

PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP VARIASI PERTUMBUHAN ANGGREK *Brachyepiza indusiata* (Reichb.f) Garay SECARA *IN VITRO*

The Influence of Gamma Ray Irradiation on *in vitro* Growth Variation of
Brachyepiza indusiata (Reichb.f) Garay

Maria Utami Dewi Wardhani¹, Dwi Murti Puspitaningtyas² dan Diny Dinarti³

^{1&3} Departemen Budidaya Pertanian, Institut Pertanian Bogor

² Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

Abstract

A research was carried out in Orchid Laboratory of Bogor Botanical Gardens to observe the effect of gamma ray irradiation on the growth variation of *Brachyepiza indusiata* (Reichb.f) Garay and suitable culture medium for propagating the plant. The research was arranged in a factorial experiment with a Completely Randomized Design. The first factor was gamma ray irradiation on protocorm-like-bodies (plb) of germinated seeds of *B. indusiata* in which four levels of irradiation was applied, i.e. 0, 10, 20, and 30 Gy. The second factor was the use of two different culture media, i.e. Vacin & Went medium supplemented with either banana pulp or a mixture of tomato and sprout bean as the essential organic compound of the medium. The result showed that the irradiation treatment improved the survival of *B. indusiata* explants, most significantly at 20 Gy level of irradiation, and could modify the growth of the resulted plantlets by reducing the height of the plant and the length and width of the leaves. The higher the level of irradiation the smaller the plantlets produced. Meanwhile, the addition of organic compound derived from banana fruit into the basal medium of Vacin & Went enhanced the growth of the plantlets better than that derived from a mixture of tomato fruit and bean sprout. However, there was no significant interaction effect detected between the irradiation treatments and the use of different culture media.

Key words: *Brachyepiza indusiata* (Reichb.f) Garay, irradiation, culture media, growth variation

PENDAHULUAN

Anggrek adalah salah satu suku tumbuhan yang anggotanya cukup besar, terdiri atas 20.000 - 35.000 jenis dari sekitar 900 marga (Dressler, 1993). Anggrek

merupakan komoditas tanaman hias yang memiliki peluang bisnis tinggi, karena permintaan pasarnya cenderung meningkat setiap tahun. Meskipun demikian perkembangan produksi anggrek di Indonesia masih tergolong rendah. Hal ini antara lain disebabkan oleh

penggunaan bibit yang kurang bermutu, budi daya yang tidak efisien, dan penanganan pasca panen yang kurang memadai.

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah tersebut dapat dilakukan dengan perbaikan genetik dan metode perbanyak tanaman melalui kultur *in vitro*. Arditti dan Ernst (1993) menyatakan bahwa penggunaan kultur *in vitro* dapat mempercepat perbanyak tanaman secara vegetatif maupun generatif, mempermudah seleksi mutan, menghindarkan sterilitas yang menghambat hibridisasi, menghasilkan tanaman bebas patogen, dan dapat melestarikan plasma nutfah.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan materi genetik anggrek *Brachypeza indusiata* (Reichb.f) Garay yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma dan ditumbuhkan dalam kultur *in vitro* untuk mengetahui kemungkinan terjadinya variasi-variasi morfologi dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman yang dihasilkan. Unsur radioaktif yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cesium 137 dengan satuan iradiasi Gray (Gy), dimana 1 Gy setara dengan 100 rad (Van Harten, 1998).

Seperti diketahui bahwa iradiasi sinar gamma dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur kromosom dan gen. Hal ini berkaitan dengan salah satu sifat dari unsur radioaktif yang mampu menghasilkan radiasi pengion. Radiasi pengion adalah radiasi dengan energi tinggi yang dapat menimbulkan reaksi zat melalui proses pengionan. Target pengionan adalah gen yang berisi DNA sehingga pengionan dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada DNA yang akan mengakibatkan terjadinya perubahan genetik (Djojoseobagio, 1988).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pada anggrek *Vanda Douglas* varietas Genta Bandung, dosis iradiasi 30 Gy mampu mempengaruhi ketegaran planlet menjadi lebih baik (Soertini *et al.*, 1999). Pada *Phalaenopsis amabilis*, dosis radiasi 10 Gy adalah dosis optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan *protocorm like bodies (plb)* (Ramayanti, 2003). Sedangkan pada tanaman *Gloksinia*, radiasi sinar gamma 10 Gy menimbulkan keragaman fenotipe terbanyak (Damayanti, 1997).

Penelitian ini selain bertujuan untuk mempelajari pengaruh iradiasi sinar Gamma terhadap pertumbuhan

tanaman anggrek *Brachypeza indusiata* secara *in vitro* juga untuk mengetahui media yang lebih tepat untuk pertumbuhan anggrek tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Anggrek, Kebun Raya Bogor pada bulan Maret hingga Oktober 2004. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah biji anggrek *Brachypeza indusiata* (Reichb.f) Garay koleksi Kebun Raya Bogor. Biji-biji tersebut terlebih dahulu dikedambahkan pada media Vacin & Went yang ditambah tomat dan tauge sebagai bahan organiknya, hingga membentuk *protocorm like bodies (plb)* sebelum digunakan untuk penelitian ini. *Plb* adalah biji yang sudah menggelembung sehingga membentuk bulatan berwarna hijau muda. *Plb* yang telah berukuran 0,2 - 0,5 cm diberi perlakuan iradiasi sinar gamma di Laboratorium Ilmu Hayati Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Selanjutnya *plb* dipindahkan ke media perlakuan.

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah iradiasi sinar gamma yang terdiri atas empat taraf (dosis) yaitu 0, 10, 20, 30 Gy. Faktor kedua adalah media kultur yang terdiri dari 2 jenis, yaitu media Vacin & Went dengan tambahan bahan organik pisang dan air kelapa yang diberi arang aktif 0.1% dan media Vacin & Went dengan tambahan bahan organik tomat, air kelapa dan air tauge. Setiap kombinasi perlakuan diulang 10 kali dengan menggunakan 5 eksplan untuk setiap ulangan.

Pengamatan dilakukan terhadap peubah-peubah pertumbuhan eksplan yang ditanam. Pengamatan terhadap persentase tumbuh *plb* dan tunas hidup dilakukan secara berkala, mulai dari minggu kedua setelah perlakuan sampai minggu terakhir pengamatan. Sedangkan jumlah daun dihitung satu bulan setelah perlakuan. Selanjutnya pada 28 minggu setelah perlakuan (MSP), tanaman dalam botol dikeluarkan, kemudian tinggi tanaman, panjang dan lebar daun, serta panjang akar diukur dengan menggunakan penggaris besi yang telah disterilkan terlebih dahulu. Pada saat yang sama jumlah daun dan akar dihitung dan kualitas warna daun

diklasifikasikan berdasarkan *Dictionary of Color*. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan sidik ragam dan *Duncan Multiple Range Test (DMRT)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan eksplan sangat lambat, terlihat dari ukuran eksplan yang hanya berkisar antara 0,5 - 1,5 cm pada 28 MSP. Pertumbuhan daunnya pun tidak serempak. Bahkan terdapat eksplan yang tidak mengalami pertumbuhan, sehingga pada akhir penelitian masih tetap dalam bentuk *plb*.

Tabel 1. Rekapitulasi sidik ragam pada peubah pertumbuhan eksplan *Brachypeza indusiata* (Reichb.f) Garay

Peubah	MSP	Peluang ($Pr > F$)			KK
		Iradiasi	Media	Interaksi	
Persentase hidup	10	0.006**	0.014*	tn	9.3
	12	0.014*	0.031*	0.035*	22.7
	14	tn	0.002**	tn	28.3
	26	tn	0.011*	tn	43.9
	28	tn	0.007**	tn	44.7
Tinggi tanaman	28	0.0001**	tn	tn	14.83
Jumlah daun	28	0.0001**	tn	tn	29.58
Panjang daun	28	0.0001**	0.009**	tn	23.64
Lebar daun	28	0.0001**	0.009**	tn	32.95

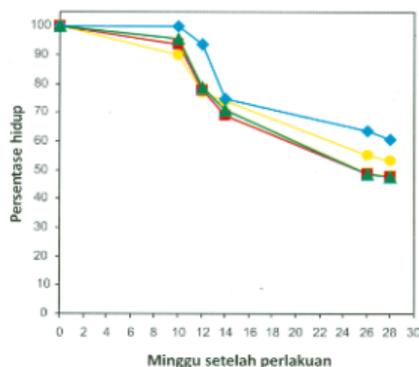
* Berbeda nyata pada taraf 5 %; ** Berbeda nyata pada taraf 1 %, tn = Tidak berbeda nyata; MSP = Minggu Setelah Perlakuan; KK = Koefisien Keragaman

Kesintasan eksplan (*explant survival*)

Sebagian eksplan yang ditanam tidak mampu bertahan hidup sampai akhir penelitian. Fenomena ini terjadi pada semua perlakuan, termasuk kontrol, sehingga sulit dikaitkan dengan pengaruh perlakuan yang dicobakan (Gambar 1). Kematian eksplan umumnya terjadi karena kontaminasi jamur pada eksplan. Hanya sebagian kecil eksplan yang mati menunjukkan

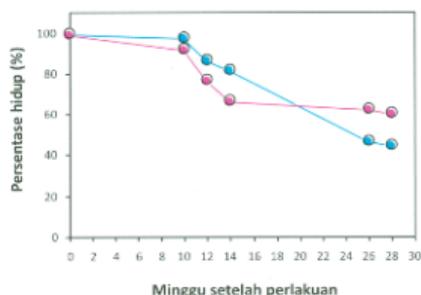
gejala *browning* yang tampak berbeda dengan pengaruh serangan jamur.

Secara umum hasil penelitian memberikan indikasi bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma dengan dosis 0 – 30 Gy tidak memberikan efek negatif terhadap kesintasan (*survival*) eksplan *B. indusiata*. Bahkan jika dilihat dari persentase hidup eksplan pada 10 dan 12 MSP, tampak bahwa eksplan yang mendapat iradiasi 20 Gy mempunyai daya hidup yang lebih baik ($P < 0.05$) dibandingkan dengan eksplan yang tidak mendapat perlakuan iradiasi (kontrol) ataupun dengan perlakuan iradiasi 10 dan 30 Gy (Tabel 1, Gambar 1). Hal ini agak berbeda dengan hasil penelitian Ishak (1994) yang menunjukkan bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 20 Gy pada kalus asparagus menghambat regenerasi tanaman tersebut hingga 50%, sedangkan pada dosis 5 dan 10 Gy hambatan terhadap regenerasi asparagus mencapai 20%. Sementara itu menurut Haber (1972) pemberian radiasi yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan kromosom yang akan mengakibatkan kematian sel jika diikuti dengan mitosis, karena sel akan menghasilkan *nuclear imbalance*, yaitu suatu kondisi dimana inti sel memiliki susunan atom yang tidak seimbang. Tingkat kepekaan terhadap iradiasi sinar gamma diduga berbeda antara jenis tanaman yang satu dengan yang lainnya.



Gambar 1. Persentase hidup eksplan *Brachypeza indusiata* pada perlakuan iradiasi sinar gamma 0 Gy (●), 10 Gy (■), 20 Gy (◆), dan 30 Gy (▲)

Pada Tabel 1 juga terlihat bahwa komposisi media kultur memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya tumbuh eksplan. Penambahan bahan organik tomat, air kelapa dan air taoge ke dalam media Vacin & Went menghasilkan daya tumbuh yang lebih baik sehingga kematian fisiologis yang dialami eksplan relatif lebih rendah dibandingkan dengan yang ditumbuhkan pada media Vacin & Went dengan bahan organik pisang dan air kelapa ditambah arang aktif 0.1% (Gambar 2). Hal ini diduga karena tomat umumnya mengandung asam askorbat lebih tinggi dibanding pisang, yaitu ± 21 mg/100 gr berbanding ± 3 mg/100 gr (Oey, 1992; Opana dan van der Vossen, 1994). Menurut Pierik (1997), asam askorbat berperan sebagai anti oksidan yang jika ditambahkan ke dalam media kultur mampu mencegah terjadinya *browning* yang disebabkan oleh eksudat fenol. Disebutkan pula oleh Pierik (1997) bahwa arang aktif dapat menyerap zat racun atau fenol, namun dalam penelitian ini penambahan arang aktif ke dalam media Vacin & Went dengan bahan organik pisang dan air kelapa tidak membuahkan hasil yang maksimal.



Gambar 2. Persentase tumbuh eksplan *Brachypeza indusiata* yang dikulturkan pada media Vacin & Went dengan bahan organik pisang (●) dan tomat (●).

Pertumbuhan eksplan

Secara umum pertumbuhan eksplan *B. indusiata* menjadi terhambat ketika dosis radiasi yang diberikan semakin tinggi (Tabel 2). Dengan kata lain, perlakuan iradiasi dapat menghasilkan variasi pertumbuhan pada angrek *B. indusiata*.

a. Tinggi eksplan

Eksplan yang tidak diberi perlakuan iradiasi secara nyata terlihat paling tinggi, yaitu 1,24 cm. Sedangkan eksplan yang mendapat radiasi 30 Gy tingginya hanya 0,97 cm. Perbedaan tinggi tanaman tersebut dapat dikaitkan langsung dengan faktor iradiasi sinar gamma karena faktor jenis media kultur dan interaksi antara kedua faktor tersebut tidak menunjukkan pengaruh yang nyata (Tabel 1). Hasil ini sejalan dengan penelitian Napitupulu (2003) pada manggis dan Ratma *et al.* (1998) pada kedelai, dimana biji yang mendapat iradiasi sinar gamma menghasilkan tanaman yang lebih pendek dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan iradiasi).

b. Daun

Jumlah daun terbanyak dihasilkan oleh eksplan yang menerima dosis radiasi 10 Gy, yaitu sebanyak 1,61 helai, namun tidak berbeda secara nyata dengan kontrol (1,47 helai). Kemampuan eksplan untuk menghasilkan daun menurun seiring dengan pemberian dosis radiasi yang semakin besar (Tabel 2). Sedangkan variasi bahan organik dalam media Vacin & Went tidak memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap kemampuan eksplan membentuk daun (Tabel 3).

Tabel 2. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan eksplan *Brachypeza indusiata* pada 28 MSP.

Dosis iradiasi (Gy)	Pertumbuhan eksplan			
	Tinggi Eksplan (cm)	Jumlah Daun	Panjang Daun (cm)	Lebar Daun (cm)
0	1.24 a	1,47 a	1.04 a	1.03 a
10	1.14 b	1,61 a	0.89 b	0.83 b
20	0.99 c	1,03 b	0.79 c	0.78 b
30	0.97 c	0,93 b	0,74 c	0.73 b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% dalam uji DMRT

Ukuran daun bervariasi karena pengaruh iradiasi. Semakin tinggi dosis radiasi yang diberikan semakin pendek dan semakin sempit daun yang dihasilkan (Tabel 2). Disamping itu hampir semua eksplan yang diberi perlakuan iradiasi menghasilkan daun yang lebih tebal. Hal

serupa juga pernah dilaporkan oleh Grosch *et al.* (1979) yang menyatakan bahwa penebalan pada daun tomat disebabkan oleh meningkatnya panjang palisade dan penebalan bunga karang, dan secara kuantitatif terdapat hubungan antara bentuk dengan dosis radiasi.

Sementara itu pengaruh media terhadap pertumbuhan daun pada eksplan *B. indusiata* juga terlihat jelas dan tidak terkait (tidak terjadi interaksi) dengan pengaruh perlakuan iradiasi. Eksplan yang tumbuh pada media Vacin & Went + pisang menghasilkan daun yang lebih panjang dan lebih lebar dibandingkan dengan eksplan yang tumbuh pada media Vacin & Went + tomat (Tabel 3). Pertumbuhan eksplan yang lebih baik pada media Vacin & Went + pisang mungkin disebabkan oleh kandungan gula, seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa, yang cukup tinggi pada pisang ambon. Menurut Enakasha *et al.* (1993), sumber sukrosa dalam media mempengaruhi proliferasi.

Tabel 3. Pengaruh jenis media terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun *Brachyepiza indusiata* pada 28 MSP

Jenis media	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)
Vacin & Went + pisang	1.10a*	1.30a	0.93a	0.93a
Vacin & Went + tomat	1.05a	1.14a	0.81b	0.78b

*Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 1% dalam uji DMRT

Hasil pengamatan terhadap warna daun yang dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan *Dictionary of Color* menunjukkan terjadinya variasi warna daun sebagai akibat iradiasi (Tabel 4). Semakin besar dosis radiasi yang diberikan maka warna daun berubah dari hijau tua menjadi kuning kehijauan. Hal ini sesuai dengan pendapat Grosch *et al.* (1979) bahwa terjadinya penyimpangan pada daun akibat pemberian iradiasi dapat menimbulkan mosaik pada daun karena perubahan warna daun.

Kualitas kepekatan warna daun juga dipengaruhi oleh jenis media yang digunakan. Eksplan yang tumbuh pada jenis media Vacin & Went + pisang warna daunnya lebih tua dibandingkan dengan eksplan pada media

Vacin & Went + tomat (Tabel 4). Tidak ditemukan adanya interaksi antara pengaruh perlakuan iradiasi dengan jenis media yang digunakan (Tabel 1).

Tabel 4. Pengaruh iradiasi dan jenis media kultur terhadap warna daun *Brachyepiza indusiata* pada 28 MSP

Jenis media	Dosis radiasi (Gy)				Rata-rata
	0	10	20	30	
Vacin & Went + pisang	3,60*	4,09	3,12	3,54	3,6a**
Vacin & Went + tomat	3,30	3,51	2,63	2,36	3,1b
Rata-rata	3,5ab	3,7a	2,9b	2,9b	

* Nilai 1,0 - 1,9 = kuning, 2,0 - 2,9 = hijau muda, 3,0 - 3,9 = hijau, 4,0 - 4,9 = hijau tua; ** Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom atau baris yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% dalam uji DMRT.

c. Akar

Pertumbuhan akar masih sangat rendah hingga 28 MSP. Eksplan yang sudah berakar hanya teramat pada kontrol dan perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Rata-rata panjang akar pada kontrol adalah 0,30 cm sedangkan pada perlakuan iradiasi 10 Gy hanya 0,24 cm (Tabel 5). Secara umum hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi cenderung menghambat pertumbuhan akar pada eksplan *B. indusiata*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ramayanti (2003) yang menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan akar *Phalaenopsis amabilis* terjadi pada semua perlakuan iradiasi. Davidson (1974) juga menyatakan bahwa pemberian radiasi pada daerah meristem akar dapat menghambat pertumbuhan akar. Namun hasil penelitian Krisnaningtyas (2003) menunjukkan bahwa dosis 10 Gy merupakan dosis terbaik untuk merangsang inisiasi akar, jumlah akar dan panjang akar pada tanaman *Dianthus caryophyllus* L.

Eksplan yang tumbuh pada media Vacin & Went + pisang memiliki jumlah akar paling banyak (Tabel 5). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) warna media yang menjadi lebih gelap dengan penambahan pisang ambon lumut mengakibatkan kurangnya cahaya yang sampai ke zona perakaran eksplan sehingga mampu merangsang pembentukan akar. Disamping itu Thiamin

yang terkandung pada pisang ambon lumut diduga juga turut mempercepat pembelahan sel pada meristem akar. Hasil penelitian Laksmi (2004) juga memperlihatkan bahwa media Vacin & Went dengan penambahan pisang ambon lumut 150 g/l menghasilkan planlet dengan jumlah akar terbanyak pada *Vanda tricolor* Lindl. Meskipun demikian perlakuan media kultur dalam penelitian ini ternyata tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap panjang akar (Tabel 5). Interaksi antara perlakuan iradiasi dan jenis media terhadap parameter panjang akar juga tidak nyata.

Tabel 5. Pertumbuhan akar *Brachyepiza indusiata* pada 28 MSP

a. Jumlah Akar (%)

Jenis media	Dosis radiasi (Gy)			
	0	10	20	30
Vacin & Went + pisang	10	4	0	0
Vacin & Went + tomat	0	6	0	0

b. Panjang akar (cm)

Jenis media	Dosis radiasi (Gy)			
	0	10	20	30
Vacin & Went + pisang	0,30	0,20	0	0
Vacin & Went + tomat	0	0,27	0	0

KESIMPULAN

Iradiasi sinar gamma mampu menginduksi keragaman pada morfologi tanaman *Brachyepiza indusiata* (Reichb.f) Garay. Keragaman morfologi terutama terlihat pada tinggi tanaman serta ukuran dan warna daun. Semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma yang diberikan semakin kecil ukuran tanaman dan semakin pucat warna daun yang dihasilkan. Namun pada tahap ini belum dapat diketahui apakah perubahan morfologi ini bersifat permanen ataukah sementara (transien). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan terutama dengan mengamati pertumbuhan tanaman di lapang. Hal lain yang juga cukup menarik dari penelitian ini adalah bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 10 Gy pada *Brachyepiza indusiata* dapat merangsang

pertumbuhan jumlah daun dan bahkan pemberian dosis 20 Gy masih menunjukkan persentase hidup eksplan yang lebih baik.

Hasil penelitian juga memperkuat pendapat bahwa pemilihan bahan organik sebagai campuran media Vacin & Went yang digunakan untuk menumbuhkan eksplan *Brachyepiza indusiata* perlu mendapat perhatian khusus. Dalam penelitian ini penggunaan bahan organik yang berasal dari tomat cukup efektif mengurangi resiko kematian fisiologis eksplan. Sedangkan penggunaan pisang ambon lumut dapat merangsang inisiasi dan pertumbuhan daun maupun akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. and R. Ernst. 1993. *Micropropagation of orchids*. John Wiley & Sons Inc., New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore.
- Damayanti, H. 1997. Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap keragaman tanaman *Gloksinia* dari eksplan pucuk yang diperbanyak secara in vitro. Skripsi, Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Davidson, G. 1974. *Genetic Control of Insects Pests*. Academic Press, New York.
- Djojosoebagio, S. 1988. *Dasar-dasar Radioisotop dan Radiasi dalam Biologi*. Pusat Antar Universitas IPB Bogor. Bogor. 339 hal.
- Enakasha, W. and R. Artega. 1993. Taxus callus culture: initiation, growth optimization, characterization and taxon production. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 35:181-193.
- Grosch, D. and E. Larry. 1979. *Biological effects of radiations*. Academic Press. 338 p.
- Haber, A. 1972. Ionizing radiation effects on higher plants, p.232-242. In Buetow, D.E. and P. Cameron (eds.) *Concepts in Radiation Cell Biology*. Academic Press, New York
- Hendaryono dan Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius, Yogyakarta. Hal:30.
- Krisningtyas, T. 2003. Pengaruh radiasi sinar gamma dan subkultur berulang terhadap keragaman somaklonal tanaman *Dianthus caryophyllus L.* secara in vitro. Skripsi, Jurusan Budi Daya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Laksmi. 2004. Pengaruh jenis media transplanting terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Vanda tricolor* Lindl. asal protocorm. Skripsi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Nurmalinda dan K. Effendie. 1997. Agroekonomi anggrek. Dalam *Buku Komoditas* No.3. Balai Penelitian Tanaman Hias, Jakarta.
- Oey, N.K. 1992. *List of Food Analysis*. Faculty of Medicine, University of Indonesia.
- Opena, R.T. dan H.A.M. van der Vossen. 1994. *Lycopersicon esculentum* Miller. In Siemonsma, J.S. and K. Piluek (eds.) *Plant Resources of South-East Asia. No. 8. Vegetables*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia.
- Pierik, R.L.M. 1997. *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff Publishers, The Netherlands. 344p.
- Ramayanti, N. 2003. Pengaruh dosis radiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan dan perkembangan protocorm-like-bodies anggrek bulan hibrida. Skripsi, Jurusan Budi daya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Soertini, S.K., Suskandari dan S. Rianawati. 1999. Pengaruh radiasi sinar gamma pada tanaman anggrek *Vanda Douglas* Var Genta Bandung terhadap penampilan dan produksi bunga. Dalam *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi isotop dan Radiasi BATAN*, Jakarta. p:57-61.
- Van Harten, A.M. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. Cambridge University Press. 353 p.
- Van Harten, A.M. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Dioscorides Press, Portland.