

**PENGARUH BAHAN STERILAN ETANOL DAN MERKURI KLORIDA TERHADAP  
PERTUMBUHAN EKSPLAN TUNAS DURIAN (*Durio zibethinus*)  
SECARA *IN VITRO***

**THE EFFECT OF ETHANOL STERILIZATION AND MERCURY CHLORIDE ON DURIAN  
SWEET EXPLANTS (*Durio zibethinus*) GROWTH  
IN VITRO**

Rd. Selvy Handayani<sup>1\*</sup>, Ismadi<sup>1</sup>, M. Sayuti<sup>2</sup>, Cici Rahayu Hasyim<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh, Kampus Cot Tgk. Nie Reuleut, Aceh Utara, Aceh, 24355

<sup>1</sup> Fakultas Teknik Universitas Malikussaleh, Kampus Bukit Indah Lhokseumawe Aceh, 24352

<sup>3</sup> Alumn<sup>1</sup> Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh, Kampus Cot Tgk. Nie Reuleut, Aceh Utara, Aceh, 24355

\*Email: selvy@unimal.ac.id

**ABSTRAK**

Perubahan iklim yang ekstrim sangat berdampak bagi kelestarian sumber daya genetik. Kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan tanaman yang dapat dilakukan untuk melindungi sumber daya genetik dari kepunahan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode sterilisasi yang tepat dalam perbanyakan durian secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh yang dilakukan dari bulan Maret sampai Juni 2018. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu bahan terilan etanol 70% dan konsentrasi merkuri klorida. Eksplan diperoleh dari bibit durian berumur 6 minggu yang sudah dkecambahkan di polibag dengan media tanah dan kompos. Media yang digunakan adalah media MS (*Murashige* dan *Skoog*) ditambah dengan BAP konsentrasi 2 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara kedua faktor. Perlakuan etanol 70% secara tunggal berpengaruh pada peubah waktu tumbuh tunas dan jumlah tunas 4 MST. Perlakuan merkuri klorida secara tunggal tidak berpengaruh di semua peubah yang diamati. Perlakuan terbaik yaitu eksplan yang direndam etanol 70% 1 kali perendaman dan tanpa merkuri klorid.

Kata kunci : BAP, kalus, bibit, media

**ABSTRACT**

Extreme climatic change has an impact on the sustainability of genetic resources of seeds and propagation methods. It will damage the tree breeding with superior character. Tissue culture is one of plant propagation method what can be done to protect genetic resources from extinction. This study was aimed to obtain the appropriate sterilization method in *in vitro* durian propagation. The study was conducted at the Tissue Culture Laboratory of the Agriculture Faculty Malikussaleh University from March to June 2018. The research used Factorial Randomized Complete Random Design, consisted of 2 factors, sterilized material 70% ethanol and mercury chloride concentration. Eksplan obtained from 6 weeks old durian seeds shoot. The media was MS medium (*Murashige* and *Skoog*) plus BAP 2 ppm. The results showed that there was no interaction between the two factors. The 70% ethanol singly influenced the growth time of shoots, and the number of shoots 4 Weeks after planted. The best treatment was one time soaking in ethanol 70% and without mercury chloride.

Keywords : BAP, callus, seedling, media

**1. PENDAHULUAN**

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) merupakan salah satu buah yang sangat digemari masyarakat Indonesia sehingga mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi.

Durian memiliki karakter yang memikat antara lain warna daging buah menarik, rasa daging buah yang bervariasi dan aroma yang khas. Nama durian diambil dari ciri khas kulit buahnya yang keras dan berlekuk-lekuk tajam

sehingga menyerupai duri (Ruwaida *et al.*, 2009).

Salah satu masalah utama dalam budidaya tanaman durian khususnya di daerah Aceh adalah ketersediaan pohon induk tanaman durian unggulan yang semakin sedikit. Perbanyakan pohon induk perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya kehilangan plasma nutfah. Eksplorasi dan identifikasi tanaman durian induk unggulan Aceh Utara (Handayani, dkk., 2017) telah dilakukan, dan selanjutnya harus ada perbanyakan tanaman. Perbanyakan tanaman biasanya dilakukan secara konvensional melalui perbanyakan vegetatif yaitu cangkok, okulasi maupun penyambungan. Perbanyakan tanaman konvensional seringkali tidak efektif karena dapat merusak pohon induk. Oleh karena itu, harus dilakukan usaha untuk memecahkan masalah tersebut yaitu dengan melakukan sistem perbanyakan kultur *in vitro*.

Kultur jaringan tanaman adalah suatu upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplasma, sel, jaringan, organ), kemudian dikulturkan pada nutrisi buatan serta di bawah kondisi lingkungan yang terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Zulkarnain, 2011). Teknik kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman untuk menghasilkan tanaman yang seragam dalam jumlah banyak. Metode kultur jaringan juga dapat digunakan untuk konservasi plasma nutfah atau biji secara *in vitro* (Karjadi & Buchory, 2008).

Salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan adalah kontaminasi. Salah satu penyebab kontaminasi adalah sumber kontaminan hidup yang melekat pada permukaan eksplan dan terbawa saat pengambilan eksplan dari lapangan. Untuk mencegah kontaminasi yang bisa terjadi diperlukan metode sterilisasi yang tepat.

Kegiatan sterilisasi eksplan bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan, yang dapat menimbulkan kontaminasi

sehingga menghambat pertumbuhan eksplan menjadi tanaman utuh. Oleh karena itu, metode sterilisasi yang tepat sangat dibutuhkan dalam perbanyakan tanaman durian secara *in vitro*.

Bahan sterilan yang bisa digunakan dalam sterilisasi adalah etanol dan merkuri klorida. Alkohol atau etanol merupakan denaturan protein, suatu sifat yang memberikan aktivitas antimicrobial pada alkohol. Alkohol yang umum dipakai untuk sterilisasi adalah alkohol konsentrasi 70% karena efektif memecah protein yang ada di dalam mikroorganisme. Cendawan atau jamur biasanya mati dalam alkohol 70% (Handoyowati, 2016).

Merkuri klorida ( $HgCl_2$ ) atau yang memiliki nama dagang sublimat 0,05% adalah salah satu bahan kimia yang bisa digunakan untuk sterilisasi eksplan dalam kultur jaringan. Penggunaan bahan kimia ini harus hati-hati karena bersifat racun. Cara perlakuan sterilisasinya sama dengan Clorox atau  $NaClO$ , hanya waktunya lebih pendek karena sublimat bersifat keras.

Sterilisasi dengan  $HgCl_2$  (*Mercurie chloride*) 0,1% (10 menit) dan alkohol 95% (5 menit) menunjukkan persentase eksplan kontaminasi dan browning terendah yaitu 33,33% dan 16,67% dan eksplan hidup tertinggi yaitu 50,00%, serta paling banyak menekan kontaminan mata tunas anggrek *Phalaenopsis* (Anjani, 2011). Penggunaan merkuri klorida 0,1% selama 20 menit juga dilakukan pada tanaman manggis dan dapat mengeliminasi sumber kontaminan pada eksplan tunas bibit manggis dari pesemaian (Handayani dkk., 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bahan sterilan terbaik bagi pertumbuhan eksplan tunas durian secara *in vitro*.

## 2. MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh.

Pelaksanaan Penelitian dimulai dari bulan Maret sampai Juni 2018.

Bahan yang digunakan adalah bibit durian yang sudah berumur 6 minggu (sebagai sumber eksplan), etanol 70% dan 96%, merkuri klorida (HgCl<sub>2</sub>), media dasar MS (*Murashige and Skoog*) + BAP (*Benzil amino purine*) 2 ppm, Alat-alat yang digunakan adalah LAFC (*Laminar air flow cabinet*), *autoclave*, oven, dan peralatan tanam kultur jaringan.

Penelitian ini menggunakan rancangan lingkungan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah etanol (A) yang terdiri dari 2 jenis yaitu perendaman dengan etanol 70% sebanyak satu kali (A1) dan perendaman dengan etanol 70% sebanyak 2 kali (A2). Faktor kedua yaitu konsentrasi merkuri klorida atau HgCl<sub>2</sub> (M) yang terdiri dari 3 taraf yaitu 0,00% (M0), 0,05% (M1), dan 0,1% (M2). Setiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan, diperoleh 60 satuan percobaan. Perendaman eksplan dalam alcohol 70% dilakukan selama 5 menit, sedangkan dalam merkuri klorida 20 menit.

Eksplan diambil dari bibit semai durian yang telah berumur enam minggu. Eksplan tunas durian terlebih dahulu dicuci, lalu direndam dengan detergen cair selama 15 menit lalu dibilas dengan aquades. Eksplan dibawa ke laminar kemudian direndam dalam larutan bakterisida dan fungisida 8 g/l selama 20 menit, lalu dibilas dengan aquades steril sampai bersih. Eksplan diberi bahan sterilan sesuai perlakuan dan ditanam sebanyak empat eksplan per botol.

Pengamatan dilakukan mulai dari minggu pertama sampai minggu ke delapan setelah tanam. Pengamatan yang dilakukan meliputi persentase tumbuh tunas, waktu tumbuh tunas, jumlah tunas, panjang tunas, dan persentase kontaminasi.

Data yang diperoleh dianalisis dengan Uji F, sedangkan uji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%. Analisa data dilakukan dengan menggunakan *software SAS v9.12*.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

Keberhasilan kultur jaringan eksplan tunas durian dapat dilihat dari data hasil pengamatan selama 8 minggu. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara kedua perlakuan. Perbedaan terlihat pada masing-masing perlakuan secara tunggal di beberapa peubah yang diamati. Pengaruh perlakuan bahan sterilan alkohol dan merkuri klorida terhadap pertumbuhan eksplan mata tunas durian secara *in vitro* disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Pengaruh perlakuan bahan sterilan alkohol dan merkuri klorida terhadap persentase kontaminasi eksplan tunas durian

Perlakuan	Persentase Kontaminasi (%)		
	6 MST	7 MST	8 MST
<b>Perendaman Alkohol 70%:</b>			
1 kali	5,00 (1,02) a	5,00 (1,02) a	5,00 (1,02) a
2 kali	0,00 (1,00) a	0,00 (1,00) a	0,00 (1,00) a
<b>Konsentrasi Merkuri Klorida (%) :</b>			
0,00	0,00 (1,00)a	0,00 (1,00) a	0,00 (1,00) a
0,05	11,11 (1,05)a	11,11 (1,05) a	11,11 (1,05)a
0,10	0,00 (1,00)a	0,00 (1,00) a	0,00 (1,00) a

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Angka di dalam kurung adalah data hasil transformasi Log(x+1).

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan bahan sterilan etanol 70% dan merkuri klorida tidak memberikan perbedaan secara statistik. Persentase kontaminasi terendah secara rata-rata ditunjukkan oleh perlakuan bahan sterilan etanol 2 kali perendaman, sedangkan perlakuan merkuri klorida 0 dan 1 % secara rata-rata persentase kontaminasinya terendah.

Tunas baru tumbuh di bagian nodus atau buku dari eksplan tunas durian yang dikulturkan. Hasil uji F menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara bahan sterilan etanol dan merkuri klorida pada peubah jumlah tunas eksplan mata tunas durian. Data hasil uji lanjut disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa perlakuan bahan sterilan etanol 70%

secara tunggal berpengaruh terhadap jumlah tunas 4 MST. Perlakuan bahan sterilan etanol 70% sebanyak 1 kali perendaman menunjukkan jumlah tunas terbaik, tetapi pada pengamatan 6 sampai dengan 8 MST jumlah tunas menurun akibat kontaminasi. secara rata-rata menunjukkan jumlah tunas terbaik.

**Tabel 2.** Pengaruh perlakuan bahan sterilan alkohol dan merkuri klorida terhadap jumlah tunas pada eksplan tunas durian

Perlakuan	Jumlah tunas		
	4 MST	6 MST	8 MST
<b>Perendaman Alkohol 70%:</b>			
1 kali	0,80 (0,58) a	0,78 (0,58) a	0,80 (0,58) a
2 kali	0,42 (0,53) b	0,63 (0,56) a	0,67 (0,56) a
<b>Konsentrasi Merkuri Klorida (%):</b>			
0,00	0,54 (0,57) a	0,72 (0,57) a	0,79 (0,58) a
0,05	0,39 (0,53) a	0,71 (0,57) a	0,67 (0,56) a
0,10	0,23 (0,51) a	0,55 (0,55) a	0,68 (0,56) a

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Angka di dalam kurung adalah data hasil transformasi Log(x+1).

Pengaruh bahan sterilan etanol dan merkuri klorida secara tunggal terlihat pada peubah waktu tumbuh tunas, sedangkan pada peubah panjang tunas dan persentase tumbuh tunas 8 MST tidak menunjukkan perbedaan. Hasil uji lanjut peubah waktu tumbuh tunas dan panjang tunas eksplan tunas durian disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Pengaruh perlakuan bahan sterilan alkohol dan merkuri klorida terhadap waktu tumbuh tunas dan panjang tunas pada eksplan tunas durian

Perlakuan	Peubah		
	Waktu tumbuh tunas (HST)	Panjang tunas (cm)	Persentase tumbuh tunas (%)
<b>Perendaman Alkohol 70%:</b>			
1 kali	13,55 (1,34) b	0,57 (1,02) a	0,80 (0,58) a
2 kali	22,92 (1,48) a	0,40 (1,02) a	0,67 (0,56) a
<b>Konsentrasi Merkuri Klorida (%):</b>			
0,00	12,92 (1,32) b	0,38 (1,02) a	0,83 (0,58) a

0,05	13,89 (1,35) b	0,56 (1,02) a	0,67 (0,56) a
0,10	24,18 (1,51) a	0,59 (1,02) a	0,73 (0,57) a

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Angka di dalam kurung adalah data hasil transformasi Log(x+1).

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan bahan sterilan etanol 70% secara tunggal berpengaruh pada peubah waktu tumbuh tunas eksplan mata tunas durian. Perlakuan bahan sterilan etanol sebanyak 1 kali perendaman menunjukkan waktu tumbuh tunas terbaik. Perlakuan konsentrasi merkuri klorida secara tunggal menunjukkan pengaruh pada peubah waktu tumbuh tunas eksplan mata tunas durian. Konsentrasi merkuri klorida yang menunjukkan waktu tumbuh tunas terbaik adalah 0,00%. Pada peubah tinggi tunas, kedua perlakuan tidak menyebabkan perbedaan secara statistik. Pertumbuhan tunas pada eksplan tunas durian sangat lambat, disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Eksplan tunas durian yang tumbuh tunas baru pada umur 8 MST

### Pembahasan

Sterilisasi merupakan langkah awal dalam melakukan perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Salah satu tahapan penting dalam proses sterilisasi adalah melakukan metode sterilisasi dengan cara menggunakan bahan sterilan. Bahan sterilan yang digunakan harus mampu menghilangkan sumber kontaminasi permukaan pada eksplan, tetapi tidak merusak atau membunuh sel dan jaringan tanaman. Bahan sterilan yang digunakan untuk sterilisasi

eksplan berbeda tergantung jenis eksplan yang digunakan.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 8 minggu menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara bahan sterilan etanol 70% dan konsentrasi merkuri klorida yang digunakan untuk sterilisasi eksplan mata tunas durian di semua peubah yang diamati. Pengaruh bahan sterilan etanol 70% secara tunggal hanya terlihat pada peubah waktu tumbuh tunas dan jumlah tunas 4 MST, sedangkan konsentrasi merkuri klorida tidak menunjukkan adanya perbedaan.

Pengaruh bahan sterilan etanol secara tunggal terlihat pada peubah waktu tumbuh tunas dan panjang tunas 1 MST (Tabel ..). Tunas merupakan bagian dari tanaman yang muncul pada eksplan, munculnya tunas pada eksplan menandakan bahwa eksplan yang dikulturkan mampu beregenerasi serta mampu menyerap unsur hara yang terkandung pada media. Setiap perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda pada peubah waktu tumbuh tunas dan persentase tumbuh tunas.

Keberhasilan eksplan tumbuh tunas menunjukkan bahwa eksplan yang dikulturkan mampu beregenerasi dengan baik. Eksplan yang dikulturkan pada media BAP 2 ppm dengan perlakuan bahan sterilan etanol 70% 1 kali perendaman menunjukkan hasil terbaik secara statistik pada peubah waktu tumbuh tunas. Penambahan lama waktu perendaman etanol tidak memberikan respon yang baik bagi peubah waktu tumbuh tunas.

Semakin lama waktu perendaman dengan etanol menyebabkan waktu tumbuh tunas pada eksplan mata tunas durian semakin lama dan sedikit, selain itu persentase tumbuh tunas juga semakin rendah. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena proses sterilisasi eksplan dengan menggunakan alkohol 70% sebanyak 2 kali perendaman terlalu lama, sehingga dapat merusak jaringan eksplan mata tunas durian yang dikulturkan. Bahan sterilan yang digunakan untuk mensterilisasi eksplan

dalam kultur jaringan juga dapat bersifat meracuni jaringan (Zulkarnain, 2011).

Perlakuan bahan sterilan merkuri klorida tidak menunjukkan pengaruh di semua peubah yang diamati. Perlakuan konsentrasi merkuri klorida secara rata-rata menunjukkan bahwa perlakuan 0,00% (tanpa diberi merkuri klorida) adalah yang terbaik. Hal ini menunjukkan bahwa eksplan tunas durian cukup diberi bahan sterilan etanol 70% saja,

Peningkatan konsentrasi merkuri klorida tidak memberikan respon yang baik pada peubah waktu tumbuh tunas, persentase tumbuh tunas dan jumlah tunas. Konsentrasi merkuri klorida yang tinggi menyebabkan eksplan yang dikulturkan lama memunculkan tunas. Hal ini disebabkan karena konsentrasi merkuri klorida yang diberikan belum mencapai konsentrasi yang cocok untuk sterilisasi eksplan tunas durian. pemberian merkuri klorida mampu mengeliminasi sumber kontaminan namun menyebabkan eksplan sulit untuk beregenerasi dan membentuk tunas baru. Penggunaan  $HgCl_2$  dalam konsentrasi tinggi berpengaruh terhadap kerusakan jaringan tanaman (Fauzan *et al.*, 2017). Sterilisasi eksplan tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) pada konsentrasi  $HgCl_2$  0,2% selama 12 menit menyebabkan eksplan mengalami *browning* dan mati pada hari ke 4 sampai 7 setelah tanam (Tiwari *et al.*, 2012).

Kontaminasi dan *browning* juga terjadi pada penelitian yang dilakukan. Kontaminasi pada kultur jaringan durian ini terjadi pada pengamatan 6 MST. Kontaminasi pada eksplan dapat disebabkan karena bakteri ataupun cendawan. Kontaminasi disebabkan oleh berbagai hal seperti sterilisasi alat, bahan, dan lingkungan ruang tanam yang kurang tepat serta adanya jamur, bakteri ataupun virus yang dapat menginfeksi eksplan yang dikulturkan. Kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini disebabkan oleh cendawan. Hal ini dapat terlihat karena sumber kontaminasi berbentuk seperti benang-benang halus berwarna putih. Selain kontaminasi, gejala pencoklatan juga

mengganggu pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Gejala pencoklatan muncul dari pangkal eksplan yang terkena media, dan menyebar keseluruh bagian eksplan. *Browning* (pencoklatan) merupakan gejala munculnya warna coklat pada eksplan sehingga akan menghambat pertumbuhan eksplan. Pada eksplan terbentuk enzim polifenol oksidase yang mengakibatkan terjadinya oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi pigmen berwarna coklat ketika jaringan terluka (Queiroz, 2008 dalam Shonhaji *et al.*, 2014).

#### 4. KESIMPULAN

Tidak ada interaksi antara faktor alkohol 70% dan konsentrasi merkuri klorida. Pengaruh perlakuan secara tunggal hanya terlihat pada etanol 70% untuk peubah waktu tumbuh tunas dan jumlah tunas 4 MST. Perlakuan terbaik yaitu eksplan yang direndam etanol 70% 1 kali perendaman dan tanpa merkuri klorida.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberi dana penelitian melalui Program Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) tahun 2018 Nomor: 13/UN45.7/PL/II/2018.

#### DAFTAR PUSTAKA

Anjani, N. P., 2011. Teknik Sterilisasi dan Respon Pertumbuhan Eksplan Tangkai Bunga Anggrek *Phalaenopsis* sp. Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2i-p Secara In Vitro. Skripsi.

Program Sarjana, Universitas Udayana Denpasar, Indonesia.

- Fauzan, Y. S. A., Supriyanto, Tajuddin, T. 2017. Efektivitas Merkuri Klorida (HGCl<sub>2</sub>) pada Sterilisasi Tunas Samping Jati (*Tectona grandis*) In Vitro. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 4 (2), 80-83.
- Handayani, R. S. & Ismadi. 2017. Analisis Keragaman Kualitas Buah Durian Unggulan (*Durio zibethinus*) Aceh Utara. *J Hort. Indonesia*, 8 (3), 148.
- Handoyowati & Giarsiana. 2016. Ketahanan Kultur Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Secara In Vitro pada Konsentrasi Sterilan dan Jenis Eksplan yang Berbeda. Skripsi. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Handayani, R.S., Poerwanto, R., Sobir, Ermayanti, T.M. 2013. Pengaruh Batang Bawah dan Jenis Tunas pada Mikrografting Manggis (*Garcinia mangostana*) secara In Vitro. *J. Agron. Indonesia* 41 (1) : 47 – 53
- Karjadi & Buchory. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J.*
- Ruwaida, I.P., Supriyadi, Parjanto. 2009. Variability analysis of Sukun durian plant (*Durio zibethinus*) based on RAPD marker. *Biosciense*. 1(2): 84-91.
- Shonhaji, A., Resmisari, R. S., Wijayanto, A. 2014. Efektivitas Sterilisasi Eksplan Lapang *Acacia mangium* Willd dalam Perbanyak Tanaman Melalui Teknik Kultur Jaringan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia.
- Tiwari A.K, Tripathi S, Lal M, Mishra S., 2012 Screening Of Some Chemical Disinfectants For Media Sterilization During In Vitro Micropropagation Of Sugarcane. *Sugar Tech* 14:364-369.
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.