

**RESPONS EMBRIGGENESIS MIKROSPORA PADI KULTIVAR SIAM PADA
SUHU DINGIN DAN MEDIUM B DENGAN LAMA INKUBASI YANG BERBEDA
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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



Oleh

**PUTRI SEPTIA NERY
08071004020**

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

S
584.901 507 2

Put

r

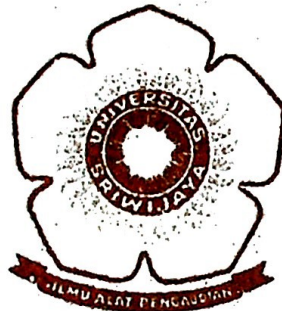
2011

C-112192

**RESPONS EMBRIOGENESIS MIKROSPORA PADI KULTIVAR SIAM PADA
SUHU DINGIN DAN MEDIUM B DENGAN LAMA INKUBASI YANG BERBEDA
SECARA *IN VITRO***



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



Oleh

PUTRI SEPTIA NERY
08071004020

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

LEMBAR PENGESAHAN

**RESPONS EMBRIOGENESIS MIKROSPORA PADI KULTIVAR SIAM PADA
SUHU DINGIN DAN MEDIUM B DENGAN LAMA INKUBASI YANG BERBEDA
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh

**PUTRI SEPTIA NERY
08071004020**

Inderalaya, Agustus 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. Zazil Hanafiah, M.Sc
NIP. 19590909 198703 1 004**

Motto:

"... Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu padahal itu tidak baik bagimu..."

(Al-Baqarah: 216)

Kupersembahkan untuk:

- ✓ Al-Islam
- ✓ Kedua Orang Tua Tercinta
- ✓ Kakak
- ✓ Adik-adikku
- ✓ Saudara dan sahabatku
- ✓ Almamaterku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadiran Allah SWT disertai shalawat dan salam kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul **“Respons Embriogenesis Mikrospora Padi Kultivar Siam pada Suhu Dingin dan Medium B dengan Lama Inkubasi yang Berbeda secara *In Vitro*”** dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Sriwijaya.

Skripsi ini dapat diselesaikan dengan adanya bimbingan, bantuan, dorongan serta petunjuk dari semua pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini disampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si dan Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si sebagai Dosen Pembimbing Tugas Akhir yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, bantuan, nasehat, saran dan kritik yang bermanfaat selama penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada:

1. Drs. Muhammad Irfan, M.T selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc selaku Ketua dan Dra. Muharni, M.Si selaku Sekertaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si yang telah memberi bantuan dengan pembiayaan penelitian melalui program Hibah DOCTOR
4. Dra. Muharni, M.Si selaku Pembimbing Akademik.

5. Dra. Harmida, M.Si dan Drs. Juswardi, M.Si yang telah banyak memberikan saran pada waktu seminar dan sidang sarjana.
6. Dosen Jurusan Biologi atas ilmu yang telah diberikan.
7. Karyawan Jurusan Biologi atas segala bantuan yang telah diberikan.
8. Seluruh rekan-rekan mahasiswa khususnya angkatan 2007, terima kasih atas segala bantuannya.
9. Seluruh pihak yang telah memberikan dukungan moril dan spirituil.

Semoga Skripsi ini dapat memberikan sumbangan pemikiran yang bermanfaat dan semoga Allah SWT selalu memberikan limpahan karunia dan hidayahNya kepada kita.
Amin

Inderalaya, Agustus 2011

Penulis

EMBRYOGENESIS RESPONSE OF RICE MICROSPORE CULTIVAR SIAM OF COLD TEMPERATURE AND B MEDIUM WITH DIFFERENT TIMES OF INCUBATION BY *IN VITRO*

by:

PUTRI SEPTIA NERY
08071004020

ABSTRACT

The research about "Embryogenesis Response of Rice Microspore Cultivar Siam of Cold Temperature and B Medium with Different Times of Incubation by *In Vitro*" was done in September 2010 to Juli 2011 in the Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Sriwijaya, Inderalaya. The aims of this research is to determine the response of microspore in cold temperature stress 5°C, B medium, the combination of cold temperatures 5°C and B medium by observation of viable and embryogenic microspore. This research used Group Randomized Design (GRD) with four treatments and four groups. The treatments were: control, cold temperature 5°C, B medium, the combination of cold temperatures 5°C and B medium. The groups were different times of incubation. They were 2, 4, 6, and 8 days. The results of this research showed that viable microspores at cold temperatures 5°C reached 63.25% and 2.5% to induced embryogenic microspores. Viable microspores in B medium treatment reached 66.36% and could to induced embryogenic microspores 26.5%. The treatment combination of cold temperatures 5°C and B medium, reached 89.75% microspores viable and most effective for inducing embryogenic microspores with an optimal incubation time for 4 days (81%). Characteristics of the morphology of embryogenic microspores, microspores are larger in size, fragmented vacuole with the nucleus in the middle to form a starlike structure.

Key words: embryogenesis, microspore, kultivar siam rice, cold temperature, B medium, times of incubation, *in vitro*

RESPONS EMBRIOGENESIS MIKROSPORA PADI KULTIVAR SIAM PADA SUHU DINGIN DAN MEDIUM B DENGAN LAMA INKUBASI YANG BERBEDA SECARA *IN VITRO*

Oleh:

PUTRI SEPTIA NERY
08071004020

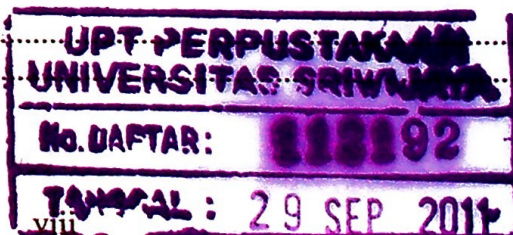
ABSTRAK

Penelitian tentang “Respons Embriogenesis Mikrospora Padi Kultivar Siam pada Suhu Dingin dan Medium B dengan Lama Inkubasi yang Berbeda secara *In Vitro*” dilaksanakan pada bulan September 2010 sampai Juli 2011 bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons embriogenesis mikrospora padi kultivar siam pada perlakuan suhu dingin 5°C, medium B, kombinasi suhu dingin 5°C dan medium B dengan mengamati mikrospora viabel dan mikrospora embriogenik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan yaitu: kontrol, suhu dingin 5°C, medium B, kombinasi suhu dingin 5°C dan medium B. Sebagai kelompok (Lama Inkubasi) yaitu: 2, 4, 6, 8 hari. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa mikrospora viabel pada suhu dingin 5°C mencapai 63,25% dan menginduksi mikrospora embriogenik 2,5%. Mikrospora viabel pada perlakuan medium B mencapai 66,36% dan mampu menginduksi mikrospora embriogenik 26,5%. Perlakuan kombinasi suhu dingin 5°C dan medium B, mencapai 89,75% mikrospora viabel dan paling efektif untuk menginduksi mikrospora embriogenik dengan lama inkubasi yang optimal selama 4 hari (81%). Karakteristik mikrospora embriogenik secara morfologi, mikrospora berukuran lebih besar, vakuola terfragmentasi dengan inti di tengah sehingga membentuk struktur *starlike*.

Kata kunci: embriogenesis, mikrospora, padi kultivar siam, suhu dingin, medium B, lama inkubasi, *in vitro*

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Hipotesis.....	4
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	5
2.2. Kultur Mikrospora secara <i>In vitro</i>	6
2.3. Medium B pada Kultur Mikrospora.....	9
2.4. Cekaman Suhu Dingin	10
2.5. Mikrospora Embriogenik	12
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat	17
3.2. Alat dan Bahan	17
3.3. Rancangan Percobaan	17
3.4. Cara Kerja	18
3.4.1. Sterilisasi Alat	18
3.4.2. Pembuatan Medium	18
3.4.3. Persiapan dan Penanaman Eksplan	19
3.4.4. Pemeliharaan Kultur.....	19
3.4.5. Pengamatan Mikrospora	19
3.5. Variabel Pengamatan	20
3.6. Analisa Data	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Mikrospora Viabel	22
4.2. Mikrospora Embriogenik	26



4.3. Karakteristik Mikrospora Nonembriogenik dan Mikrospora Embriogenik	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	34
5.2. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Karakteristik Padi Unggul dan Padi Lokal Siam	6
Tabel 2. Rata-Rata (Persentase) Mikrospora Viabel pada Berbagai Perlakuan dari Kultur Mikrospora Padi Kultivar Siam	22
Tabel 3. Rata-Rata (Persentase) Mikrospora Embriogenik pada Berbagai Perlakuan dari Kultur Mikrospora Padi Kultivar Siam.....	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Padi (<i>Oryza sativa</i> L.) Kultivar Siam	5
Gambar 2. Perbedaan Kultur Antera dengan Kultur Mikrospora	7
Gambar 3. Efek Mikrospora Perlakuan Suhu Dingin terhadap Totipotensi Mikrospora	11
Gambar 4. Induksi Mikrospora Embriogenesis	15
Gambar 5. Rata-Rata (Persentase) Mikrospora Viabel pada Perlakuan Cekaman dengan Lama Inkubasi yang Berbeda dari Kultur Mikrospora Padi Kultivar Siam	24
Gambar 6. Rata-rata (Persentase) Mikrospora Embriogenik pada Perlakuan Cekaman dengan Lama Inkubasi yang Berbeda dari Kultur Mikrospora Padi Kultivar Siam	28
Gambar 7. Mikrospora Tidak Mendapatkan Perlakuan Cekaman	31
Gambar 8. Mikrospora Setelah Mendapatkan Perlakuan Cekaman.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium B	38
Lampiran 2. Analisis Data dan Uji Lanjut WBD (Wilayah Berganda Duncans)	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Padi kultivar siam termasuk ke dalam Gramineae, merupakan salah satu padi lokal di Sumatera Selatan. Menurut Tim Penyusun Balai Penelitian & Pengembangan Pertanian (2007: 3), padi kultivar siam hidup pada rawa lebak tengahan yang memiliki genangan air antara 50-100 cm. Padi rawa lebak ditanami pada musim kemarau dan memiliki umur panen 5 bulan. Padi rawa lebak dipengaruhi oleh curah hujan, oleh sebab itu sering mengalami banjir. Kenaikan genangan air dapat diikuti oleh pertumbuhan padi yang mempunyai daya memanjat cepat.

Keunggulan padi kultivar Siam dapat hidup dengan baik dirawa lebak dan dapat beradaptasi, tetapi keberadaannya terbatas dan memiliki produksi yang rendah. Oleh karena itu perlu kegiatan pemuliaan dengan kultur mikrospora. Menurut Dewi & Purwoko (2001: 60), salah satu metode dalam kultur mikropora yang banyak digunakan untuk menunjang kegiatan pemuliaan tanaman melibatkan varietas hibrida. Varietas hibrida didapat dari galur murni atau haploid.

Teknologi haploid dapat menghasilkan tanaman homozigot hanya dalam waktu satu generasi. Pada teknologi konvensional, baru dapat dihasilkan setelah melalui proses seleksi hingga 5 atau 6 generasi. Evaluasi karakter kuantitatif yang dapat dipercepat sehingga lebih menghemat waktu dan tempat. Sejumlah sifat-sifat unggul yang toleransi terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan seperti: kekeringan, suhu rendah, hara rendah, kandungan logam berat yang tinggi di dalam

tanah merupakan karakter resesif yang dapat dideteksi secara dini pada tanaman haploid (Zulkarnain 2009: 41).

Kultur mikrospora dapat menghasilkan tanaman haploid lewat jalur embriogenesis mikrospora. Jalur tersebut efisien untuk memproduksi tanaman haploid di berbagai spesies terutama Gramineae. Keberhasilan aplikasi teknik kultur mikrospora dalam mendapatkan tanaman haploid pada tanaman padi masih sedikit yang dilaporkan. Rendahnya pembentukan mikrospora embriogenik merupakan salah satu kendala dalam menghasilkan tanaman haploid. Untuk mengatasi hal tersebut perlu dilakukan perlakuan cekaman (Dewi & Dwimahyani 2001: 2).

Perlakuan pada mikrospora bertujuan untuk merangsang perkembangan mikrospora dari jalur gametofitik ke jalur sporofitik telah diaplikasikan pada berbagai tanaman budidaya. Perlakuan dilakukan dengan cara starvasi dan cekaman suhu dingin sehingga akan membentuk mikrospora embriogenik (Indrianto *et al.* 2008: 64).

Lamanya waktu inkubasi mempengaruhi persentase mikrospora viabel. Lamanya waktu inkubasi digunakan untuk mengamati waktu optimal terbentuknya mikrospora embriogenik. Semakin lama waktu inkubasi, maka persentase mikrospora viabel semakin menurun. Setiap tanaman memiliki lama waktu inkubasi optimal yang berbeda. Jika waktu inkubasi singkat, maka mikrospora embriogenik belum terbentuk. Jika waktu inkubasi terlalu lama, maka akan terjadi plasmolisis (Indrianto *et al.* 2008: 69).

Cekaman suhu dingin sebagai pemicu untuk menginduksi mikrospora embriogenik yang menghasilkan tanaman haploid. Suhu dingin dapat merangsang perkembangan mikrospora dari jalur gametofitik ke jalur sporofitik sehingga langsung

membentuk haploid ganda secara spontan. Proses embriogenesis dari gandum menghasilkan mikrospora seperti bintang (Touraev *et al.* 1996: 213).

Fitch & Moore 1984; Moore & Fitch 1990 *dalam* Indrianto *et al.* (2008: 64), kultur mikrospora jagung, tebu dan padi kebanyakan menggunakan medium B melalui kultur mikrospora secara *in vitro*. Medium B merupakan medium pelaparan karbohidrat dan nitrogen yang dapat mengaktifkan protein kinase yang mengatur pembelahan sel, sehingga mampu meningkatkan kemampuan mikrospora embriogenik.

Mikrospora embriogenik diperoleh melalui pembelokkan jalur gametofitik ke sporofitik. Hal ini ditandai adanya vakuola sentral yang besar, sitoplasma yang jelas, seperti bintang dan adanya pembelahan sel simetris dengan dua sel yang berukuran sama. Mikrospora embriogenik akan menghasilkan tanaman haploid (Maraschin *et al.* 2005: 1715).

Menurut Indrianto *et al.* (2008: 67), kultur mikrospora tebu yang diinkubasi pada suhu 4°C dan 34°C selama 0, 2, 4, 7 hari memperoleh mikrospora viabel terbanyak pada kontrol selama 0 hari yaitu 62,51%. Waktu yang optimal pada mikrospora embriogenik akibat praperlakuan dalam medium B dicapai pada suhu 4°C sebesar 87,5% selama 2 hari.

1.2. Perumusan Masalah

Padi kultivar Siam merupakan sumber plasma nutfah yang dapat hidup pada lahan basah dan kondisi asam, tetapi keberadaannya terbatas. Oleh karena itu perlu upaya pemuliaan. Salah satu metode pemuliaan dengan kultur mikrospora sehingga

membentuk mikrospora embriogenik. Cekaman suhu dingin dan medium B merupakan faktor yang penting untuk induksi embriogenesis mikrospora yang berperan untuk membelokkan perkembangan gametofitik ke arah sporofitik sehingga menghasilkan embrio yang bersifat haploid. Untuk itu perlu diadakan penelitian tentang respons embriogenesis mikrospora padi kultivar siam dengan perlakuan cekaman suhu dingin 5°C dan medium B pada lama inkubasi yang berbeda secara *in vitro*.

1.3. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah dengan adanya cekaman suhu dingin, medium B dan lama waktu inkubasi yang optimal pada kultur mikrospora padi kultivar siam dapat menghasilkan mikrospora embriogenik yang lebih baik.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons embriogenesis mikrospora padi kultivar siam pada perlakuan suhu dingin 5°C, medium B, kombinasi suhu dingin 5°C dan medium B dengan mengamati mikrospora viabel dan mikrospora embriogenik.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai referensi dalam meningkatkan mikrospora embriogenik pada kultur mikrospora padi kultivar siam secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Nilai dan Manfaat Tungkaran sebagai Lahan Basah di Martapura.
<http://www.j1a108003nadia.blogspot.com/2009/04/nilai-dan-manfaat-tungkaran.html>.
10 Februari 2011.
- Dewi.I.S. & B.S.Purwoko. 2001. Kultur Antera untuk Mendukung Program Pemuliaan Tanaman Padi. *Bul. Agron.* 29: 59-63.
- Fitrianti, A. 2006. *Efektivitas Asam 2,4-D dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun*. Universitas Semarang. Semarang. 55 hlm.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. v+252 hlm.
- Hendaryono, D.P.S. & A.Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius. Yogyakarta. 139 hlm.
- Hofer M, Touraev A, Heberle-Bors E. 1999. Induction of embryogenesis from isolated apple microspores. *Plant Cell*. 18: 1012-1017.
- Hutabarat, R. 1995. *Latihan Kultur Jaringan Benih Hortikultura*. Departemen Pertanian. Bogor. i+68 hlm.
- Santoso, J. 2010. Propagasi Tumbuhan Obat dengan Kultur Mikrospora. <http://djoko5346/propagasi-tumbuhan-obat-dengan-kultur-mikrospora.html>. 10 Februari 2011.
- Indrianto, A, E.Heberle-Bors, & A.Touraev. 1999. Assessment of Various Stresses and Carbohydrates for Their Effect on the Induction of Embryogenesis in Isolated Wheat Microspores. *Plant Science*. 143: 71-79.
- Indrianto, A., E. Semiarti, Surifah. 2004. Produksi Galur Murni Melalui Induksi Embriogenik Mikrospora cabai Merah Besar dengan Stres. *Zuriat*. 15: 133-139.
- Indrianto, A. Suaib, Mangoendidjojo, & Mirzawan. 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.
- Kishor, P.B & P.S. Verma. 1995. Overexpression of Pyrrolin Carboxylate Synthetase Increases Proline Production and Confers Osmotolerance In Transgenic Plants. *Plant Physiol*. 108: 1387-1394.

- Labani, Z., N.Richard, J.De Buysier, E.Picard. 2005. Chlorophyllian Durum Wheat Plants Obtained by Isolated Microspores Culture: Importance of the Pretreatment. *C R Biol.* 328: 713-723.
- Latif, S., 1991. Identifikasi Mikropora Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* J.) untuk Kultur Haploid. *Buletin Perkebunan.* 22: 231-238.
- Maraschin, W.de Priester, H.P.Spaink & M.Wan. 2005. Androgenic Switch : An Example of Plant Embryogenesis from the Male Gametophyte Perspective. *Experimental botany.* 56: 1711-1726.
- Salisbury, F.B & C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan* Jilid III Edisi IV. D.R Lukman, Sumarsono & S. Niksolihin (Penerjemah). ITB. Bandung : 16a+343 hlm.
- Segui-Simarro & F.Nuez. 2008. How Microspores Transform Into Haploid Embryos: Changes Associated with Embryogenesis Induction and Microsporederived Embryogenesis. *Physiologia Plantarum.* 134: 1-12.
- Shariatpanahi ME, Bal U, & E.Heberle-Bors. 2006. Stresses Applied for The Reprogramming of Plant Microspores Towards *In Vitro* Embryogenesis. *Physiologia Plantarum.* 127: 519-534.
- Suprihatno, B., A. Darajat, Baehaki, Suprihanto, S.Agus, I.Dewi, & Yamin. 2009. *Deskripsi Varietas Padi.* Balai Penelitian dan Pengembangan Padi. Subang. 105 hlm.
- Tim Penyusun Balai Penelitian & Pengembangan Pertanian. 2007. *Pengelolaan Tanaman Terpadu Padi Rawa Lebak.* Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian. Jakarta. v+42 hlm.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta).* UGM Press. Yogyakarta. x+473 hlm.
- Touraev, A., A.Indrianto, I.Wratschko, O.Vicente. 1996. Efficient Microspore Embryogenesis in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Induced by Starvation at High Temperature. *Sex Plant Reprod.* 9: 209-215.
- Wahidah, B.F. 2010. Pengaruh Stres Pelaparan dan Suhu Tinggi terhadap Induksi Embriogenesis Mikrospora Tembakau. *Jurnal Biologi.* 14: 1-6.
- Wattimena, G.A., L.W.Gunawan., N.A.Matjik, E.Syamsudin, A.Ni made, & A.Ernawati. 1992. *Bioteknologi tanaman.* PAU Bioteknologi IPB. Bogor. vii+309 hlm.
- Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro.* Koensoemardiyah. (Penerjemah). UGM. Yogyakarta. iii+110 hlm.

Zarsky, V., D.Garrido, L.Rihova, J.Tupy, O.Vicente & E.Heberle-Bors. 1992. Derepression of the Cell Cycle by Starvation is Involved in the Induction of Tobacco pollen Embriogenesis. *Sex Plant Reprod.* 5: 189-194.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara. Jakarta. xvii+249 hlm