

**VARIASI KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI MIKROSPORA
EMBRIOGENIK PADI KULTIVAR SLAM
SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi



Oleh
LITHA CITRA DEWI
08071004048

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
JULI 2011**

R. 23203 / 23758

**VARIASI KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI MIKROSPORA
EMBRIOGENIK PADI KULTIVAR SIAM
SECARA *IN-VITRO***



SKRIPSI
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi

S
Sf. 86-7

Vit

v
2011

G. 11219^a



Oleh

LITHA CITRA DEWI
08071004048

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
JULI 2011**

LEMBAR PENGESAHAN

**VARIASI KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI MIKROSPORA
EMBRIOGENIK PADI KULTIVAR SIAM
SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**

**Oleh
Litha Citra Dewi
08071004048**

Indralaya, 13 Juli 2011

Pembimbing II,


Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si.
NIP.19710911 199903 1 004

Pembimbing I,


Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si
NIP. 19640711 198903 2 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Zazli Hanafiah, M.Sc
NIP.19590909 198703 1 004

MOTTO

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap"
(Alam Nasyrat: 6-8)

Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali tampak mustahil; kita baru yakin kalau kita telah berhasil melakukannya dengan baik.
(Evelyn Underhill)

Ku persembahkan karyaku untuk:

*Dienku (Al Islam)
Mama dan Papaku tercinta
Adik-adikku tersayang
Eko Purwanto S.E.
Almamaterku*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga skripsi yang berjudul **Variasi Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Mikrospora Embriogenik Padi kultivar Siam secara *In-vitro*** dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Terima kasih dan rasa hormat kepada mama dan papa atas cinta, kasih sayang, semangat dan doanya. Terima kasih kepada Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si. dan Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si. sebagai pembimbing yang telah memberi perhatian, bimbingan dan pengarahan dengan penuh kesabaran, serta keikhlasan dalam meluangkan waktu, tenaga dan pikiran sehingga selesainya penulisan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan semua pihak, untuk itu pada kesempatan ini terima kasih disampaikan kepada yang terhormat:

1. Drs. M. Irfan, M.T selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya..
2. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya
3. Dra. Muharni, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Biologi terima kasih atas bimbingan dan bantuannya selama ini.
4. Dwi Puspa Indriani, M.Si. selaku Bendahara Jurusan Biologi terima kasih atas bantuannya dalam administrasi selama ini.
5. Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si. atas pembiayaan penelitian melalui Program Doktor.

6. Dra. Harmida, M.Si. dan Drs. Juswardi, M.Si. selaku dosen pembahas, terima kasih atas kritik dan saran serta waktu yang diberikan.
7. Dra. Harmida, M.Si. selaku Pembimbing Akademik, terima kasih atas pengarahan dan perhatiannya selama menempuh pendidikan di jurusan Biologi.
8. Seluruh Staff Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya.
9. Seluruh Staff Tata Usaha Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya.
10. Adik-adikku (Bella Ariestantia, Niken Adhetya, Rizki Amelia, Linda Agustina) dan Eko Purwanto serta keluarga besarku terima kasih atas semua doa, dukungan semangat serta pengorbanannya selama ini.
11. Sahabat-sahabatku (Masayu, Nyayu, Dewi, Istantina, Nur Adian, Evi, Fenty, Viona, Fahri, Putri Septia, Anton) atas kebersamaannya.
12. Keluarga besar Biologi terutama “Bioers ‘07”.

Penulis menyadari skripsi ini masih terdapat kekurangan sehingga diharapkan kritik maupun saran. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Inderalaya, Juli 2011

Penulis

VARIATION OF 2,4-D CONCENTRATION ON INDUCTION OF EMBRYOGENIC MICROSPORES IN RICE CULTIVAR SIAM BY *IN-VITRO*

By:
LITHA CITRA DEWI
08071004048

ABSTRACT

The research about variation of 2,4-D concentration on Induction of embryogenic microspores in Siam cultivar of rice by *in-vitro* was done from Desember 2010 to July 2011, at the Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Sriwijaya. This research aims to determine the response of varying the concentration of 2,4-D on induction of embryogenic microspores in rice cultivar Siam cultivars by *in-vitro*. This research used Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments of 2,4-D concentration, without 2,4-D (a control), 1 mg^l⁻¹, 10 mg^l⁻¹, 25 mg^l⁻¹ and 40 mg^l⁻¹. The repetition of each treatments was 6 times. The results of this research showed that variations of 2,4-D concentrations significantly affect the viability and microspore embryogenesis. 2,4-D at low concentration (1 mg^l⁻¹) was not effective in induction of embryogenic microspores. On the 2,4-D 10 mg^l⁻¹, the percentage of embryogenic microspores more high in comparison than 2,4-D 1 mg^l⁻¹ and 40 mg^l⁻¹. But more low in comparison with 2,4-D 25 mg^l⁻¹. 25 mg^l⁻¹ 2,4-D is optimum concentration of 2,4-D to induce and increase the percentage of embryogenic microspores. The low percentage of viable and embriogenic microspores found on 2,4-D 40 mg^l⁻¹ treatment. The characteristic of embryogenic microspores showed fragmentation of vacuola and star-like structures.

Keywords: 2,4-D, embryogenic microspores, rice cultivars Siam, *in-vitro*

**VARIASI KONSENTRASI 2,4-D TERHADAP INDUKSI MIKROSPORA
EMBRIOGENIK PADI KULTIVAR SIAM
SECARA *IN-VITRO***

**Oleh:
LITHA CITRA DEWI
08071004048**

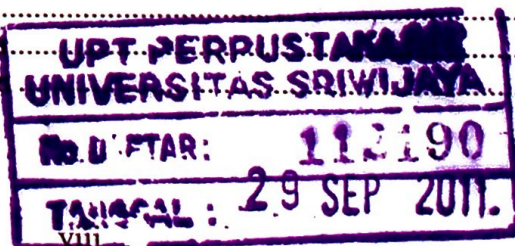
ABSTRAK

Penelitian tentang Variasi Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Mikrospora Embriogenik Padi kultivar Siam secara *In-vitro* telah dilaksanakan pada bulan Desember 2010 sampai dengan Juli 2011, bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons variasi konsentrasi 2,4-D terhadap induksi mikrospora embriogenik padi kultivar Siam secara *in-vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan, yaitu tanpa 2,4-D (sebagai kontrol), 2,4-D 1 mg/l, 2,4-D 10 mg/l, 2,4-D 25 mg/l dan 2,4-D 40 mg/l. Penelitian dilakukan dengan 6 kali perulangan untuk masing-masing perlakuan. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap viabilitas dan embriogenesis mikrospora. Penggunaan 2,4-D konsentrasi rendah (1 mg/l) tidak efektif dalam menginduksi mikrospora embriogenik. Pada 2,4-D 10 mg/l, persentase mikrospora embriogenik lebih tinggi dibandingkan dengan 2,4-D 1mg/l dan 40 mg/l, tetapi lebih rendah dibandingkan dengan 2,4-D 25 mg/l. Konsentrasi 25 mg/l merupakan konsentrasi optimum penggunaan 2,4-D untuk menginduksi dan meningkatkan persentase mikrospora embriogenik. Persentase mikrospora viabel dan embriogenik terendah didapatkan pada perlakuan 2,4-D 40 mg/l. Karakteristik mikrospora embriogenik ditunjukkan dengan adanya fragmentasi vakuola dan membentuk struktur seperti bintang.

Kata Kunci: 2,4-D, mikrospora embriogenik, padi kultivar Siam, *in-vitro*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Hipotesis.....	4
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Padi Kultivar Siam	6
2.2. Kultur <i>In-vitro</i>	7
2.3. Kultur Mikrospora.....	8
2.4. Embriogenesis Mikrospora	11
2.5. 2,4-D (2,4-Dikloro fenoksiasetat)	15
2.6. Manitol	16
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat	18
3.2. Alat dan Bahan.....	18
3.3. Rancangan Percobaan	18
3.4. Cara Kerja	19
3.5.1. Sterilisasi Alat	19
3.5.2. Pembuatan Media.....	19
3.5.3. Persiapan Eksplan	20



3.5.4. Penanaman Eksplan	20
3.5.5. Pemeliharaan Kultur.....	20
3.5.6. Pengamatan Mikrospora.....	20
3.5. Variabel Pengamatan	21
3.6. Analisis Data	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Viabilitas Mikrospora.....	22
4.2. Persentase Mikrospora Embriogenik	25
4.3. Morfologi Mikrospora.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	35
5.2. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rata-rata persentase mikrospora viabel padi kultivar Siam terhadap variasi konsentrasi 2,4-D secara <i>in-vitro</i>	22
Tabel 2. Rata-rata persentase mikrospora embriogenik padi kultivar Siam terhadap variasi konsentrasi 2,4-D secara <i>in-vitro</i>	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Padi kultivar Siam	6
Gambar 2. Siklus Sel.....	12
Gambar 3. Mekanisme Induksi Embriogenesis Mikrospora.....	13
Gambar 4. Androgenesis.....	14
Gambar 5. Struktur 2,4-D.....	15
Gambar 6. Mikrospora uni-nukleat akhir pada perlakuan kontrol.....	31
Gambar 7. Mikrospora viabel dan non-viabel pada perlakuan kontrol.....	31
Gambar 8. Mikrospora uni-nukleat akhir pada perlakuan 2,4-D	32
Gambar 9. Mikrospora embriogenik pada perlakuan 2,4-D 25 mg/l	33
Gambar 10. Mikrospora non-embriogenik pada perlakuan 2,4-D	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Analisis statistika viabilitas dan embriogenik mikrospora padi kultivar siam terhadap variasi konsentrasi 2,4-D secara <i>in-vitro</i>	41
Lampiran 2. Gambar padi kultivar Siam	43

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* Linn.) merupakan tanaman pangan yang sangat penting di dunia, melebihi kentang, jagung, gandum dan sereal lainya. Tanaman ini dipertimbangkan sangat penting kehadirannya di dunia, karena merupakan pangan pokok bagi lebih dari setengah penduduk dunia (Lu 1999 dalam Widiyanti *et al.* 2006: 1).

Padi kultivar Siam merupakan salah satu varietas padi rawa lokal asal Indonesia yang sering ditanam di sawah pasang surut. Padi kultivar Siam mempunyai bentuk malai yang ramping dan panjang. Padi ini membutuhkan empat bulan masa pembibitan dan umur padi siap panen mencapai 5-6 bulan sejak bibit ditanam. Beras dari padi kultivar Siam mempunyai rasa yang pulen dan aroma yang khas (Sudrajat & Tjandra 2010: 1). Pemuliaan padi kultivar Siam harus ditingkatkan. Pemuliaan tanaman merupakan kegiatan untuk mengubah susunan genetik tanaman secara tetap sehingga memiliki sifat atau penampilan sesuai dengan tujuan yang diinginkan pelakunya (Ria 2009: 1).

Salah satu teknik kultur jaringan yang digunakan dalam pemuliaan tanaman padi yaitu kultur mikrospora. Kultur mikrospora adalah kultur aseptik untuk memproduksi tanaman haploid dari mikrospora. Kultur mikrospora merupakan suatu metoda untuk memproduksi galur-galur murni yang homozigot dengan waktu yang relatif lebih

cepat dibandingkan dengan metoda konvensional yang memerlukan beberapa generasi (Muslim 2009: 1).

Galur-galur murni digunakan untuk memperoleh tanaman varietas unggul dengan keragaman genetik dan sifat-sifat agronomis yang diinginkan. Galur-galur murni diperoleh dengan menggandakan kromosom dari tanaman haploid secara *in-vitro*. Tanaman haploid ganda homozigot (galur murni) dengan sifat-sifat yang unggul dari tanaman heterozigot segera dapat diperoleh pada generasi pertama (Dewi *et al.* 2007: 68). Secara konvensional, untuk menghasilkan varietas unggul yang diinginkan diperlukan prosedur penelitian yang sistematis, mulai dari pemilihan tetua, persilangan, seleksi galur, pengujian daya benih, perbanyakan benih, dan pelepasan varietas unggul (Fehr 1987 *dalam* Dewi & Purwoko 2001: 59).

Prinsip dasar dari kultur mikrospora adalah menginduksi mikrospora menjadi embriogenik dengan cara membelokkan arah perkembangan gametofitik ke arah sporofitik sehingga menghasilkan embrio yang bersifat haploid. Fenomena ini dikenal dengan nama embriogenesis mikrospora (androgenesis) (Raghavan 1997 *dalam* Wahidah 2010: 2).

Perkembangan normal gametofit tanaman berbunga, mikrospora akan berdiferensiasi menjadi polen dan menghasilkan 2 sel sperma yang akan tereduksi apabila tidak mengalami pembuahan. Sedangkan pada perkembangan sporofitik, sel mikrospora akan menghasilkan embrio dan plantlet dengan jumlah kromosom haploid (Rosmini 1999: _). Indrianto *et al.* (2004: 133) menyatakan bahwa pada perkembangan gametofitik, mikrospora membelah secara asimetris sedangkan pada

perkembangan sporofitik, mikrospora membelah secara simetris untuk membentuk embrio.

Perubahan jalur gametofitik ke arah sporofitik dapat diinduksi dengan mengaplikasikan beberapa cekaman. Cekaman akan mendorong embriogenesis atau merangsang perkembangan ke arah sporofitik. Agen cekaman yang digunakan beragam. Cekaman yang paling sering digunakan adalah suhu panas dan pelaparan, tetapi spesies yang berbeda mungkin memerlukan faktor fisik atau kimia tertentu atau kombinasi dari faktor fisik dan kimia (Segui-Simaro 2008: 3).

Ada beberapa tipe cekaman, yaitu temperatur rendah dan temperatur tinggi, starvasi gula, cekaman osmotik, penggunaan kolkisin dan penggunaan 2,4-D pada konsentrasi tinggi (Shariatpanahi 2006: 519). Cekaman penting untuk induksi androgenesis pada tanaman, termasuk tanaman sereal (Bhojwani *et al.* 2006: 2).

Penggunaan 2,4-D tidak hanya sebagai auksin, tetapi 2,4-D juga berperan sebagai herbisida pada konsentrasi tinggi. 2,4-D sangat efektif sebagai herbisida karena sifat fitotoksitasnya yang tinggi (Salisbury & Ross 1995: 50). Pasternak (2002: 1808) menyatakan bahwa 2,4-D dianggap sebagai induser yang erat kaitannya dengan pembelahan sel dan diferensiasi, serta dalam induksi embriogenesis somatik. 2,4-D sangat efektif dalam induksi embriogenesis pada konsentrasi tinggi.

Konsentrasi 2,4-D yang tinggi sebagai induser eksternal berfungsi menyediakan informasi untuk pertama kalinya pada sebuah sel telur jagung yang tidak dibuahi untuk berkembang ke jalur sporofitik (Kranz *et al.* 1995: 19). 2,4-D diidentifikasi sebagai salah satu kunci induser pembangunan potensi embriogenik dalam sel somatik tanaman pada kultur *in-vitro* (Dudits *et al.* 1991: 475).

Penelitian ini menggunakan 2,4-D pada beberapa konsentrasi yang dikombinasikan dengan manitol 0,3 M. Penggunaan 2,4-D pada konsentrasi tinggi untuk memberikan efek cekaman terhadap mikrospora untuk memacu embriogenesis. Penelitian Kranz *et al.* (1995: 12) menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D pada konsentrasi tinggi (15 mg/l dan 25 mg/l) dapat meningkatkan secara signifikan embriogenesis sel telur jagung yang tidak dibuahi.

Pra-perlakuan dengan pemberian manitol pada medium kultur terbukti efektif menginduksi embriogenesis. Pemberian manitol 0,3 M mampu menginduksi embriogenesis somatik *Swainsona formosa* sebesar 2% (Zulkarnain 2004: 122). Lantos *et al.* (2006: 32) menyatakan bahwa manitol berperan sebagai cekaman osmotik yang dapat membelokkan jalur gametofitik ke jalur sporofitik.

1.2. Rumusan Masalah

Salah satu faktor yang dapat menginduksi embriogenesis adalah cekaman. Salah satu cekaman yang diduga efektif dalam induksi embriogenesis adalah penggunaan 2,4-D pada konsentrasi tinggi. Untuk itu, perlu diadakan penelitian tentang variasi konsentrasi 2,4-D terhadap induksi mikrospora embriogenik padi kultivar Siam secara *in-vitro*.

1.3. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah mikrospora akan menjadi embriogenik pada konsentrasi 2,4-D yang sesuai.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons variasi konsentrasi 2,4-D terhadap induksi mikrospora embriogenik padi kultivar Siam secara *in-vitro* melalui perhitungan persentase mikrospora viabel dan persentase mikrospora yang embriogenik, serta morfologi mikrospora.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai metode induksi mikrospora embriogenik dan referensi respons variasi konsentrasi 2,4-D terhadap induksi mikrospora embriogenik padi kultivar Siam secara *in-vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Unsur Hara Esensial. <http://id.wordpress.com/tag/fisiologi-tumbuhan/>. 18 Juli 2011.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Pengaruh Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP (6-Benzil Amino Purin) dan 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic Acid) terhadap Induksi Kalus secara *In-Vitro*. *Skripsi Sarjana Pertanian Bidang Studi Agronomi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. 40 hlm.
- Andriaty, Y. 2006. Karakteristik Kalus Embriogenik dan Akumulasi Prolin pada Kultur Antera Padi setelah Pra-perlakuan Cekaman manitol. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. 37 hlm.
- Bhojwani, S.S., H. Pande & A. Raina. 2006. *Factors Affecting Androgenesis in Indica Rice*. Department of Botany. University of Delhi. 1-12 hlm.
- Budiana. 2010. Induksi Pembelahan Sporofitik Mikrospora Kedelai melalui Kultur Antera pada Sistem Media Dua Lapis. *Tesis Pasca Sarjana IPB*. Bogor. xiv + 34 hlm.
- Dewi, I.S. & B.S. Purwoko. 2001. Kultur Antera untuk Mendukung Program Pemuliaan Tanaman Padi. *Bul. Agron*, 29(2): 59-63.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor & I.H. Somantri. 2007. Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Padi: Pengaruh Persilangan dan Aplikasi Putresin. *Bul. Agron*. 35(2): 68-74.
- Dudits, D., L. Bogre & J. Gyorgyey. 1991. Moleculer and Celuler Approaches to The Analysis of Plant Embryo Developmnet from Somatic Cells. *Journal of Cell Science*. 99: 475-484.
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. 62 hlm.
- Gozali, G. 2011. Manitol. <http://www.oocities.org/phadhe12/index.hm>. 18 Juli 2011.
- Hasibuan, A.M. 2010. Respons Kultur Embrio Tembesu (*Fragraea fragrans* Roxb.) pada Berbagai Macam Media dan Komposisinya secara *In-Vitro*. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. 56 hlm.

- Ihsan, I., S. Bano, J. Mussarat & R. Fazal. 2010. Mikropropagasi Padi (*Oryza sativa* L. CV SWAT-II) melalui Embriogenesis Somatik. <http://mediakulturjaringan.blogspot.com/2010/perbanyakankropopagasi-padioryza.html>. 27 September 2010.
- Indrianto, A., E. Semiarti & Surifah. 2004. Produksi Galur Murni melalui Induksi Embriogenik Mikrospora Cabai Merah Besar dengan Stres. *Zuriat*. 15(2): 133-139.
- Indrianto, A., Mirzawan PDN, Mangoendidjojo W. & Suaib. 2008. Respons Embriogenesis Mikrospora Tanaman Tebu (*Saccharum* spp.) pada Suhu dan Lama Inkubasi Cabang Malai di dalam Medium B. *Berk. Penel. Hayati*. 14: 63-72.
- Kozinka, V. & S. Klenovska. 1965. The Uptake of Mannitol by Higher Plants. *Biologia Plantarum*. 7(4) : 285-292.
- Kranz, E., Petra von Wiegand & H. Lorz . 1995. Early Cytological Events after Induction of Cell Division in Egg Cells and Zygote Development following In Vitro Fertilization with Angiospermae Gametes. *The Plant Journal*. 8(1): 9-23.
- Krisna, A.N. 2007. Pengaruh Konsentrasi Etilen dan Suhu Pemeraman terhadap Mutu Pepaya (*Carica papaya*, L.) IPB 1. *Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. 72 hlm.
- Lantos, C., S. Paricsi, A. Zofajova, J. Weyen & J. Pauk. 2006. Isolated Microspore Culture of Wheat (*Triticum aestivum* L.) with Hungarian Cultivars. *Acta Biologica Szegediensis*. 50(1-2): 31-35.
- Maraschin, S. F., W. de Priester, H.P. Spink & M. Wang. 2005. Androgenic Switch: an Example of Plant Embryogenesis from The Male Gametophyte Perspective. *Journal of Experimental Botany*. 56(417): 1711-1726.
- Mastegar. 2010. Teknik Kultur Jaringan. <http://www.membuatblog.web.id/2010/02/teknik-kultur-jaringan.html>. 25 April 2010.
- Muslim, A. 2009. Kultur Anthera (Mikrospora). <http://bloginvitro.blogspot.com>. 27 September 2010.
- Narulita, S. 2005. Induksi Kalus Gambir (*Uncaria gambir*) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Universitas Sriwijaya. 46 hlm.
- Pasternak, T.P., Els Prinsen, F. Ayaydin, Pal Miskolczi, G. Potters, Han Asard, H.A. Van Onckelen, D. Dudits & A. Feher. 2002. The Role of Auxin, pH, and Stress in the Activation of Embryogenic Cell Division in Leaf Protoplast-Derived Cells of Alfalfa. *Plant Physiology*. 129: 1807-1819.

- Prayudi, B. 2000. Toleransi Padi Lokal Rawa Pasang Surut terhadap Penyakit Hawar Pelepah Daun Padi (*Rhizoctonia solani*). *Bul. Agron.* 28(2): 37-40.
- Puspita, L., E. Ratnawati, I N. N. Suryadiputra & A. A. Meutia. 2005. Lahan Basah Buatan di Indonesia. <http://www.scribd.com/doc/54823606/9/Pertanian-di-Lahan-Gambut-dengan-Sistem-Surjan>. 06 Agustus 2011.
- Ria, E. 2009. Kultur Anther Tanaman Padi dan Asparagus. <http://enzel-ria.blogspot.com/2009/10/kultur-anther-tanaman-padi-dan.html>. 27 September 2010.
- Rosmini, H. 1999. Penampilan Daya Hasil Galur Padi di Lahan Pasang Surut. *Laporan Hasil Penelitian 1999/2000*. Balittra Banjarbaru.
- Salisbury, F.B & C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid III. Edisi IV. D.R Lukman, Sumargono & S. Niksolihin (Penerjemah). ITB. Bandung. 16a + 343 hlm.
- Santosa, D. 2004. Propagasi Tumbuhan Obat dengan Kultur Mikrospora. <http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/48Pak%20Djoko%20Mikrospora%20Revisi.pdf>. 17 Maret 2011.
- Sasmita, P. 2007. Aplikasi Teknik Kultur Anthera pada Pemuliaan Tanaman Padi. *Apresiasi Hasil Penelitian Padi 2007*. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 595-609 hlm.
- Segui-Simarro J.M. & F. Nuez. 2008. How Microspores Transform into Haploid Embryos: Changes Associated with Embryogenesis Induction and Microspore Derived Embryogenesis. *Physiologia Plantarum*. 134: 1-12.
- Shariatpanahi, M. E., U. Bal, Heberle-Bors E. & A. Touraev. 2006. Stresses Applied for The Re-programming of Plantmicrospores Towards In Vitro Embryogenesis. *Physiologia Plantarum*. 127: 519-534.
- Sitinjak, R. R. 2006. Pengaruh 2,4-D dan BA terhadap Induksi Kalus Embriogenik pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Berita Biologi*. 8(2): 115-120 hlm.
- Sudrajat, D. & T. Dewi. 2010. Padi Baru dari Dermaga. <http://www.tempointeraktif.com/teknologi>. 07 Desember 2010.
- Sugiri, A. 2005. Pembentukan Kalus Embrioid Kultur Ovary Pisang melalui Beberapa Komposisi Media Kultur. *Jurnal Falsafah Sains Program Magister*. (1): 1-8.
- Tabin, A. 2010. Klasifikasi Padi (*Oryza sativa* L.). <http://amintabin.blogspot.com/2010/09/klasifikasi-padi-oryza-sativa-l.html>. 25 November 2010.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta: x + 266 hlm.

- Wahidah, B. F. 2010. Pengaruh Stres pelaparan dan Suhu Tinggi terhadap Induksi Embriogenesis Mikrospora Tembakau. *Zuriat*. 14(1): 1-6.
- Widiyanti, S. & Sugiyarto. 2006. *Keragaman Padi (Oryza sativa) Varietas Rojolele Berdasarkan Morfologi Biji dan Pola Pita Isozimnya*. Puslitbang Bioteknologi dan Biodiversitas LPPM UNS. Surakarta. 6 hlm.
- Wijayani, A. & D.P.S. Hendaryono. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta: 139 hlm.
- Yunita, R. 2009. Pemanfaatan Variasi Somaklonal dan Seleksi In-vitro dalam Perakitan Tanaman Toleran Cekaman Abiotik. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(4): 142-148 hlm.
- Yuwono, N.W. 2010. Unsur Hara Mikro. <http://nasih.wordpress.com/category/2010/11/01/mangan>. 06 Agustus 2011.
- Zulkarnain. 2004. Pengaruh Ficoll dan Pra-perlakuan Stress terhadap Embriogenesis Somatik pada Kultur *Anthera Swainsona farmosa*. *Hayati* 3(11): 121-124.