

Respon Pertumbuhan Biji Jeruk Keprok *Citrus reticulata* Blanco Pada Beberapa Teknik Sterilisasi

Mustika Tuwo^{1*}, Elis Tambaru¹, Nicen Marianty¹

¹*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar 90245, Indonesia*

email: mustikatuwo@gmail.com

Abstrak

*Jeruk keprok selayar *Citrus reticulata* Blanco adalah salah satu varietas unggul asal Sulawesi Selatan dan merupakan jeruk keprok pertama yang didaftarkan sebagai varietas unggul di Indonesia sehingga sangat potensial untuk dikembangkan. Dalam usaha memenuhi kebutuhan jeruk, teknik kultur in vitro menjadi alternatif perbanyakan tanaman karena dengan teknik ini dapat diperoleh tanaman berkualitas, seragam dan cepat dengan jumlah yang banyak. Namun, kontaminasi merupakan salah satu factor pembatas sehingga dibutuhkan kajian teknik sterilisasi yang efektif menghasilkan eksplan steril dan memiliki respon pertumbuhan. Penelitian ini menggunakan eksplan dari biji yang diekstrak dari buah jeruk keprok selayar *Citrus reticulata* Blanco. yang disterilisasi dengan tiga teknik sterilisasi. Pengamatan dilakukan terhadap waktu muncul kontaminasi (HST), persentase eksplan hidup (%) dan waktu muncul tunas (HST) sampai eksplan berumur 8 minggu setelah tanam atau 56 hari setelah tanam (hst). Data yang diambil kemudian dianalisis menggunakan software Microsoft Office Excel Worksheet. Hasil penelitian menunjukkan teknik sterilisasi 3 (fungisida, NaClO dan alkohol 96%) menghasilkan eksplan biji jeruk keprok selayar steril dengan persentase eksplan hidup 64% dan menunjukkan respon pertumbuhan melalui pembentukan tunas yang muncul 17 hari setelah tanam (HST).*

Kata kunci: *bahan sterilan; eksplan; keprok selayar; mikropropagasi; steril*

PENDAHULUAN

Jeruk keprok *Citrus reticulata* Blanco merupakan jeruk lokal unggulan dan dikenal sebagai jeruk mandarannya Indonesia. Jeruk keprok sangat disukai oleh masyarakat karena mempunyai rasa manis segar sedikit asam, warna kulit buahnya menarik dan kulit mudah memisah dari bagian dalam jeruk sehingga mudah dikupas (Siregar, 2019). Pengembangan jeruk keprok lebih sedikit dibandingkan dengan jeruk siam, hal itu dikarenakan beberapa varietas membutuhkan agroklimat tertentu. Beberapa jenis jeruk keprok yang terkenal di Indonesia diantaranya keprok brastepu, keprok batu 55, keprok terigas, keprok gayo, keprok siompu, keprok selayar, keprok kacang, keprok maga dan

keprok soe (Balijestro, 2020). Jeruk keprok selayar adalah salah satu varietas unggul asal Sulawesi Selatan dan merupakan jeruk keprok pertama yang didaftarkan sebagai varietas unggul di Indonesia. Jeruk ini dinamakan jeruk selayar karena memang pertama kali dikembangkan oleh para petani di Kepulauan Selayar (Balijestro, 2019). Pada saat ini, jeruk keprok selayar banyak dikembangkan di Kabupaten Bantaeng, Jeneponto dan Bulukumba yang umumnya merupakan dataran rendah (Arzam & Baba, 2018).

Permintaan jeruk yang meningkat berbanding lurus dengan tingginya kebutuhan jeruk di dalam negeri, sehingga pengembangan jeruk unggulan lokal seperti jeruk keprok selayar memiliki prospek potensial untuk memenuhi kebutuhan jeruk di dalam negeri dan membendung tingginya impor jeruk (Sudirman & Basri, 2013; Kementerian Pertanian, 2016). Dalam usaha memenuhi kebutuhan jeruk, teknik kultur jaringan (kultur *in vitro*) menjadi alternatif perbanyak tanaman karena dengan teknik ini dapat diperoleh tanaman berkualitas, seragam dan cepat dengan jumlah yang banyak (Loi *et al.*, 2020). Pemilihan media kultur jaringan merupakan kunci sukses dalam kultur jaringan. Hal ini mendorong banyaknya kajian mengenai modifikasi media yang memberikan respon pertumbuhan yang berbeda tergantung jenis tanaman yang dikultur (Sitorus *et al.*, 2011). Selain itu, keberhasilan kultur jaringan tanaman juga dipengaruhi oleh kontaminasi (Munarti & Kurniasih, 2014; Yusnita 2015) yang penyebabnya adalah sumber kontaminan hidup yang melekat pada permukaan eksplan dan juga dapat terbawa saat pengambilan eksplan dari lapangan (Mihaljevic *et al.* 2013). Untuk mencegah kontaminasi diperlukan teknik sterilisasi yang tepat (Handayani, dkk., 2018).

Teknik sterilisasi bertujuan untuk mengeliminasi mikroba yang mungkin dapat berasal dari eksplan, botol atau alat-alat tanam yang kurang steril, ruang kultur kurang steril, maupun pada saat proses pengambilan dan pelaksanaan kultur (Elfiani & Jakoni, 2015; Sivanesan *et al.*, 2021). Keberhasilan sterilisasi ditentukan oleh ketepatan teknik sterilisasi, jenis bahan sterilan, waktu sterilisasi, dan konsentrasi bahan sterilan yang digunakan (Hesami *et al.*, 2019). Penggunaan bahan sterilan dengan konsentrasi yang kurang tepat tidak mematikan kontaminan, bahkan dapat menyebabkan kematian pada eksplan. Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan teknik sterilisasi yang efektif menghasilkan eksplan steril dan diharapkan adanya respon pertumbuhan biji jeruk keprok selayar terhadap teknik sterilisasi tersebut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji yang diekstrak dari buah jeruk keprok *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar, Sulawesi Selatan.

Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Media dibuat dengan menimbang 4.43 g/L media MS, kemudian ditambahkan sukrosa dan akuades steril hingga volume larutan mencapai 1 L lalu dihomogenkan. Mengukur pH media sampai 5.8 dengan pH meter. Jika kurang dari 5.8 maka ditambahkan dengan NaOH sedangkan jika lebih tinggi dari 5.8 dapat ditambahkan dengan HCL. Selanjutnya ditambahkan bioagar 7 g/L. Media kemudian dihomogenkan dan dipanaskan hingga semuanya larut. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol kultur steril dan ditutup rapat dengan menggunakan plastik yang diketatkan dengan karet gelang.

Media kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Rasud *et al.*, 2015).

Sterilisasi eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan 3 teknik sterilisasi yaitu:

Teknik sterilisasi 1:

Sterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih biji jeruk dengan air mengalir kemudian dicuci dengan detergen lalu direndam dalam larutan NaClO 20% selama 20 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Kemudian kulit biji jeruk dikupas dan direndam kembali dalam larutan NaClO 20% selama 20 menit kemudian ulangi sebanyak 2 kali. Setelah itu biji dibilas menggunakan aquades steril (Handayani *et al.*, 2020).

Teknik Sterilisasi 2:

Sterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih biji jeruk dengan air mengalir kemudian dicuci dengan detergen dan dibilas lagi sampai busanya hilang. Setelah biji dikupas kulit luarnya biji direndam dalam alkohol 96% selama 15 menit, dibilas 3 kali dengan aquades steril. Kemudian biji direndam dalam *tween* 80 selama 5 menit, dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali lalu direndam dalam larutan fungisida (Dithane-45) selama 15 menit, dibilas aquades steril sebanyak 3 kali. Biji direndam dalam larutan natrium hipoklorit (NaClO) selama 15 menit lalu dibilas lagi dengan aquades steril.

Teknik Sterilisasi 3:

Sterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih biji jeruk dengan air mengalir kemudian dicuci dengan detergen. Biji direndam dalam larutan fungisida (Dithane-45) dengan konsentrasi 2 g/l selama 10 menit. Selanjutnya biji direndam dalam larutan NaClO secara seri yaitu 10%, 5% dan 1%, masing-masing selama 10 menit, 5 menit dan 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali (Fatonah *et al.*, 2016). Selanjutnya biji direndam dalam alkohol 96% selama 30 detik dan dibilas dengan aquades steril. Kulit ari biji dibuang kemudian biji diletakkan dalam cawan petri menggunakan pinset steril (Corina *et al.*, 2014).

Penanaman

Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Eksplan ditanam pada media padat. Dalam satu botol kultur ditanam 4 eksplan. Setelah melakukan penanaman, semua botol kultur ditutup dengan plastik yang diketatkan dengan karet gelang lalu diberi label dan diletakkan pada rak kultur dalam ruang pemeliharaan (Corina *et al.*, 2014).

Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan menjaga kebersihan ruang kultur, memisahkan kultur yang terkontaminasi dari ruang kultur dan menyemprot ruangan dan botol-botol eksplan setiap hari dengan menggunakan alkohol 70 %. Kultur ditempatkan pada rak kultur dengan suhu ruangan $\pm 19-24^{\circ}\text{C}$ dan intensitas cahaya yang baik untuk pertumbuhan biji.

Analisis Data

Pengamatan dilakukan terhadap waktu muncul kontaminasi (HST), persentase eksplan hidup (%) dan waktu muncul tunas (HST) sampai eksplan berumur 8 minggu setelah tanam atau 56 hari setelah tanam (hst). Data yang diambil kemudian dianalisis menggunakan software (Microsoft Office Excel Worksheet).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kontaminasi merupakan faktor dominan yang mempengaruhi keberhasilan dalam teknik kultur jaringan terutama pada eksplan. Eksplan dari jenis tanaman yang berbeda, kadangkala berbeda pula teknik dan bahan sterilannya, sehingga perlu pengkajian (Fitriani, dkk., 2019). Metode sterilisasi yang tepat sangat dibutuhkan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* dan menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur (Lazo-Javalera *et al.*, 2016). Eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro* harus bebas kontaminan, seperti jamur dan bakteri. Selama proses sterilisasi, eksplan harus tetap hidup dan hanya kontaminan yang dihilangkan (Oyebanji *et al.*, 2009; Ardiansyah, dkk., 2014; da Silva *et al.*, 2015). Hal ini sesuai pernyataan Apriyana & Wahidah (2021) bahwa prinsip sterilisasi eksplan adalah mematikan mikroorganisme kontaminan tanpa mematikan jaringan eksplan. Ukuran dan umur eksplan juga mempengaruhi proses sterilisasi karena berkaitan dengan konsentrasi dan waktu dari bahan sterilan yang digunakan. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan teknik sterilisasi yang efektif menghasilkan eksplan steril yang juga menunjukkan respon pertumbuhan. Pada penelitian ini, proses sterilisasi pada biji jeruk keprok selayer *Citrus reticulata* Blanco dilakukan dengan tiga teknik sterilisasi.

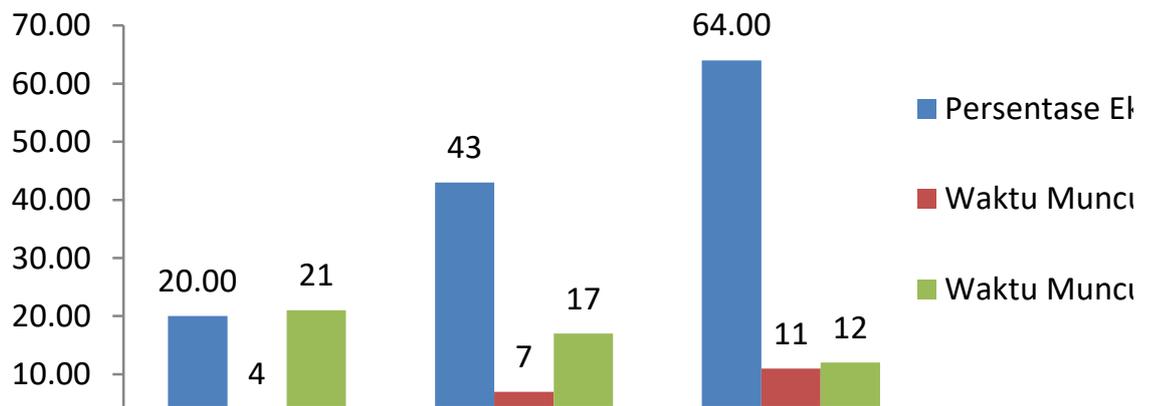
Tabel 1. Pengaruh Tiga Teknik Sterilisasi terhadap Biji Jeruk Keprok Selayar setelah 21 Hari Kultur

Teknik Sterilisasi	Waktu muncul kontaminasi (HST)	Persentase eksplan hidup (%)	Waktu muncul tunas (HST)
1	4	20	21
2	7	43	17
3	11	64	12

Keterangan: HST = Hari Setelah Tanam

Teknik sterilisasi 1 menggunakan bahan sterilan NaClO. Teknik sterilisasi 2 menggunakan alkohol 96%, tween 80, fungisida dan NaClO, serta teknik sterilisasi 3 menggunakan fungisida, NaClO dan alkohol 96%. Ketiga teknik sterilisasi menggunakan detergen pada tahap awal sterilisasi. Adanya deterjen akan mempermudah penetrasi sterilan dan mencegah terbentuknya gelembung udara yang menutupi permukaan jaringan (Wethrell, 1982).

Teknik sterilisasi 1 hanya menggunakan satu macam bahan sterilan NaOCl. Teknik sterilisasi 2 dan 3 masing-masing menggunakan empat dan tiga bahan sterilan. Pada proses sterilisasi kadangkala lebih efektif menggunakan dua atau lebih sterilan (Nursyamsi & Toaha, 2017; Ahmadpoor *et al.*, 2021). Hal ini terlihat pada persentase eksplan hidup tertinggi diperoleh pada teknik sterilisasi 3 sebesar 64%, teknik sterilisasi 2 diperoleh 43% dan terendah 20% diperoleh pada teknik sterilisasi 1 (Tabel 1). Meskipun demikian, proses sterilisasi dengan dua atau lebih bahan sterilan tetap memerlukan kajian untuk menentukan proses sterilisasi mana yang efektif (Gunawan, 1988; Cardoso & Imthurn, 2018).



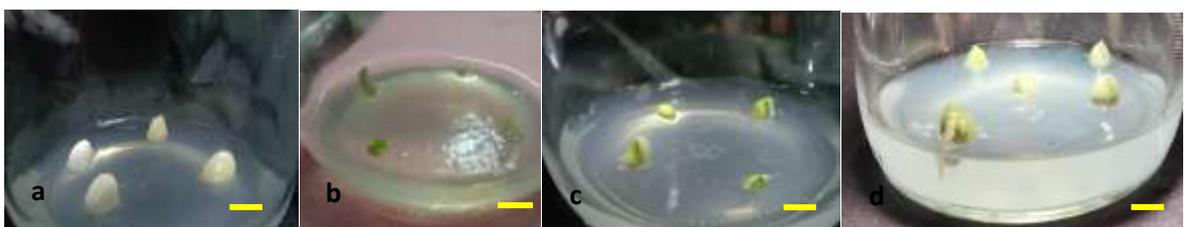
Gambar 1. Pengaruh Tiga Teknik Sterilisasi terhadap Biji Jeruk Keprok Selayar.

Natrium hipoklorit (NaClO) adalah desinfektan hipertonis menyebabkan mikroorganisme mengalami hidrolisis secara osmosis (Permatasari, 2012; Handayani, dkk., 2021). Kundu, dkk., (2017) melaporkan bahwa penggunaan bahan sterilan NaOCl dengan konsentrasi 5-10% selama 5-10 menit dapat digunakan untuk sterilisasi permukaan biji. Penggunaan natrium hipoklorit sangat efektif membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri (Safitri, dkk., 2021). Pada beberapa tanaman, NaClO sering digunakan karena terbukti efektif sebagai antimikroba. NaClO bekerja dengan memasuki jaringan hidup mikroba dan berperan dalam merubah biosintesis sel, memasuki metabolisme sel, merusak struktur fosfolipid, dan merusak jaringan organik pada sel-sel mikroba (Marion *et al.*, 012).

Bahan sterilan NACIO dan alkohol merupakan bahan sterilan yang umum digunakan dalam proses sterilisasi kultur *in vitro* (Halim *et al.*, 2016). Alkohol merupakan denaturasi protein yang memberikan aktivitas antimikroba efektif memecah protein yang ada dalam mikroorganisme (Handayani, 2018). Alkohol membunuh bakteri dengan mekanisme denaturasi protein sel bakteri (Setiani, dkk., 2018).

Tween merupakan bahan yang dapat ditambahkan ke dalam bahan sterilan untuk menurunkan tegangan permukaan larutan sehingga kontak dengan tanaman lebih baik dan bahan sterilan menjadi lebih efektif (Zulkarnain, 2009; Nursyamsi & Toaha, 2017).

Fungisida yang digunakan pada penelitian ini adalah dithane-45. Menurut Sari, dkk., (2014), dithane-45 mengandung bahan aktif mancozeb yang berspektrum luas yang menghambat enzim-enzim patogen pada tanaman. Fungisida dengan bahan aktif mancozeb adalah fungisida kontak yang umum digunakan dalam mengendalikan jamur pada permukaan tanaman. Fungisida ini tidak menimbulkan fitotoksik pada tanaman bila konsentrasi yang digunakan tidak berlebihan (Rianti, dkk., 2020).



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Biji Jeruk Keprok Selayar pada Media MS Setelah Perlakuan Teknik Sterilisasi 3. (a) 0 HST (b) (c) 12 HST(d) 17 HST. Bar= 1.0 cm. HST = Hari Setelah Tanam.

Berdasarkan waktu muncul tunas juga diperoleh pada teknik sterilisasi 3 (Gambar 2) tercepat 12 hari setelah tanam (HST) kemudian diikuti teknik sterilisasi 2 dan 3 masing-masing 17 HST dan 21 HST. Keberhasilan eksplan tumbuh tunas menunjukkan bahwa eksplan yang dikulturkan mampu beregenerasi dengan baik (Handayani, dkk., 2018).

KESIMPULAN

Teknik sterilisasi 3 menghasilkan eksplan biji jeruk keprok selayar steril dengan persentase eksplan hidup 64% dan menunjukkan respon pertumbuhan melalui pembentukan tunas yang muncul 17 hari setelah tanam (HST).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Universitas Hasanuddin atas dukungan dana melalui melalui Skim Penelitian Dosen Pemula Unhas (PDP) dengan nomor kontrak 1477/UN4.22/PT.01.03/2022. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadpoor, F., Zare, N., Asghari, R., and Sheikhzadeh, P., 2021. *Sterilization Protocols and the Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induction and Secondary Metabolites Production in In Vitro Cultures Melia azedarach L.* AMB Express. 12(3): 1-12.
- Apriliyana, R dan Wahidah, B. F., 2021. *Perbanyakan Anggrek Dendrobium sp. secara in vitro: Faktor-faktor Keberhasilannya.* Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi. 1(2): 33-46.
- Ardiansyah, R., Supriyanto, Wulandari, A. S., Subandy, B., dan Fitriani, Y., 2014. *Teknik Sterilisasi Eksplan dan Induksi Tunas dalam Mikropropagasi Tembesu (Fagraea fragrans Roxb).* Jurnal Silviculture Tropika. 5(3): 167-173.
- Arzam, T.S. dan Baba, A.R.B., 2018, *Perbedaan Suhu Penyimpanan Terhadap Mutu Buah Jeruk Selayar.* Journal Tabaro. 2(1): 146-151.
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balijestro). 2019. *Kementan Dukung Pengembangan Jeruk Selayar.* <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/kementan-dukung-pengembangan-jeruk-selayar/>. (Diakses pada 19 Oktober 2021).
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balijestro). 2020. *Jenis Jeruk Yang Berkembang di Indonesia.* <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/jenis-jeruk-yang-berkembang-di-indonesia/>. (Diakses pada 19 Oktober 2021).
- Cardoso, J. C and Imthurn, A. C. P., 2018. *Easy and Efficient Chemical Sterilization of the Culture Medium for In Vitro Growth of Gerbera using Chlorine Dioxide (ClO₂).* Ornam. Hortic. 24(3): 218-224.
- Corina, I.P., Mukarlina dan Linda. 2014. *Respon Pertumbuhan Kultur Biji Jeruk Siam Seed (Citrus nobilis var. microcarpa) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan Benzilaminopurine (BAP).* Protobiont. 3(2): 120-124.
- da Silva, J. A. T., Winarto, B., Dobranszki, J., and Zeng, S., 2015. *Disinfection Procedures for In Vitro Propagation of Anthurium.* Folia Horticulturae. 27(1): 3-14.
- Elfiani dan Jakoni, 2015. *Sterilisasi Eksplan dan Sub Kultur Anggrek, Sirih Merah dan Krisan Pada Perbanyakan Tanaman Secara In Vitro.* Jurnal Dinamika Pertanian. 30(2): 117-124.
- Fitriani, Y., Wijana, G., dan Darmawati, I. A. P., 2019. *Teknik Sterilisasi dan Efektivitas 2,4-D Terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun Nilam (Pogostemon cablin Benth) In Vitro.* J. Agric. Sci. and Biotechnol. 8(1): 41-52.

- Gunawan, L.W., 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Lab. Kultur Jaringan Tanaman Depdikbud Dirjen Dikti, PAU Bioteknologi, IPB Bogor.
- Halim, M. A., Alam, M. F., Rahman, M. H., Hossain, M. B., and Uddin, M. B., 2016. *Sterilization Process for In Vitro Regeneration of Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*. International Journal of Business, Social and Scientific Research. 4(4): 320-323.
- Handayani, R. S., Ismadi, Sayuti, M., dan Hasyim, C. R., 2018. *Pengaruh Bahan Sterilan Etanol dan Merkuri Klorida terhadap pertumbuhan Eksplan Tunas Durian (Durio zibethinus) Secara In Vitro*. Prosiding Forum Komunikasi Perguruan Tinggi Pertanian Indonesia (FKPTPI), Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. 271-276.
- Handayani, I., Nazirah, L., Ismadi, Rusdi, M. dan Handayani, R.S., 2020. *Pengaruh Konsentrasi BAP Pada Perkecambahan Biji Pamelon Asal Aceh Secara In-Vitro*. Jurnal Agrium. 17(2): 146-155.
- Handayani, E., Irsyadi, M. B., Aris, I., Alawiyah, R. L. M. N., Ayuningtias, N., Permatasari, F., dan Rineksane, I. A., 2021. *Optimasi Sterilisasi Endosperma Kepel (Stelethocarpus burahol [Bl] Hook F. & Th) Secara In Vitro*. Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi. 6(2): 113-121.
- Hesami, M., Naderi, R., and Tohidfar, M., 2019. *Modeling and Optimizing in vitro Sterilization of Chrysanthemum via Multilayer Perceptron Non-dominated Sorting Genetic Algorithm-II (MLP-NSGAI)*. Front. Plant Sci. 10(282): 1-13.
- Kementerian Pertanian. 2016. *Outlook Jeruk*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Kundu, M., Pathak, J., and Sahni, S., 2017. *Embryo Culture and Endosperm Culture*. Ppp. 125–40 in Plant Biotechnology.
- Lazo-Javalera, M. F., Troncoso-Rojas, R., Tiznado-Hernandez, M. E., Martinez-Tellez, M. A., Vargas-Arispuro, I., Islas-Osuna, M. A., and Rivera-Dominguez, M., 2016. *Surface Disinfection Procedure and In Vitro Regeneration of Grapevine (Vitis vinifera L.) Axillary Buds*. SpringerPlus. 5(453).
- Loi, E., Manurung, A.I. dan Sirait, B.A., 2020. *Pengaruh Thidiazuron dan Sukrosa terhadap Pembentukan Umbi Mikro Asal Stek Kentang (Solanum tuberosum L.) pada Media MS secara In Vitro*. Jurnal Agrotekda. 2(2): 55-69.
- Marion, J. J. C., Manhaes, F. C., Bajo, H., and Duque, T. M., 2012. *Efficiency of Different Concentration of Sodium Hypochlorite During Endodontic Treatment*. Dental Press Endodontics. 2(4): 32-37.
- Mihaljevic, I., Dugalic, K., Tomas, V., Viljevac, M., Pranjic, A., Cmelic, Z., Puskar, B., and Jurkovic, Z., 2013. *In Vitro Sterilization Procedures For Micropropagation Of 'Oblačinska' Sour Cherry*. Journal of Agricultural Sciences. 58(2): 117-126.
- Munarti dan Kurniasih, S., 2014. *Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Stek Mikro Kentang Secara In Vitro*. Jurnal Pendidikan Biologi. 1(1): 17-25.
- Nursyamsi dan Toaha, A. Q., 2017. *Tahapan Sterilisasi dan Skarifikasi Benih Kayu Kuku (Pericopsis mooniana THW) Untuk Mempercepat Perkecambahan Secara In Vitro*. Info Teknis Eboni. 14(1): 11-21.
- Oyebanji, O.B., Nweke, O., Odebunmi, O., Galadima, N.B., Idris, M.S., Nnodi, U.N., Afolabi, A.S., Oghadu, G.H., 2009. *Simple, Effective and Economical Explant-Surface Sterilization Protocol for Cowpea, Rice and Sorghum Seeds*. African Journal of Biotechnology. 8(20): 5395-5399.
- Rasud, Y., Ulfa, S. dan Baharia. 2015. *Pertumbuhan Jeruk Manis (Citrus sinensis L.) Dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sitokinin secara In Vitro*, J. Agroland. 22(3): 197-204.

- Rianti, D. E., Apriani, I., dan Sunarti, R. N., 2020. *Pengaruh Pemberian Fungisida Mancozeb Terhadap Teknik Sterilisasi Tanaman Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) Secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan. 3(1): 416-427.
- Safitri, K., Swandari, T., dan Setyorini, T., 2021. *Optimasi Teknik Sterilisasi dan Induksi Kalus Eksplan Daun Gloxinia speciosa secara In-Vitro Menggunakan BAP dan 2,4-D*. Seminar Nasional dalam Rangka Dies Natalis ke-45 UNS Tahun 2021. 5(1): 201-213.
- Sari, E.M., Suwirman dan Noli, Z.Z., 2014. *Pengaruh Penggunaan Fungisida (Dithane M-45) Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (Zea mays L.) dan Kepadatan Spora Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA)*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 3(3): 188-194.
- Setiani, N. A., Nurwinda, F., dan Astriany, D., 2018. *Pengaruh Desinfektan dan Lama Perendaman Pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (Artocarpus altilis (Parkinson ex. F. A Zorn) Fosberg)*. Biotropika: Journal of Tropical Biology. 6(3): 78-82.
- Siregar, S.D., 2019. *Kementrian Pertanian, Teknologi Budidaya Jeruk Keprok*. <http://cybex.pertanian.go.id/mobile/artikel/86440/Teknologi-Budidaya-Jeruk-Keprok/> (Diakses pada 02 Oktober 2021).
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D. dan Setiari, N., 2011. *Induksi Kalus Binahong (Basella rubra L.) Secara In Vitro Pada Media Murashige & Skoog Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda*. BIOMA. 13(1).
- Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., Tasneem, S., Kim, D., and Oh, J., 2021. *A Fumigation-Based Surface Sterilization Approach for Plant Tissue Culture*. International Journal of Environmental Research and Public Health. 18(2282): 1-11.
- Sudirman, H. dan Basri, A., 2013. *Dampak Sosial Ekonomi Pengembangan Jeruk Keprok Selayar (Studi Kasus Di Kelurahan Bontolangkasa, Kecamatan Bissappu, Kabupaten Bantaeng)*. Jurnal Agrisistem. 9(1): 77-89.
- Wetherell, D. F., 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Koensomardiyah S. SU, penerjemah; IKIP Semarang Press, Semarang. Terjemahan dari: *Introduction to In Vitro Propagation*.
- Yusnita, 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Penerbit Aura Publishing, Bandar Lampung.
- Zulkarnain, H., 2009. *Kultur jaringan Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara, Jakarta.