

# Kajian Penggunaan Jenis Eksplan dan Thidiazuron untuk Multiplikasi Tunas Adventif Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry)

Innaka Ageng Rineksane<sup>a</sup>, Dede Nurjaman<sup>b</sup>, dan Bambang Heri Isnawan<sup>a,b,c\*</sup>

<sup>a</sup> Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Lingkar Selatan Tamantirto, Bantul 55183, Indonesia

<sup>b</sup> Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Lingkar Selatan Tamantirto, Bantul 55183, Indonesia

<sup>c</sup> Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Lingkar Selatan Tamantirto, Bantul 55183, Indonesia

Email: rineksane@gmail.com

## Abstrak

Tanaman sarang semut merupakan tumbuhan epifit yang mengandung senyawa-senyawa dari golongan flavonoid dan tannin yang berperan sebagai antibiotik serta antivirus untuk menyembuhkan penyakit seperti asma, migrain, diabetes dan kanker. Eksploitasi tanaman sarang semut dari habitat aslinya menyebabkan populasinya berkurang, sementara penanaman kembali sarang semut tidak mudah dilakukan karena tanaman ini menempel di pohon, setiap buah hanya mengandung 1 biji dan belum diketahui cara perbanyakannya secara vegetatif. Upaya penyelamatan sarang semut dari kepunahan dilakukan melalui perbanyakannya *in vitro*. Penelitian ini bertujuan mendapatkan eksplan yang tepat dan konsentrasi Thidiazuron terbaik untuk multiplikasi tanaman sarang semut secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap faktorial (2x6). Faktor pertama adalah jenis eksplan yaitu hipokotil dan daun, faktor kedua adalah konsentrasi Thidiazuron yang terdiri dari 6 aras yaitu 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 mg/l, sehingga total perlakuan adalah 12. Setiap perlakuan diulang lima kali. Pengamatan dilakukan selama delapan minggu dengan parameter pengamatan yaitu persentase eksplan hidup, persentase eksplan kontaminasi, persentase eksplan bertunas, jumlah tunas, jumlah daun dan persentase eksplan berkalus. Hasil penelitian menunjukkan eksplan terbaik untuk multiplikasi tanaman sarang semut adalah daun yang ditunjukkan oleh parameter jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak sebesar 13,24 tunas dan 21,52 daun. Konsentrasi thidiazuron terbaik untuk multiplikasi tunas sarang semut adalah 3 mg/l yang menghasilkan jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak yaitu 15,33 tunas dan 24,83 daun

**Kata kunci:** Tanaman sarang semut, *Myrmecodia pendens*, Jenis eksplan, Thidiazuron, Multiplikasi

## Abstract

*Ant plant is epiphytic plant containing flavonoids and tannins which function as antibiotic and antivirus to cure some diseases such as asthma, migraine, diabetes and cancer. Over exploitation of the plants is decreasing the population, while replanting of the plants is the obstacle. One of the methods proposed to cultivate the ant plant is in vitro propagation. The objective of the research was to determine the best of explant type and the best concentration of Thidiazuron for shoot multiplication of ant plant. The research was carried out at In Vitro Laboratory, Faculty of Agriculture, University Muhammadiyah Yogyakarta. The research used an experimental method which arranged in a completely randomized design (CRD) with a factorial treatment (2x6). The first factor was explant type i.e. hypocotyl and leaf. The second factor was the concentration of Thidiazuron 0, 1, 2, 3, 4 and 5 mg / l. The parameters observed were the percentage of live explants, the percentage of contamination explants, the percentage of shoots, the number of shoots, the number of leaves and the percentage of callus. The results showed that the leaf explants induced the maximum amount of 13.24 shoots and 21.52 leaves, the best concentration of Thidiazuron was 3 mg/l as shown by the number of shoots of 15.33 and the number of leaves 24.83.*

**Keywords:** Ant plant, *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry, Explant type, Thidiazuron, Multiplication

## I. PENDAHULUAN

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) merupakan tumbuhan epifit yang menggantung atau menempel pada tumbuhan lain yang lebih besar, batangnya menggelembung dan di dalamnya terdapat ruang atau rongga kecil yang dihuni semut. Kegunaan sarang semut yang semakin meluas untuk pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit menyebabkan tumbuhan ini dieksploitasi dari tempat tumbuhnya di hutan, tetapi eksploitasi ini tidak diiringi

dengan penanaman kembali, sehingga populasi sarang semut semakin berkurang.

Perbanyakannya sarang semut secara alami yang membutuhkan waktu cukup lama dan eksploitasi terus-menerus menyebabkan populasi tumbuhan

ini semakin berkurang. Upaya penyelamatan terhadap sarang semut dari kepunahan dapat dilakukan melalui upaya perbanyakannya *in vitro*. Perbanyakannya *in vitro* merupakan penanaman bagian kecil dari tanaman dalam medium buatan dan lingkungan terkendali sehingga menjadi tanaman utuh.

Penelitian kultur *in vitro* sarang semut telah dilakukan oleh [1], hasilnya menunjukkan bahwa eksplan terbaik adalah daun yang ditanam pada medium VW tanpa dekstrak kurma dengan persentase kontaminasi 50%, sedangkan eksplan bonggol mengalami tingkat kontaminasi mencapai 100 %. Sementara [2] melakukan multiplikasi tanaman sarang semut dari eksplan biji dengan penambahan Thidiazuron dan NAA. Hasil terbaik perlakuan Thidiazuron 1 mg/l dan NAA 0,1 mg/l, namun belum semua biji menghasilkan tunas lebih dari 1. Penelitian ini bertujuan mendapatkan eksplan yang tepat dan konsentrasi Thidiazuron terbaik untuk multiplikasi tanaman sarang semut secara *in vitro*.

## II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur *In Vitro* Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari eksplan hipokotil dan kotiledon sarang semut *in vitro*, medium MS, Thidiazuron, NAA, alkohol dan akuades steril.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *glassware, dissecting kits*, pH meter, autoklaf, neraca analitik, stirer dan *Laminar Air Flow Cabinet*.

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan rancangan perlakuan faktorial (2x6). Faktor 1 adalah jenis eksplan yaitu : hipokotil dan daun. Faktor 2 adalah konsentrasi Thidiazuron yang terdiri dari 6 aras yaitu : 0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, 4 mg/l dan 5 mg/l. Setiap perlakuan diulang 5 kali sehingga total unit perlakuan adalah 60 unit.

Parameter yang diamati yaitu persentase eksplan hidup, persentase eksplan kontaminasi, saat muncul tunas, persentase eksplan bertunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan persentase eksplan berkalus.

Data dianalisis dengan menggunakan sidik ragam pada taraf  $\alpha$  5%, dan apabila hasilnya berbeda nyata dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf  $\alpha$  5%. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel, histogram dan gambar.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum eksplan hipokotil dan daun sarang semut menunjukkan respon pertumbuhan pada minggu pertama ditandai dengan eksplan membengkak dan pada beberapa eksplan sudah memunculkan tunas, tunas terbentuk melalui organogenesis langsung. Pembengkakan menunjukkan adanya penyerapan air dan unsur hara dari medium oleh sel pada jaringan eksplan. Selain tunas, kalus juga tumbuh pada eksplan daun maupun hipokotil.

### A. Persentase Eksplan Hidup dan Kontaminasi

Keberhasilan kultur *in vitro* dilihat dari eksplan hidup dan eksplan kontaminasi. Persentase eksplan hidup merupakan kemampuan eksplan untuk tumbuh pada suatu medium perlakuan dalam kultur *in vitro*. Hasil pengamatan persentase eksplan hidup dan persentase eksplan kontaminasi disajikan pada Tabel I.

Tabel I. Pengaruh Jenis Eksplan dan Thidiazuron terhadap Persentase Eksplan Hidup dan Persentase Eksplan Kontaminasi Sarang Semut pada 6 dan 12 MST

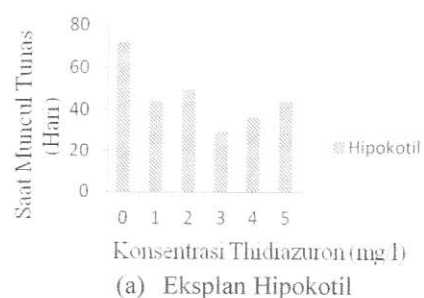
Perlakuan	Persentase Hidup (%)		Persentase Kontaminasi (%)	
	Minggu ke-6	Minggu ke-12	Minggu ke-6	Minggu ke-12
Hipokotil	100	90	0	10
Daun	90	83.3	0	6.7
0 mg/l TDZ	70	70	0	0
0 mg/l TDZ	100	100	0	0
0 mg/l TDZ	100	90	0	10
0 mg/l TDZ	100	60	0	40
0 mg/l TDZ	100	100	0	0
0 mg/l TDZ	100	100	0	0

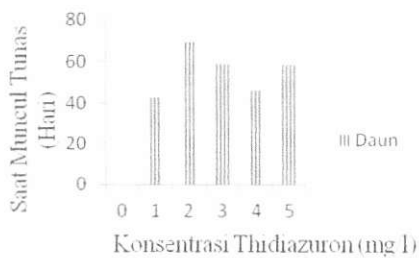
Data pada Tabel I menunjukkan jenis eksplan dan konsentrasi Thidiazuron tidak berinteraksi terhadap parameter persentase eksplan hidup dan kontaminasi. Persentase eksplan hidup minggu ke-6 pada jenis eksplan maupun konsentrasi Thidiazuron adalah 100 % kecuali pada eksplan daun sebesar 90% dan perlakuan 0 mg/l Thidiazuron sebesar 70 %. Persentase eksplan hidup yang tinggi pada penelitian ini karena eksplan yang dipakai merupakan eksplan steril hasil penelitian [2]. Selain itu, eksplan masih muda. Jaringan tanaman yang masih muda memiliki daya regenerasi lebih tinggi dibandingkan jaringan tua, karena sel - selnya masih aktif membelah diri dan relatif mengandung sedikit kontaminan [3].

### B. Saat Muncul Tunas

Tunas adventif merupakan tunas yang berasal dari sel atau jaringan eksplan yang sebelumnya tidak mempunyai mata tunas [3]. Terbentuknya tunas menunjukkan keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi pada medium kultur *in vitro*. Tunas adventif mulai terbentuk pada 20-30 HST. Pembentukan tunas adventif dimulai dengan pembentukan kalus pada pangkal batang yang tertanam dalam medium regenerasi. Kalus ini tumbuh dan berkembang, yang selanjutnya diikuti dengan pembentukan tunas adventif [4]. Tunas terbentuk melalui fase organogenesis langsung dan tidak langsung. Fase organogenesis tidak langsung diawali pembengkakan eksplan kemudian eksplan membentuk kalus dan tumbuh tunas sedangkan fase organogenesis langsung, eksplan membengkak kemudian tumbuh tunas.

Hasil pengamatan saat muncul tunas disajikan pada Gambar 1





(b) Eksplan Daun

Gambar 1. Pengaruh Jenis Eksplan dan Thidiazuron terhadap Saat Muncul Tunas Sarang Semut (a) Eksplan Hipokotil (b) Eksplan Daun

Berdasarkan gambar 1 a dan 1 b, diketahui bahwa saat bertunas terjadi antara 29,4 – 72 hari. Semua perlakuan menumbuhkan tunas kecuali eksplan daun pada perlakuan daun tanpa Thidiazuron yang tidak menumbuhkan tunas. Eksplan yang berasal dari hipokotil lebih cepat tumbuh tunasnya dibandingkan dengan eksplan yang berasal dari daun (gambar 1 a). Hal ini diduga karena berbeda serapan nutrisi pada eksplan hipokotil dan daun. Eksplan hipokotil lebih maksimal dan cepat dalam penyerapan nutrisi karena luka eksplan oleh pemotongan lebih luas sehingga jumlah nutrisi yang terserap pun lebih banyak. Selain itu cepatnya eksplan hipokotil bertunas diduga karena eksplan hipokotil mempunyai ketiak akar atau batang sehingga tunas muncul dari ketiak akar atau batang dan eksplan hipokotil masih bersifat meristematik.

Tunas pada eksplan daun dalam medium tanpa Thidiazuron tidak tumbuh, diduga karena tidak adanya sitokinin eksogen dan endogen pada eksplan daun.

#### C. Persentase Eksplan Bertunas

Persentase eksplan bertunas adalah jumlah eksplan yang membentuk tunas dalam medium perlakuan dengan penambahan ZPT. Persentase eksplan bertunas pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Pengaruh Jenis Eksplan dan Thidiazuron terhadap Persentase Eksplan Bertunas Sarang Semut pada Minggu ke - 6 dan 12

Perlakuan	Persentase Eksplan Bertunas (%)	
	Minggu ke - 6	Minggu ke -12
Hipokotil	53,33	86,66
Daun	40	76,66
0 mg/l Thidiazuron	10	50
1 mg/l Thidiazuron	70	100
2 mg/l Thidiazuron	20	80
3 mg/l Thidiazuron	60	60
4 mg/l Thidiazuron	70	100
5 mg/l Thidiazuron	50	100

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi antara jenis eksplan dan konsentrasi Thidiazuron terhadap persentase eksplan bertunas. Data pada tabel 2

menunjukkan pengaruh jenis eksplan tidak berbeda nyata terhadap persentase eksplan bertunas, tetapi hipokotil (53,33% dan 86,66%) cenderung menghasilkan persentase eksplan bertunas yang lebih tinggi dibandingkan daun (40% dan 76,66%) pada 6 maupun 12 MST. Penggunaan Thidiazuron juga tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan bertunas, tetapi konsentrasi 1 mg/l, 4 mg/l dan 5 mg/l menghasilkan persentase eksplan bertunas sebesar 100% pada 12 MST.

Penggunaan eksplan hipokotil cenderung responsif memunculkan tunas daripada daun, hal ini diduga eksplan yang berasal dari hipokotil sudah mengandung sitokinin endogen sehingga walaupun tidak ditambah sitokinin eksogen akan memunculkan tunas. Hal ini didukung oleh [5] bahwa sitokinin dalam konsentrasi tinggi (1- 10 mg/l) dapat menginduksi pembentukan tunas adventif tetapi pembentukan akar akan terhambat. Sementara rendahnya eksplan bertunas pada 6 MST dan 12 MST pada perlakuan 0 mg/l Thidiazuron disebabkan tidak adanya Thidiazuron yang dikombinasikan dengan NAA. [6] menjelaskan bahwa pembentukan tunas adventif terjadi karena pemberian sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi tanpa auksin atau dengan auksin dalam konsentrasi yang rendah.

#### D. Jumlah Tunas

Banyaknya tunas yang terbentuk dalam satu perlakuan menunjukkan respon terhadap pemberian ZPT. Pengamatan jumlah tunas untuk mengetahui seberapa efektif ZPT yang bisa diberikan pada suatu perlakuan. Penambahan jumlah tunas merupakan salah satu parameter yang dapat diukur secara kuantitatif, dan merupakan indikator keberhasilan multiplikasi secara *in vitro*. Pertumbuhan tunas tidak hanya dipengaruhi oleh hormon sitokinin dan unsur hara yang tersedia, akan tetapi setiap tanaman juga memiliki hormon endogen yang akan mempengaruhi pertumbuhan tunas. Hasil analisis sidik ragam jumlah tunas disajikan pada Tabel III.

Tabel III. Pengaruh Jenis Eksplan dan Thidiazuron terhadap Rerata Jumlah Tunas Sarang Semut pada 6 dan 12 MS

Perlakuan	Jumlah Tunas	
	Minggu ke - 6	Minggu ke- 12
Hipokotil	1,23 a	9,18 a
Daun	1,51 a	13,24 a
0 mg/l Thidiazuron	0,42 p	2,71 r
1 mg/l Thidiazuron	1,70 p	14,80 pq
2 mg/l Thidiazuron	0,40 p	14,88 pq
3 mg/l Thidiazuron	1,80 p	15,33 p
4 mg/l Thidiazuron	2,30 p	10,60 pq
5 mg/l Thidiazuron	1,30 p	8,00 q
interaksi	(-)	(-)

Keterangan : Semua medium ditambah NAA 0,5 mg/l.

Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata menurut UJGD pada taraf 5 %

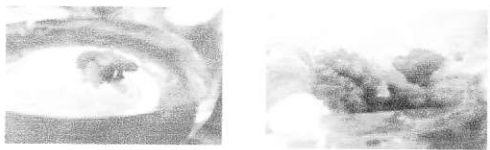
(+) ada interaksi

(-) tidak ada interaksi

Hasil sidik ragam jumlah tunas (Tabel III) menunjukkan bahwa penggunaan jenis eksplan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang

dihasilkan pada 6 dan 12 MST, tetapi jumlah tunas yang tumbuh pada eksplan daun cenderung lebih banyak daripada eksplan hipokotil. Eksplan daun memberikan rata-rata jumlah tunas sebesar 1,51 tunas pada 6 MST dan 13,24 tunas pada 12 MST. Eksplan daun cenderung lebih baik dalam menumbuhkan tunas, hal ini didukung pernyataan [7] bahwa eksplan yang berasal dari kotiledon dan daun muda memiliki potensi untuk membentuk tunas yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis eksplan lainnya.

Tabel III juga menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi Thidiazuron memberikan pengaruh tidak nyata terhadap jumlah tunas yang dihasilkan pada 6 MST (Gambar 2a) tetapi berbeda nyata pada 12 MST (Gambar 2b). Perlakuan 3 mg/l Thidiazuron menghasilkan jumlah tunas lebih banyak (15,33 tunas) daripada 5 mg/l Thidiazuron (8,00 tunas) dan 0 mg/l Thidiazuron (2,714 tunas). Penggunaan Thidiazuron memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada minggu 12 MST, hal ini dikarenakan eksplan perlu waktu lebih lama untuk merespon Thidiazuron yang ditambahkan ke medium.



Gambar 2. Jumlah Tunas Sarang Semut (a) Minggu ke-6 (b) Minggu ke-12

#### E. Jumlah Daun

Jumlah daun adalah jumlah keseluruhan daun yang tumbuh pada tiap perlakuan yang diujicobakan. Hasil pengamatan jumlah daun dapat dilihat pada Tabel V.

Tabel 5. Pengaruh Jenis Eksplan dan Thidiazuron terhadap Rerata Jumlah Daun Sarang Semut pada 6 dan 12 MST

Perlakuan	Jumlah Daun	
	Minggu ke-6	Minggu ke-12
Hipokotil	1,90 a	14,14a
Daun	2,48a	21,52 a
0 mg/l Thidiazuron	0,71 q	5,28 r
1 mg/l Thidiazuron	3,00 pq	22,90 pq
2 mg/l Thidiazuron	0,60 q	24,33 pq
3 mg/l Thidiazuron	2,90 pq	24,83 p
4 mg/l Thidiazuron	4,00 p	17,70 pq
5 mg/l Thidiazuron	1,40 pq	10,90 qr
Interaksi	(-)	(-)

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata menurut UJGD pada taraf 5 %  
(+) ada interaksi  
(-) tidak ada interaksi

Data pada Tabel VI menunjukkan bahwa jenis eksplan dan konsentrasi Thidiazuron tidak saling berinteraksi terhadap jumlah daun. Jenis eksplan tidak mempengaruhi jumlah daun yang terbentuk, namun konsentrasi Thidiazuron berpengaruh terhadap jumlah daun pada eksplan hipokotil maupun daun. Eksplan daun cenderung menghasilkan jumlah daun yang lebih tinggi dibandingkan eksplan hipokotil pada 6 maupun 12 MST.

Sementara perlakuan Thidiazuron yang menghasilkan jumlah daun tertinggi pada 12 MST adalah perlakuan 3 mg/l Thidiazuron tetapi tidak beda nyata dengan perlakuan 1 mg/l, 2 mg/l dan 4 mg/l Thidiazuron. Jumlah daun yang tumbuh berbanding lurus dengan penambahan Thidiazuron yang diberikan tetapi pada konsentrasi tinggi mengalami penurunan. Penelitian [8] menyebutkan bahwa meningkatnya jumlah daun yang dihasilkan berhubungan erat dengan penambahan Thidiazuron ke dalam medium perlakuan, tanpa pemberian Thidiazuron atau Thidiazuron rendah (0,1 mg/l) pada tanaman encok menghasilkan jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan dengan penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi.

#### F. Persentase Eksplan Berkalus

Persentase eksplan berkalus merupakan kemampuan eksplan membentuk kalus dalam medium perlakuan dengan penambahan ZPT, semakin besar persentase eksplan berkalus maka respon eksplan terhadap ZPT yang diberikan dalam medium semakin baik [3]. Hasil pengamatan persentase eksplan berkalus disajikan pada Tabel VI.

Tabel VI. Pengaruh Jenis Eksplan dan TDZ terhadap Persentase Eksplan Berkalus sarang Semut Pada Minggu ke-6 dan 12

Perlakuan	Persentase Eksplan Berkalus (%)	
	Minggu ke - 6	Minggu ke -12
Hipokotil	83,33	73,33
Daun	76,66	76,66
0 mg/l Thidiazuron	0	0
1 mg/l Thidiazuron	100	100
2 mg/l Thidiazuron	90	90
3 mg/l Thidiazuron	90	60
4 mg/l Thidiazuron	100	100
5 mg/l Thidiazuron	100	100

Keterangan : Semua medium ditambahkan NAA 0,5 mg/l

Data Tabel VI menunjukkan bahwa jenis eksplan dan konsentrasi Thidiazuron tidak berinteraksi terhadap persentase eksplan berkalus. Jenis eksplan maupun Thidiazuron juga tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan berkalus. Namun demikian semua perlakuan mampu membentuk kalus kecuali pada perlakuan tanpa Thidiazuron. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan Thidiazuron dapat mendorong pembentukan kalus sebagai bentuk antara organogenesis tak langsung untuk menjadi tunas-tunas baru. Ini berarti Thidiazuron mampu mendorong multiplikasi tunas Sarang Semut melalui organogenesis langsung maupun tak langsung yaitu melalui pembentukan kalus. Ketiadaan tumbuhnya kalus pada medium tanpa Thidiazuron diduga karena sitokinin endogen rendah atau tidak ditamapkannya sitokinin eksogen ke dalam medium, menyebabkan pembelahan sel tidak terjadi sehingga tunas-tunas baru tidak terbentuk. Hal ini didukung dengan pernyataan [9] bahwa kalus yang tidak muncul ini dimungkinkan karena kombinasi ZPT pada medium belum mampu menginduksi kalus. Hal ini dikuatkan oleh [10] bahwa kombinasi antara auksin dan sitokinin akan memacu pertumbuhan kalus.

#### IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan eksplan terbaik untuk multiplikasi tanaman sarang semut adalah daun yang ditunjukkan oleh parameter jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak sebesar 13,24 tunas dan 21,52 daun. Konsentrasi thidiazuron terbaik untuk multiplikasi tunas sarang semut adalah 3 mg/l yang menghasilkan jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak yaitu 15,33 tunas dan 24,83 daun.

#### Referensi

- [1] Sukarjan, M., Supriyadi dan W. Aprillyastuti, Penyelamatan Plasma Nutfah Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) secara In vitro sebagai Upaya Pelestarian Tanaman. Fakultas Pertanian UM, 2012.
- [2] Supriyadi, Pengaruh Thidiazuron dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Biji Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Secara In vitro, Skripsi Fakultas Pertanian UMY. (Tidak dipublikasikan), 2014.
- [3] Andaryani, S, Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Pertanian UMS, Surakarta, 2010.
- [4] Rohayati, E, Pembentukan Tunas Aksiler dan Adventif *Philodendron* Kultivar Moon Light Pada Berbagai Medium Regenerasi. Buletin Teknik Pertanian 17 (1) : 30-32, 2012.
- [5] Pierik, R.L.M., *In Vitro Culture of Higher Plants*, Springer, 1997.
- [6] Wattimena, G. A, *Bioteknologi Tanaman: Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*, Laboratorium kultur jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB, 1992.
- [7] Ramadiana, S, Pengaruh Umur Fisiologis Eksplan Daun Muda dan Zat Pengatur Tumbuh terhadap Pembentukan Tunas Cabai Merah (*Capsicum annum* L.), Jurnal Sains Tek 10(2) : 137-142, 2004.
- [8] Syahid, S, F dan Kristina, N.N, Multiplikasi Tunas, Aklimatisasi dan Analisis Mutu Simplisia Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) Asal Kultur In Vitro Periode Panjang, Buletin Littro 19 (2) : 117-128, 2008.
- [9] Indah, P. N dan D. Ermavitalini, Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D), Jurnal Sains dan Seni Pomits 2 (1) : 2337-3520, 2013.
- [10] Hendaryono, D. P. S., dan A. Wijayani, *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Kanisius, Yogyakarta, p. 84-86, 1994.