journal In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 49(11):724-736.
- Adimihardja, S., A. Setyono, dan Nurkhotimah. 2011.** Pertumbuhan dan Produksi Tiga Varietas Tanaman Pak Choy (*Brassica chinensis* L.) Pada Berbagai Nilai Electrical Conductivity Larutan Hidroponik. *Jurnal Pertanian*. 2(1):39-44.
- Bell, R., L. C. Srinivasa, and D. Lomberk. 2009.** Effect Of Nutrient Media On Axillary Shoot Proliferation And Preconditioning For Adventitious Shoot Regeneration Of Pears. *Journal In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 45(5):708-714.
- Darwati, I., dan Rohimatun. 2011.** Pertumbuhan Akar Rambut Purwoceng pada Beberapa Komposisi Media dan Sumber Karbon. *Jurnal Buletin Litro*. 2(22):166-167.
- Doods, and Robert. 1983.** Experiments in Plant Tissue Culture. New York: Press Syndicate Of The University Of Cambridge.
- George, E. F. 1993.** The Components Of Culture Media In Plant Propagation by Tissue Culture. 1(2). England: Exgetics Ltd.
- George, E. F., M. A. Hall, and G. J. D. Klerk. 2008.** The Components of Plant Tissue Culture Media I : Macro- and Micro Nutrients. 3. Edited by Springer. United Kingdom.
- Kaviani, B. 2011.** Conservation Of Plant Genetic Resources By Cryopreservation. *Journal Of Crop Science*. 5(6):778-800.
- Lonardo, S. D., dan M. Capuana. 2013.** In Vitro Conservation of Chestnut (*Castanea sativa*) by Slow Growth. *Journal In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 49(6):605-610.
- Mathur, A., P. Verma., A. K. Mathur., dan S. P. Jain. 2011.** In Vitro Conservation Of Twenty-Three Overexploited Medicinal Plants Belonging To The Indian Sub Continent. *Journal Scientific World*. 5(6):650-661
- Molinari, H. B. C., J. C. Besspalhok, A. K. Kobayashi, L. F. P. Pereira, and L. G. E. Vieira. 2004.** Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of swingle citrumelo (*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) Using Thin Epicotyl Section. *Journal Scientia Horticultura*. 99(3):379-385.

- Pittenger, D. R. 2015.**Agriculture And Natural Resource. California Master Gardener Handbook. California: University Of California.
- Purnomo, Sukarmin, Karsinah, D.Djatmiadi, Nurhadi, Sunyoto, dan Sudjijo. 2000.**Varietas Unggul Batang Bawah Jeruk. *Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.* Solok: Balai Penelitian Tanaman Buah. 15-16.
- Puspitaningtyas, D. M., dan R.Untari. 2006.**Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur in Vitro." *Jurnal Biodiversitas.*7(3):344-348.
- Tokoporo, G. L., A. A.Elhassan, and M.A.Ali. 2013.**Effect Of Nutrient Medium Concentration And Temperature On Short-Term In Vitro Conservation Of Shoot-Tip Explant Of Banana. *Journal JONARES.*1(6):37-40.
- Tucker, D. P. H., S.M.Garnsey, and W.S.Castle. 2001.**Budunion Incompatibilities and Associated Declines Observed In Florida Among Trees On Swingle Citrumelo and Other Trifoliate Orange-Related Rootstocks. *Procciding Florida State Hortikultural Society.*121-127.
- Tyas, K. N., S.Susanto, I. S Dewi, dan N Khumaida. 2013.**Konservasi In Vitro Pamelos (*Citrus maxima* (Burm.) Merr. Melalui Pertumbuhan Lambat. *Jurnal of Agronomy.* 41(1): 32-39.
- Warseno, T. 2015.**Konservasi ex Situ secara in vitro jenis-jenis tumbuhan langka dan kritis di kebun raya "Eka Karya" Bali. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Karya. *Jurnal Buletin Litro.* 1(5):1075-1082.
- Widyastoeti. 2000.**Pelestarian Tanaman Pangan Dengan Teknik Kultur In Vitro." *Jurnal Teknik Lingkungan.* 1 (3):206-270.
- Yunita, R. 2004.**Multiplikasi Tunas Melinjo (*Gnetum gnemon*) Secara In Vitro. *Jurnal Pertanian.* 3(1):1-8.