

NASKAH PUBLIKASI

HIDROGEN PEROKSIDA (H₂O₂) PADA KULTUR *IN VITRO* EMBRIO KEPEL (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson) (*Sterilization Optimazation Using Hydrogen Peroxide (H₂O₂) In Tissue Culture Embrio Kepele Stelechocarpus burahol [Bl.] Hook. F. & Thomson*)

Riffa Leshia Mukhvi Nur Alawiyah¹
Etty Handayani² Innaka Ageng Rineksane³
Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian UMY

Abstract. *Kepele* or which has a Latin name (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson) are native plants of Yogyakarta. *Kepele* plants are one of the rare plants and are not widely cultivated due to lack of economic attractiveness. The reason is that the method of multiplication is difficult to do. One method of propagation that can be done is by way of *In vitro* culture. The study was carried out by a single factor laboratory experiment method consisting of 6 treatments compiled with Completely Randomized Design (CRD). Each treatment was repeated 3 times with each test consisting of 3 samples to obtain 54 units. The treatment given is H₂O₂ concentration of 5%, 10%, 15% for 10 minutes and 15 minutes. Research results of *kepele* embryo explants sterilized using H₂O₂ solutions with a concentration of 5%, 10%, and 15% and immersion duration for 10 minutes and 15 minutes showed the percentage of explants live 100%, percentage contamination by 0%, and browning percentage of 22, 22%.

Keywords: *Burahol, Embryo Culture, H₂O₂, Sterilization*

Abstrak. *Kepele* atau yang mempunyai nama latin (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson) merupakan tanaman asli Yogyakarta. Tanaman *kepele* merupakan salah satu tanaman langka dan tidak banyak dibudidayakan karena kurangnya daya tarik ekonomi. Penyebabnya yaitu cara perbanyakannya yang sulit dilakukan. Salah satu cara perbanyakannya yang dapat dilakukan yaitu dengan cara kultur *In vitro*. Penelitian dilaksanakan dengan metode percobaan Laboratorium faktor tunggal yang terdiri atas 6 perlakuan yang disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan masing-masing ulangan terdiri dari 3 sampel sehingga didapatkan 54 unit. Adapun perlakuan yang diberikan yaitu konsentrasi H₂O₂ 5%, 10%, 15% selama 10 menit dan 15 menit. Hasil penelitian eksplan embrio *kepele* yang di sterilisasi menggunakan larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% serta lama perendaman selama 10 menit dan 15 menit menunjukkan persentase eksplan hidup 100%, persentase kontaminasi sebesar 0%, dan persentase *browning* sebesar 22,22%.

Kata kunci : *Burahol, Kultur Embrio, H₂O₂, Sterilisasi*

PENDAHULUAN

Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Thomson) adalah tanaman yang termasuk ke dalam keluarga *Annonaceae* atau keluarga sirsak-sirsakan. Tumbuhan kepel memiliki ciri khusus yaitu perbungaannya yang *Hemicyclic* atau dengan kata lain berasal dari mahkota yang berbentuk lingkaran dan untuk benang sari dan putiknya memiliki bentuk yang spiral. *Annonaceae* termasuk bangsa *Polycarpiceae* yang berarti tumbuhan ini memiliki buah yang banyak. Kepel adalah salah satu tanaman yang dijadikan penciri atau tanaman khas dari Daerah Istimewa Yogyakarta (Haryanto, 2012).

Daging buah kepel memiliki kandungan flavonoid dan saponin, yang diketahui mempunyai manfaat sebagai anti mikroba, anti inflamasi, anti virus dan anti oksidan (Lenny dan Sofia, 2006). Senyawa lain yang terkandung dalam buah kepel yaitu senyawa bioaktif seperti *cyclooxygenase-2 inhibitor*, *hyperuricemis*, zat sitotoksik anti kanker, deodoran oral, dan senyawa phytoestrogen yang terdapat pada buah, biji, bunga, daun dan kulit batang (Retno dkk., 2015).

Kepel adalah salah satu tanaman yang saat ini belum dijadikan sebagai usaha agribisnis. Alasan masyarakat tidak tertarik dan memperhatikan tanaman kepel adalah kurangnya daya tarik ekonomi dari kepel (Tisnadjaja dkk., 2006). Alasan lain mengapa masyarakat kurang tertarik untuk membudidayakan kepel adalah faktor buahnya. Buah kepel yang berbiji besar dibandingkan dengan ukuran daging buahnya, sehingga bagian dari buah atau daging buah yang dapat dimakan hanya sedikit. Budidaya tanaman kepel ini juga hanya dapat dilakukan melalui persemaian biji dan cara ini membutuhkan waktu yang cukup lama. Menurut Moge (2001), tanaman kepel sudah berada dalam status kelangkaan atau termasuk dalam kategori CD (*Conservation Dependent*). Budidaya kepel sudah berada dalam status kelangkaan, dan menyebabkan sulitnya perbanyakan kepel untuk dilakukan.

Faktor utama yang menyebabkan biji kepel sulit dibudidayakan adalah bijinya yang sulit untuk berkecambah dan belum ditemukan cara perbanyakan vegetatif di alam pada biji kepel. Tekstur dari biji kepel ini memiliki kulit yang keras dan biji kepel memiliki masa dormansi yang cukup panjang yaitu berkisar 4

sampai 6 bulan, untuk dapat berkecambah tanpa diberikan perlakuan khusus. Waktu dormansi biji yang lama ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu keadaan fisik biji yang memiliki tekstur keras pada bagian kulit maupun pada bagian endosperemnya (Mashud *et al.*,1989).

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk memperbanyak buah kepel yaitu menggunakan metode kultur *In vitro*. Teknik kultur *In vitro* sudah lama digunakan sebagai salah satu metode perbanyakan serta produksi senyawa bioaktif dari tumbuhan. Teknik kultur *In vitro* pada dasarnya dapat menumbuhkan semua bagian tumbuhan, sesuai dengan teori totipotensi. Perbanyakan yang dilakukan dapat menggunakan bagian biji, kalus, daun, embrio, endosperm, dan bagian tumbuhan yang lainnya. Pada percobaan ini, bagian tumbuhan yang diperbanyak secara kultur jaringan yaitu bagian embrio dari biji kepel.

Menurut George dan Sherrington (1984; Struik, 1991; Narayawamy, 1994), kultur *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman dan ditumbuhkan untuk menjadi tanaman yang utuh pada keadaan *In vitro* atau pada lingkungan yang aseptik. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* salah satunya adalah media yang digunakan. Media yang digunakan ini meliputi sumber eksplan, unsur hara makro dan mikro, pemberian ZPT, bahan pematid media dan kondisi bahan, serta ruangan yang steril dan peralatan yang digunakan. Respon dari pertumbuhan suatu planlet pada proses kultur *in vitro* akan berlangsung pada jenis tanaman yang dikulturkan.

Permasalahan yang sering terjadi pada kultur *In vitro* yaitu kontaminasi sehingga akan berdampak buruk pada eksplan yang sedang di kultur *In vitro*. Adapun cara yang dapat digunakan untuk mencegah dan menghindari kontaminasi dapat dilakukan menggunakan sterilisasi. Sterilisasi tersebut tidak hanya dilakukan pada bahan eksplan saja namun dapat juga dilakukan pada ruangan yang digunakan, bahan dan peralatan yang digunakan pada teknik kultur *in vitro*. Proses sterilisasi eksplan adalah salah satu kegiatan yang dianggap penting dalam teknik kultur *in vitro*. Proses sterilisasi eksplan ini sendiri bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang besar kemungkinan terbawa pada saat pengambilan eksplan, sehingga hal tersebut dapat menimbulkan kontaminasi yang

pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan selama kultur *in vitro*. Ada beberapa bahan desinfektan yang digunakan dalam proses sterilisasi diantaranya HgCl_2 , NaClO , dan H_2O_2 (Gunawan, 1992; Sugiyama, 1999).

Hidrogen peroksida memiliki sifat fisik yaitu berat molar sebesar 34,0147 g/mol, densitas sebesar 4g/cm³ (cair), memiliki titik cair -110C (262,15 °K), memiliki titik didih 150,20 °C (423,35 °K), memiliki keasaman (pKa) 11,65, tingkat viskositas 1,245 cP pada suhu 200 °C, dengan penampakan tidak berwarna dan tidak berbau. H_2O_2 juga adalah larutan oksidan yang lebih kuat dari klorin, klorin dioksida dan kalium permanganate.

Hidrogen peroksida ini dapat menghambat pertumbuhan cendawan dan bakteri dengan cara menghidrolisis sel atau menggumpalkan protein yang terdapat pada protoplasma. Protein yang telah menggumpalkan kehilangan fungsinya, sehingga cendawan dan bakteri akan mengalami kematian.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah botol kultur, erlenmayer, gelas ukur, botol jam, pinset, skalpel, petridish, pisau, nampan, timbangan analitik, mangkuk timbang, aluminium foil, pengaduk kaca, *Laminar Air Flow*, pH stik, autoklaf, lampu bunsen, rak kultur. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah embrio biji kepel, larutan H_2O_2 , alkohol 70%, detergen 5%, bakterisida dan fungisida, betadine, aquades steril, kertas payung, karet, spirtus, medium Murashige and Skoog (MS), NAA, BAP, gula pasir, agar, stok makro dan stok mikro

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode percobaan Laboratorium faktor tunggal yang terdiri atas 6 perlakuan yang disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan masing-masing ulangan terdiri dari 3 sampel sehingga didapatkan 54 unit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Sterilisasi Tahap Pertama

Sterilisasi tahap pertama pada penelitian ini yaitu dilakukan dengan menggunakan deterjen sebanyak 2 gram selama 10 menit, bakterisida dan fungisida sebanyak 2 gram/L selama 60 serta menggunakan larutan H₂O₂ sesuai dengan konsentrasi yaitu 1%, 2%, dan 3% selama 5 menit dan 10 menit. Sterilisasi pertama yang dilakukan pada penelitian ini tidak memberikan pengaruh yang terlalu besar pada eksplan yang ditanam. Hasil persentase dari pengamatan yang telah dilakukan, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Sterilisasi terhadap Persentase Hidup, Persentase Kontaminasi, dan Persentase *Browning* Eksplan Embrio Biji Kepel selama 2 Minggu

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup	Persentase Eksplan Kontaminasi	Persentase Eksplan <i>Browning</i>	Jenis Kontaminasi	Saat Kontaminasi (HST)
H ₂ O ₂ 1% - 5'	38,89%	11,11%	50%	Bakteri	14
H ₂ O ₂ 1% - 10'	38,88%	2,77%	36,11%	Bakteri	13
H ₂ O ₂ 2% - 5'	66,61%	5,50%	61,11%	Bakteri	13
H ₂ O ₂ 2% - 10'	25,01%	13,88%	61,11%	Bakteri	12
H ₂ O ₂ 3% - 5'	13,89%	0%	86,11%	-	0
H ₂ O ₂ 3% - 10'	13,89%	0%	86,11%	-	0

Persentase Kontaminasi (%)

Berdasarkan hasil pengamatan sterilisasi tahap pertama terhadap pengujian kontaminasi eksplan embrio biji kepel dengan perendaman bahan sterilan H₂O₂, menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi 3% H₂O₂ dengan lama perendaman selama 5 menit serta pada perlakuan konsentrasi 3% H₂O₂ dengan lama perendaman selama 10 menit persentase kontaminasinya adalah sebesar 0%. Kontaminasi yang terjadi pada kedua perlakuan tersebut, merupakan kontaminasi yang paling rendah diantara kontaminasi yang terjadi pada perlakuan yang lainnya.

Persentase kontaminasi yang relatif dan cenderung tinggi ditunjukkan oleh perlakuan pemberian H₂O₂ 2% dengan lama perendaman selama 10 menit yaitu sebesar 13,88%. Gambar 3 (c) menunjukkan kontaminasi yang terjadi pada permukaan media yang sudah ditanami eksplan embrio kepel. Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri ini mulai muncul pada 12 HST. Luas sebaran kontaminasi oleh bakteri yang ditunjukkan oleh perlakuan pemberian H₂O₂ dengan konsentrasi 2% selama 10 menit ini lebih luas dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya, sehingga angka persentase kontaminasinya pun menunjukkan angka paling tinggi. Hal ini dilihat dari tanda-tanda permukaan media yang digunakan untuk menanam eksplan, menunjukkan adanya lendir berwarna putih ke kuning-kuningan. Menurut Widiastoety (2001), kontaminasi yang terjadi pada eksplan yang ditanam dapat disebabkan karena adanya infeksi secara eksternal maupun internal.

Persentase *Browning* (%)

Berdasarkan hasil pengamatan yang disajikan pada tabel 1 dapat diketahui bahwa semua perlakuan eksplan mengalami persentase *browning*. Persentase *browning* pada konsentrasi H₂O₂ 1% dan lama perendaman selama 5 menit menunjukkan persentase sebesar 50%, persentase *browning* pada perlakuan ini merupakan persentase *browning* paling rendah diantara perlakuan yang lainnya.

Berdasarkan penelitian Rodinah dkk (2016), besarnya persentase *browning* mungkin disebabkan konsentrasi bahan sterilan yang cukup tinggi. Karena terlihat semakin lama eksplan semakin menurun, warna eksplan mulai menguning dan akhirnya kecoklatan. Hal ini ditunjukkan oleh tahapan sterilisasi pertama, bahwa berdasarkan tabel 1 semua perlakuan mengalami persentase *browning* yang tinggi. Perlakuan pemberian konsentrasi 3% H₂O₂ dengan lama perendaman selama 5 menit dan 10 menit menunjukkan persentase *browning* sebesar 86,11%.

Jenis dan Saat Kontaminasi

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada sterilisasi tahap pertama menunjukkan bahwa jenis kontaminasi yang muncul yaitu berupa bakteri, dan waktu tercepat saat kontaminasi yaitu pada 12 HST. Saat kontaminasi tercepat terjadi pada eksplan yang diberi perlakuan konsentrasi H₂O₂ sebesar 2% dengan lama perendaman selama 10 menit. Sterilisasi tahap pertama menunjukkan bahwa semua

konsentrasi bahan sterilan hanya mampu menekan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur, sedangkan kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri belum mampu ditekan secara optimal dengan konsentrasi H₂O₂ yang diberikan. Menurut Gunawan (1988) dalam Hardiyadi (2014), untuk mencegah kontaminasi pada bahan tanam yang sudah mengandung kontaminan internal harus diberi perlakuan fungisida sistemik.

B. Sterilisasi Tahap Kedua

Sterilisasi tahap kedua dilakukan pada embrio kepel dengan menggunakan deterjen sebanyak 2 gram/L selama 10 menit, bakterisida dan fungisida sebanyak 2 gram/L selama 60 menit, serta menggunakan larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% selama 10 menit dan 15 menit. Sterilisasi tahap kedua ini dimulai dengan memisahkan bagian biji kepel dengan daging buah, kemudian biji kepel dibelah dan diambil bagian embrionya. Bagian embrio yang sudah diambil kemudian selanjutnya diletakkan pada botol jam steril untuk kemudian direndam dengan menggunakan deterjen selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan menggunakan air sebanyak 3 kali. Tabel atau data pengamatan pada sterilisasi kedua ini disajikan pada tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Pengaruh Sterilisasi terhadap Persentase Hidup, Persentase Kontaminasi, dan Persentase *Browning* Eksplan Embrio Biji Kepel selama 8 Minggu

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup	Persentase Eksplan Kontaminasi	Persentase Eksplan <i>Browning</i>	Saat <i>Browning</i> (HST)
5% H ₂ O ₂ + 10 menit	100%	0%	0%	-
5% H ₂ O ₂ + 15 menit	88,89%	0%	11,11%	18
10% H ₂ O ₂ + 10 menit	100%	0%	0%	-
10% H ₂ O ₂ + 15 menit	77,78%	0%	22,22%	15
15% H ₂ O ₂ + 10 menit	100%	0%	0%	-
15% H ₂ O ₂ + 15 menit	93,71%	0%	6,29%	18

Persentase Eksplan Hidup (%)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan embrio biji kepel ini menunjukkan tingkat keberhasilan untuk hidup yang tinggi. Ini berarti dari 54 eksplan yang ditanam, tidak ada satupun eksplan yang mengalami kematian. Persentase eksplan yang hidup dapat dilihat pada tabel 2, bahwa eksplan yang berhasil hidup memiliki

persentase kontaminasi yang rendah bahkan sama sekali tidak menunjukkan angka kontaminasi.

Eksplan embrio biji kepel yang hidup berdasarkan tabel 2 memiliki persentase hidup diatas persentase kemampuan berkecambah suatu benih yaitu sebesar >80%. Penambahan NAA 2 ppm dan BAP 0,5 ppm mungkin dapat mempengaruhi terhadap pertumbuhan eksplan embrio biji kepel ini. Untuk mendapatkan hasil kalus yang baik, diperlukan sumber eksplan yang baik pula. Hal yang perlu dipertimbangkan dalam menentukan eksplan yang tepat untuk menghasilkan kalus yang baik adalah pemilihan bagian tanaman sebagai sumber eksplan sebelum dikulturkan (Gunawan 1992). Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini keberhasilan persentase eksplan yang hidup juga dipengaruhi oleh keadaan eksplan yang baik.

Persentase Kontaminasi (%)

Hasil pengamatan yang telah dilakukan eksplan embrio biji kepel ini tidak menunjukkan adanya kontaminasi baik itu berupa kontaminasi bakteri, jamur, dan lain sebagainya. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2 bahwa persentase kontaminasi pada semua perlakuan yaitu perlakuan A deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 5% 10 menit, perlakuan B deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 5% 15 menit, perlakuan C deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 10% 10 menit, perlakuan D deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 10% 15 menit, perlakuan E deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 15% 10 menit, dan perlakuan F deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 15% 15 menit menunjukkan persentase kontaminasi sebesar 0% yang berarti dari mulai awal tanam eksplan sampai akhir pengamatan tidak terjadi kontaminasi sama sekali.

Perlakuan A yaitu yaitu deterjen 2 g/l + Bakterisida dan Fungisida 2 g/l + Larutan H₂O₂ 5% 10 menit sudah mampu menghambat kontaminasi eksplan dari berbagai sumber eksplan. Perlakuan H₂O₂ 5% dengan lama perendama 10 menit pada penelitian yang telah dilakukan ini memiliki konsentrasi H₂O₂ paling rendah dengan lama perendaman paling sebentar, namun hasil persentase kontaminasi nya pun sudah menunjukkan 0%.

Saat Eksplan *Browning* (hari)

Saat eksplan *browning* adalah suatu indikator yang digunakan untuk mengetahui kecepatan pada saat hari ke berapa eksplan mengalami pencoklatan atau yang disebut *browning*. Pada penelitian ini eksplan *browning* diamati setiap 3 hari sekali. Berdasarkan tabel 2, eksplan embrio kepel yang mengalami *browning* paling cepat terjadi pada perlakuan yang diberi H₂O₂ dengan konsentrasi 10% dan lama waktu perendaman selama 15 menit. *Browning* tercepat terjadi pada saat 15 HST dengan persentase akhir *browning* mencapai 22,22%.

Persentase *Browning* (%)

Hasil pengamatan pada tabel 2 menunjukkan bahwa persentase *browning* pada setiap perlakuan memiliki persentase yang berbeda, persentase *browning* yang relatif rendah terjadi pada perlakuan pemberian H₂O₂ dengan konsentrasi 5% dan 15% serta lama perendaman selama 10 menit yaitu sebesar 0%.

Nilai persentase *browning* yang relatif tinggi ini dapat disebabkan karena konsentrasi sterilan yaitu H₂O₂ yang tinggi. Semakin tinggi konsentrasi bahan sterilan maka semakin tinggi juga kemungkinan tingkat *browning* pada eksplan. Hal ini sesuai dengan penelitian Sabar (2013), penggunaan bahan sterilan dengan konsentrasi yang cukup tinggi dapat menyebabkan *browning* dan menurunkan kemampuan regenerasi eksplan *paulownia*.

Adanya *browning* yang terjadi pada eksplan ini ditandai dengan perubahan warna. Warna eksplan yang pada awal tanam memiliki warna putih tulang atau putih cream ini mengalami perubahan warna yaitu pada 15 HST. Pada pengamatan eksplan berubah sedikit demi sedikit, yang awalnya memiliki warna yang putih menjadi kekuningan dan pada akhirnya eksplan berubah menjadi warna coklat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Penggunaan bahan sterilan hidrogen peroksida mempunyai kemampuan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi pada kultur embrio kepel.
2. Penggunaan H₂O₂ 5% selama 10 menit menunjukkan hasil yang optimum pada sterilisasi embrio biji kepel dengan menunjukkan persentase hidup

sebesar 100%, persentase kontaminasi 0%, dan persentase *browning* sebesar 0%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai induksi eksplan embrio biji kepel dengan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Akin-Idowu PE, DO Ibitoye & OT Ademoyegun (2009). *Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. African J Biotech* 8 (16), 372-378.
- Anis, S., Neni, Damajanti., Oetami D. H. 2015. Pengaruh Sterilan Dan Waktu Perendaman Pada Eksplan Daun Kencur (*Kaemferia galanga* L) Untuk Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus. *Agritech* 8 (1) 11-29.
- Anonim. 1996. Keputusan Gubernur Kepala Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor: 205/KPTS/1996. Tentang Penetapan logo Identitas Flora dan Fauna Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta.
- Basri. 2009. Induksi Tunas Adventif Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) dengan Penambahan BAP dan NAA Secara In Vitro. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Bhojwani, S.S. dan M.K.Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture. Theory and Practice. Developmet in Crop Science 5. Amsterdam. Elsevier Press.*
- Djajat, Tisnadjaja., Edward, Saliman., Silvia., Patomoru, Simanjuntak. 2006. Pengkajian Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) sebagai Buah yang Memiliki Kandungan Senyawa Antioksidan. *JurnalBiodiversitas*. 7(2): 199-202 ISSN: 1412-033X.
- Fitriani, A. 2003. Kandungan Ajmalisin pada Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L). G. Don. Setelah Dielisisasi Homogenat Jamur *Phyhium aphanidermatum* Edson Fitzp. *Makalah Pengantar Sains*.
- Giarsiana, Handoyowati. 2016. Pengaruh Teknik Sterilisasi Eksplan Terhadap Tingkat Perolehan Kultur jaringan Aksenik Ramin (*Gonystylus bancanus*). *Jurnal Pemuliaa Tanaman Hutan*. 11(2): 131-138.
- George, E.F and P.D Sherington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture : Hand Book and Directory of Comerical Laboratorius. Exegenetics Ltd., England. 709*

- Gunawan, I. 1992. Teknik Kultur in vitro. Bogor: Depdikbud. Dirjen Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Haryanto, L. 2012. Konservasi Kepel (*Stelechocarpus burahol*): jenis yang telah langka. Mitra Hutan Tanaman 7(1):11-17.
- Imanudin. 2016. Pengaruh Penambahan Air Rebusan Kentang (*Solanum tuberosum* L.), BAP dan NAA Terhadap Induksi Tunas Jati Emas (*Cordia subcordata*) Secara *In vitro*.
[Skripsi.http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/6525/NAS_KAH%20PUBLIKASI.pdf?sequence=12&isAllowed=y](http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/6525/NAS_KAH%20PUBLIKASI.pdf?sequence=12&isAllowed=y). Diakses tanggal 8 Maret 019.
- Kumar, dkk. 2011. Pemberian Beberapa Kombinasi ZPT Terhadap Regenerasi Tanaman Gloxinia (*Sinningia speciosa*) dari Eksplan Batang dan Daun Secara *In vitro*. <https://media.neliti.com/media/publications/71833-ID-pemberian-beberapa-kombinasi-zpt-terhada.pdf>. Diakses 9 Maret 2019.