



Agrotekma
Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian
Available online <http://ojs.uma.ac.id/index.php/agrotekma>

Induksi Kalus dengan BAP (*Benzylaminopurin*) dan IAA (*Indoleacetic acid*) pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L.) Lokal Genotipe Lotanbar Sumatera Barat

Induction of Callus With BAP (*Benzylaminopurin*) and IAA (*Indoleacetic acid*) in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) Local Genotype Lotanbar West Sumatera

Saipul Sihotang^{1)*}, Renfiyeni²⁾, Irfan Suliansyah³⁾ & Jamsari⁴⁾

¹ Program Bioteknologi, Universitas Andalas, Indonesia

²Jurusan Agroteknologi, Universitas Mahaputra Muhammad Yamin, Indonesia

³ Jurusan Agroteknologi, Fakultas Agroteknologi, Universitas Andalas, Indonesia

⁴Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Agroteknologi, Universitas Andalas Indonesia

Diterima: Mei 2019; Disetujui: Juni 2019; Dipublish: Juni 2019

*Corresponding Email: sihotangsaipul@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media induksi kalus terbaik secara in vitro. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dan eksperimental, data analisis secara statistik menggunakan sidik ragam satu arah dan dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf $P = 0,05$ menggunakan software SPSS 23. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media induksi kalus terbaik yaitu 4,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA dengan kecepatan pembentukan kalus (hari) dan rata-rata kalus yang terbentuk yaitu 4,33 hari dan 9,67 kalus.

Kata Kunci: Induksi, In Vitro, Genotipe, Lotanbar, Kalus

Abstract

This study was aimed to obtain the method in the study of callus induction of in vitro. The research activities were carried out at Laboratory of Biotechnology, Faculty of Agrotechnology, Andalas University. This research used descriptive and experimental methods. One-way ANOVA analysis followed by Duncan's test was used to determine significant differences ($P \leq 0.05$). All statistical analysis were performed using the SPSS Ver. 23 statistical software package. The results showed that medium of callus induction is 4,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA with formation of callus (days), and average of callus formed, namely 4,33 days, and 9,67 callus.

Keyword: Induction, In Vitro, Genotype, Lotanbar, Callus

How to Cite: Sihotang, S. Renfiyeni, Suliansyah, I. & Jamsari. (2019). Induksi Kalus dengan BAP (*Benzylaminopurin*) dan IAA (*Indoleacetic acid*) pada Tanaman Cabai (*Capsicum Annuum* L.) Lokal Genotipe Lotanbar Sumatera Barat. *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian*. 3 (2): 67-74.

PENDAHULUAN

Capsicum annuum (famili solanaceae) merupakan salah satu tanaman sayuran yang diutamakan dalam rencana strategis Kementerian Pertanian Republik Indonesia tahun 2015-2019 (Kementan, 2015). Selain digunakan sebagai bahan bumbu masakan dan bahan industri makanan, cabai juga memiliki kandungan nutrisi yang berpotensi sebagai tanaman obat (Faramayuda *et al.*, 2016). Sebagai tanaman sayuran yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi, tanaman cabai dihadapkan dalam berbagai masalah.

Berdasarkan Badan Pusat Statistik Tanaman Sayuran dan Buah-buahan Semusim Indonesia (2016), produksi nasional tanaman cabai mengalami penurunan sebesar 18 %. Jika dibandingkan dengan negara lain, saat ini Indonesia berada pada urutan ke empat produsen cabai terbesar dunia dengan nilai produksi bersih US\$ 812 ribu, diurutan pertama yaitu China dengan nilai produksi bersih US\$ 7,4 juta, diurutan kedua yaitu Meksiko dengan nilai produksi bersih US\$ 1,8 juta dan diurutan yang ketiga yaitu Turki dengan nilai produksi bersih US\$ 1,01 juta (FAO, 2017).

Beberapa faktor yang penyebab rendahnya produktivitas cabai di Indonesia

di seperti: penggunaan benih yang kurang bermutu, teknik budidaya yang belum sempurna, dan tingginya serangan hama dan penyakit.

Tinggi serangan penyakit seperti penyakit antranoksa, layu fusarium dan virus merupakan salah satu aspek yang menyebabkan kehilangan hasil yang cukup tinggi pada pertanaman cabai di Indonesia. Jamsari *et al.*, (2016) melaporkan bahwa serangan virusgemini telah menyebabkan kehilangan hasil yang tinggi dengan luas serangan yang tinggi pula pada pertanaman cabai di Sumatera Barat. Sementara kebutuhan konsumsi cabai masyarakat dari tahun ke tahun mengalami peningkatan.

Kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan tanaman dengan memanfaatkan bagian tanaman (totipotensi) dan dikultur pada media yang terukur serta kondisi aseptis. Di bidang pertanian, kultur jaringan sangat menguntungkan karena dapat menghasilkan jutaan klon tanaman yang sesuai dengan induk dalam waktu singkat. Keberhasilan perbanyakan dalam metode kultur jaringan dipengaruhi beberapa faktor seperti genetik tanaman, sumber eksplan, umur eksplan dan zat pengatur tumbuh (Zulkarnain, 2009; Sihotang, 2019). Berdasarkan hal tersebut perlu adanya metode induksi kalus terbaik

sebagai tahap awal dalam produksi tanaman massal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode induksi kalus terbaik dalam metode regenerasi *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Kultur Jaringan, Fakultas Petanian, Universitas Andalas, Sumatera Barat. Benih cabai yang digunakan yaitu cabai genotipe Lotanbar Sumatera Barat. Media yang digunakan yaitu media dasar MS yang dilengkapi dengan 30 mg L⁻¹ sukrosa dan 7 mg L⁻¹ agar serta pH 4,6. Kultur dipertahankan dengan intensitas cahaya 24 jam, suhu 22-24°C dan kelembapan 42%.

Perkecambahan Benih *in vitro*

Perkecambahan benih dilakukan berdasarkan metode Sihotang (2016) yang dimodifikasi. Benih disterilisasi dengan cara merendam dalam larutan Bayclin (Natrium hipoklorit) 20 % selama 10 menit, 10 % selama 10 menit kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan ditiriskan pada tissue steril. Benih cabai ditanam pada media MS0 yang dilengkapi dengan sukrosa 3 % dan agar 7 g/L pada pH 5,8 selama 15 hari pada suhu 26 °C. Benih cabai ditanam 15 - 20 benih dalam satu botol.

Induksi Kalus

Umur perkecambahan cabai yang digunakan sebagai bahan untuk induksi kalus yaitu 10-14 hari. Eksplan yang digunakan yaitu hipokotil dengan ukuran 0,5-0,8 cm. Media induksi kalus yaitu MS dasar dengan penambahan ZPT BAP dengan taraf konsentrasi (0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0) mg L⁻¹ dan IAA (0,0; 0,5; 1,0) mg L⁻¹. Penelitian ini terdiri dari 15 kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan sehingga terdapat 45 satuan percobaan.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dan eksperimental. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dan analisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjutan *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf P ≤ 5 %. Parameter pengamatan pada penelitian adalah umur eksplan membentuk kalus, dan rata-rata kalus yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

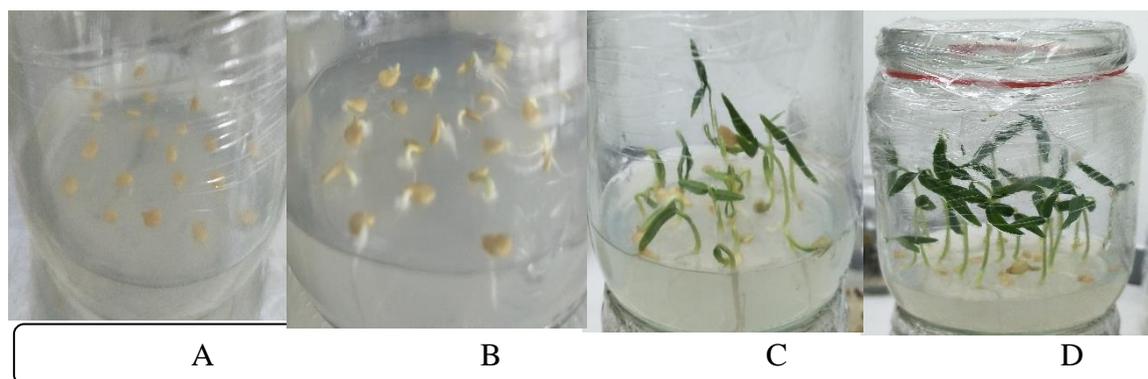
Perkecambahan Benih *in vitro*

Perkecambahan benih cabai dilakukan mengikuti modifikasi metode sterilisasi oleh Sihotang (2016). Benih cabai yang ditanam pada media dasar MS menunjukkan

hasil dengan persentase perkecambahannya mencapai 100 %, dapat dilihat pada Gambar 1.

Perkecambahan merupakan tahap awal yang dilakukan sebelum ke tahap induksi kalus. Benih merupakan biji hasil seleksi sebagai sumber perbanyakannya

tanaman yang dibedakan secara biologis, agronomis, dan fisiologis. Di dalam biji terdapat berbagai komponen kimia yang berperan sebagai embrio yang aktif tumbuh menjadi individu baru apabila berada pada kondisi lingkungan yang sesuai.



Gambar 1. Perkecambahan benih umur 1-10 hari; A. 1 hari; B. 4 hari; C. 7 hari; D. 10 hari

Gambar 1 merupakan tahapan perkecambahan benih cabai mulai dari 1-10 hari. Metode sterilisasi yang dimodifikasi oleh Sihotang (2016) menunjukkan hasil perkecambahan mencapai 100 %. Tidak adanya kontaminasi dan kematian benih menunjukkan adanya kesesuaian konsentrasi dan bahan sterilant yang diberikan. Tahapan awal perkecambahan yaitu munculnya radikula pada benih umur 3-6 hari (gambar A). Selanjutnya hipokotil muncul pada umur 4-5 hari perkecambahan (gambar B). Diikuti pembentukan kotiledon muncul pada umur 5-6 hari (gambar C). Serta daun muncul pada umur 20-25 hari (gambar D).

Penggunaan Natrium hipoklorit sebagai bahan sterilant dengan pertimbangan sebagai bahan yang mengandung basa kuat yang mampu merusak dinding sel mikroorganisme. Garam NaOCl (natrium hipoklorit) merupakan bahan desinfektan yang bersifat antiseptik yang mampu merusak dinding sel mikroorganisme.

Renfiyeni (2015) melaporkan bahwa bahan sterilant dan konsentrasi bahan sterilant yang digunakan sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan benih *in vitro*. Sterilisasi bertingkat merupakan metode yang sangat efektif digunakan sebagai metode sterilisasi permukaan pada benih untuk

tujuan perkecambah in vitro (Nasution, 2016; Sihotang, 2016; Renfiyeni, 2016; Sihotang, 2019).

Induksi kalus

Pada penelitian induksi kalus, eksplan yang digunakan yaitu hipokotil dengan perkecambahan berumur 10-14

hari. Eksplan yang dikultur pada media induksi kalus yang mengandung BAP dan IAA dengan berbagai taraf konsentrasi menunjukkan respon yang beragam baik kecepatan pembentukan kalus dan rata-rata kalus yang terbentuk, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kecepatan pembentukan kalus (hari) setelah induksi BAP dan IAA pada berbagai konsentrasi

BAP/IAA	I ₀	I ₁	I ₂	Rataan
B ₀	-	11,33 e	10,67 e	10,00 d
B ₁	6,67 bd	6,67 d	6,00 cd	6,45 c
B ₂	5,33 abc	4,33 a	5,00 ab	4,89 a
B ₃	6,67 bd	4,67 ab	4,67 ab	5,34 b
B ₄	5,67 abc	4,67 ab	5,00 ab	5,11 b
Rataan	4,87 A	6,33 B	6,27 B	

Keterangan: huruf yang berbeda pada kolom (huruf kecil) dan baris (huruf besar) menunjukkan berbeda nyata pada taraf $P \leq 0.05$ pada analisis DNMRT

Tabel 1 menunjukkan bahwa adanya perbedaan kecepatan pembentukan kalus pada eksplan hipokotil setelah induksi BAP dan IAA. Terlihat bahwa pemberian kombinasi perlakuan B2I1 merupakan kombinasi perlakuan terbaik dengan kecepatan pembentukan kalus yaitu 4,33 hari. Selanjutnya hasil analisis lanjut pada uji tunggal pada faktor perlakuan menunjukkan bahwa pemberian BAP 4 mg L-1 merupakan perlakuan yang menunjukkan adanya kesesuaian media dengan eksplan yang menunjukkan kecepatan pembentukan kalus yaitu 4,89 hari. Sedangkan pemberian IAA 0,0 mg L-1 merupakan perlakuan terbaik dengan kecepatan pembentukan kalus yaitu 4,87 hari. Hal ini mengindikasikan bahwa

pemberian hormon sitokinin sangat mempengaruhi kecepatan pembentukan kalus. Sedangkan pemberian auksin tunggal membutuhkan waktu yang lebih lama atau tidak membentuk kalus sama sekali.

Kombinasi media perlakuan merupakan salah satu factor dalam keberhasilan induksi kalus. Pada penelitian ini kombinasi media perlakuan yang diberikan relative sama dengan induksi kalus pada eksplan hipokotil yang dilakukan oleh Manzila (2010) dan Grozeva (2015). Terdapatnya interaksi antar peubah kecepatan pembentukan kalus dengan taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberi menunjukkan adanya kaitan yang erat

antar peubah yang diuji. Namun demikian, proliferasi kalus pada eksplan hipokotil yang dikultur pada media yang dilengkapi IAA tanpa BAP justru memerlukan waktu yang cukup lama atau tidak membentuk kalus sama sekali. Sama halnya dengan perlakuan kontrol (tanpa BAP dan IAA

menunjukkan tidak terbentuknya kalus sama sekali. Hal ini dikarenakan IAA merupakan hormone sintetik golongan auksin yang lebih cenderung berperan dalam pembentukan akar (Verma et al., 2013; Senjaya, 2017).

Tabel 2. Rataan kalus yang terbentuk setelah induksi BAP dan IAA berbagai konsentrasi selama 3 MST

Perlakuan	Minggu Setelah Kultur		
	1	2	3
B0I0	-	-	-
B0I1	-	-	1,00 g
B0I2	-	-	1,67 g
B1I0	1,33 bc	3,00 g	5,67 def
B1I1	1,67 b	7,00 bcd	7,33 bcd
B1I2	2,67 ab	5,67 def	6,67 cde
B2I0	1,33 bc	4,00 fg	6,00 de
B2I1	3,67 a	9,00 a	9,67 a
B2I2	2,33 b	8,00 ab	8,67 ab
B3I0	1,33 bc	4,00 fg	5,33 ef
B3I1	2,00 b	5,33 def	6,00 de
B3I2	2,67 ab	6,00 cde	6,67 cde
B4I0	1,67 b	3,00 g	4,00 f
B4I1	3,67 a	7,67 abc	8,00 abc
B4I2	1,33 bc	5,00 ef	6,00 de

Keterangan: huruf yang berbeda pada kolom (huruf kecil) dan baris (huruf besar) menunjukkan perbedaan nyata pada taraf $P \leq 0.05$ pada analisis DNMRT

Tabel 2 menunjukkan adanya variasi rataan kalus yang terbentuk setelah induksi BAP dan IAA pada media yang dikultur. Perlakuan B2I1 merupakan kombinasi perlakuan terbaik dengan rataan pembentukan kalus yaitu 9,67. Sedangkan pemberian IAA tanpa BAP dan perlakuan kontrol sangat mempengaruhi pembentukan kalus. Pemberian IAA tanpa BAP dan perlakuan kontrol menunjukkan paling lama pembentukan kalus bahkan tidak terbentuk sama sekali. Hal ini mengindikasikan bahwa factor perlakuan

sangat mempengaruhi pembentukan kalus pada eksplan hipokotil cabai. Menurut Zulkarnain (2009) pembentukan kalus dari material yang dikultur dalam system kultur in vitro melibatkan perkembangan sel yang berlangsung secara acak dan tidak merata, disamping keterlibatan sel-sel yang belum terspesialisasi dan hilangnya struktur sel-sel yang terorganisasi.

Kesesuaian media perlakuan yang diberi dan sumber eksplan merupakan tolak ukur dalam keberhasilan induksi

kalus pada jaringan tanaman (Renfiyeni, 2015; Nasution, 2016; Sihotang, 2016; Senjaya; 2017). Konsentrasi BAP yang tinggi dan IAA yang rendah merupakan perlakuan terbaik dalam menginduksi kalus pada cabai (Ramchandra et al., 2017). Menurut Zulkarnain (2009) BAP merupakan hormon sintetik yang memiliki konsistensi dalam menginduksi kalus jika dibandingkan dengan zeatin dan thidiazuron. Secara histologis kalus merupakan hasil pembelahan sel secara terus-menerus pada sel parenkim disekitar berkas pengangkut dan beberapa elemen penyusunya akibat zat pengatur tumbuh yang diberikan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut; Metode sistem regenerasi in vitro yang didapat yaitu media induksi kalus terbaik, 4,0 mg L⁻¹ BAP + 0,5 mg L⁻¹ IAA dengan kecepatan pembentukan kalus (hari) dan rata-rata kalus yang terbentuk yaitu 4,33 hari dan 9,67 kalus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Pascasarjana Universitas Andalas atas Hibah Pascasarjana Universitas Andalas dengan kontrak 354/UN16.16-

Penelitian/PP-2018 yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, S. Chandra, N. dan Kothari, S. L. (1989). Plant Regeneration In Tissue Cultures Of Pepper (*Capsicum annuum* L. cv. mathania). *J. Plant. Cell. Tis. and Org. C.* 16: 47-55.
- Ahmad, I., B, Mahir, M., N, and Zaiton, A, (2002). Transformation of Red Chili Cilibangi-2 (*Capsicum annuum* L.) with CDNA of Cucumber Mosaic virus protein gene by direct Uptake. *Pakistan Journal of Biological Science* 5 (6): 683-687.
- Badan Pusat Statistik Tanaman Sayuran dan Buah-buahan Semusim. (2016). Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Cabai.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2017). Beberapa Negara dengan Produksi Cabai Tertinggi Dunia. <http://jesl.detik.com.ac.id/index.php/jfiti/article/view/6787/5231>. Diakses Jumat 6 Januari 2017.
- Faizah, R. (2012). Ketahanan Biokimia Tanaman Cabai Terhadap Begomovirus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning. *J. Fito*: 138-144.
- Faquet, C. M, Mayo, M. A., Maniloff, J. Desselberger, U. dan Ball, L. A. Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV. (2005). London (UK): Academic Press.
- Han, E, Goo, Y., Lee, M, Lee, S. (2015). An Efficient Transformation Method of Potato var Atlantic. *J. Plant Biotechnol.* 42: 77-82.
- Jamsari, J. Ferita, I. Noverta, A. Husada, E. D., Herberg, F. W., Nellen, W. dan Syukriani, L. (2016). A Pathogenic Isolate of Monopartite PepYLCV DNA A-like Genome Differs Significantly in C1 Gene and CR Sequence, but not in Their other Genes. *J. Plant Pathol.* 15: 124-134
- Kementerian Pertanian. (2015). Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Cabai. 2009.
- Mansoor, S, Khan, S., H, Bashir, A, Saeed, M, Zafar, Y, Malik, K., A, Briddon, R, Stanley, J, and Markham, P., G. (1999). Identification of a Novel Circular Single-Stranded DNA Associated with Cotton Leaf Curl Disease in Pakistan 199: 190-199.
- Mansoor, S. Zafar, Y, Briddon, R., W. (2006). *Geminivirus* disease complexes; the threat is spreading. *Trends. Plant. Sci.* 11: 209-212.
- Manzila, I., Hidayat, S. H., Mariska, I. dan Sujiprihati, S. (2010). Pengaruh Perlakuan Ethyl Methane Sulfonate pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L .) dan

- Ketahanannya terhadap *Chilli Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) The Effect of Ethyl Methane Sulfonate on Chilli Pepper (*Capsicum annuum* L.) and Their Resistance to Chil, *J. Agro. Bio. I.*, 38: 205–211.
- Nadeak, H., (2016). Perakitan Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Kultivar Nooksack Transgenik yang Mengandung Gen Hd3a. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Nasution, P. (2016). *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan *Naphthaleneacetic Acid* (NAA) Mempengaruhi Pertumbuhan Planlet Nenas (*Ananas comosus* (L.)Merr) Pada Media MS secara *In vitro*. Skripsi Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
- Pedri, J, and Jamsari. (2013). Urutan Nukleotida lengkap DNA A-seperti Genome dan DNA- β dari monopartite Lada Yellow Leaf Curl Virus , A *annuum* Dominan Begomovirus yang menginfeksi *Capsicum* di West Sumatera Indonesia. Page : 1–14.
- Ramchandra, S., and Science, P., S, (2015). Optimization Of Callus And Cell Suspension Culture Of *Capsicum Annum*. *Int J Pharma Bio Sci*, page: 664–671.
- Renfiyeni, Yusniwati, Trisno, J, dan Jamsari. (2015). Calli Induction Of Some Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes As Material For Genetic Transformation, *Andalas University*, 1: 75–80.
- Renfiyeni. (2015). Studi Regenerasi Dan Transformasi Genetik *Gen Coat Protein* Dan *Beta Component* Geminivirus melalui *Agrobacterium tumefaciens* pada Tiga Genotipe Cabai (*Capsicum annuum* L.) Pascasarjana Universitas Andalas.
- Santoso, T., J. (2008). Identifikasi Begomovirus Indonesia Pada Tomat Dan Analisis Diversitas Genetik Gen Av1 Serta Pemanfaatannya Untuk Pengembangan Tanaman Tahan Virus Indonesia Pada Tomat Dan Analisis Diversitas Genetik Gen Av1. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Sihotang, S. (2016). Stimulasi Tunas Pisang Barangan (*Musa acuminata* L.) secara *In Vitro* dengan Berbagai Konsentrasi IBA dan BAP. Skripsi. Universitas Medan Area.
- Sihotang, S. (2019). Studi Optimasi Regenerasi *In Vitro* dan Transformasi Genetik DNA satelit Geminivirus menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* pada cabai (*Capsicum annuum* L.). Tesis. Universitas Andalas.
- Sudiono, N, dan Yasin, S., H, H, (2005). Penyebaran Dan Deteksi Molekuler Virus Gemini Penyebab Penyakit Kuning Pada Tanaman Cabai Di Sumatera, *Jurnal Tropika*, 5(2), hal. 113–121.
- Sulandari, SRI, Suseno, R., Hidayat, S., H, Harjosudarmo, J., dan Sosromarsono, S., (2006). Deteksi dan Kajian Kisaran Inang Virus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai,” *HAYATI Journal of Biosciences*. Institut Pertanian Bogor, 13(1): 1–6.
- Widiarti, W. (2016). Transformasi Genetik Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) kultivar Jala Ipam dengan Gen Hd3a. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Wulandari, D. (2015). Rekayasa Genetik *Nicotiana tabacum* Kultivar Sr1 dengan Gen Peroksidase (Perl) Dari Kedelai Kultivar Lumut. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Verma, S. Dhiman, K. dan Srivastava, D. K. (2013a). *Agrobacterium*-Mediated Genetic Transformation of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L. Cv . California Wonder). *Inter J. of Advan. Biotech. R.* 4 : 97-403
- Verma, S. Dhiman, K. dan Srivastava, D. K. (2013b). Efficient *In Vitro* Regeneration From Cotyledon Explants in Bell Pepper (*Capsicum annuum* L. cv. California Wonder). *Inter. J. of Adv. Biotec. and R.* 4 : 391-396.
- Yang L, Hu W, Xie Y, Li Y, dan Deng Z, (2016). *Scientia Horticulturae* Factors affecting *Agrobacterium* -mediated transformation efficiency of kumquat seedling internodal stem segments, 209: 105–112..
- Zulkarnain. (2009). Kultur Jaringan, PT. Bumi Aksara: Jakarta.