

**PENGARUH BAP DAN 2,4 D TERHADAP INISIASI DAN PERTUMBUHAN KALUS
PULESARI (*Alyxia reinwardtii* Blume)**

**THE EFFECTS OF BAP AND 2,4 D ON INITIATION AND INDUCTION OF
PULESARI (*Alyxia reinwardtii* Blume) CALLUS**

¹Nur Rahmawati Wijaya, Didik Suharto, Heru Sudrajad

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
Tawangmangu*

ABSTRACT

Utilization of Pulesari as medicinal plant is less optimal due to scarcity and less known techniques of cultivation. To increase production of plant propagation it can use plant tissue culture especially callus formation. Research purpose: study effect of BAP and 2,4 D and knowing most appropriate hormone concentration for induction of Pulesari callus. Research using MS basal media with combination BAP 1-4 ppm and 2,4 D 1-4 ppm. Explant used pulesari leaf. Results of this research shows that for three months showed treatment BAP + 2,4 D 4 ppm 1 ppm give fastest callus grow in 23 days after planting and highest amount of callus with surface area 3,4 cm . Treatment of BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm, as well as 4 ppm BAP + 2,4 D 4 ppm produce green callus, treatment of BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm showed a yellowish white color, treatment BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm, 2 ppm BAP + 2,4 D 4 ppm, and BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm produce white callus. Callus with crumb texture produced by treatment of BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm, BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm and BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm while compact callus treatment resulted by BAP 2 ppm + 2,4 D 2 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D 3 ppm, BAP 4 ppm + 2,4 D ppm and BAP 4 ppm + 2,4 D 3 ppm. Conclusion: BAP 4 ppm and 2,4 D 1 ppm accelerate callus grow. Best treatment is BAP 4 ppm+2,4D 1 ppm with highest amount of callus and fastest grow.

Key-words: Pulesari, callus, BAP, 2,4 D

INTISARI

Pemanfaatan Pulesari sebagai obat masih kurang optimal akibat kelangkaan dan kurang diketahui teknik budidayanya. Perlu perbanyak secara kultur jaringan salah satunya dengan pembentukan kalus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh BAP dan 2,4 D serta konsentrasi paling tepat induksi kalus. Penelitian menggunakan media MS, kombinasi BAP 1-4 ppm dan 2,4 D 1-4 ppm. Eksplan menggunakan daun pulesari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama tiga bulan, perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm menghasilkan pertumbuhan kalus paling cepat (23 (HST) dengan jumlah yang paling banyak dengan luas permukaan kalus 3,4 cm . Perlakuan BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm, dan BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm menghasilkan kalus hijau, perlakuan BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm menunjukkan warna putih kekuningan, perlakuan BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D 4 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm menghasilkan kalus putih. Kalus bertekstur remah diperoleh pada perlakuan BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm, BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm, dan BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm, kalus kompak dihasilkan perlakuan BAP 2 ppm + 2,4 D 2 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D ppm, BAP 4 ppm + 2,4 D 2 ppm, dan BAP 4 ppm + 2,4 D 3 ppm. Kesimpulan: BAP dan 2,4 D berpengaruh mempercepat pertumbuhan kalus. Perlakuan paling baik pada BAP 4 ppm dan 2,4 D 1 ppm dengan jumlah kalus terbanyak dan pertumbuhan tercepat.

Kata kunci: Pulesari, Kalus, BAP, 2,4 D

¹ Correspondence author: Nur Rahmawati Wijaya. Email: n.rahmawatiwijaya@gmail.com

PENDAHULUAN

Saat ini pengobatan tradisional semakin berkembang dan diminati masyarakat seiring ketertarikan masyarakat terhadap gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*). Namun meningkatnya penggunaan pengobatan tradisional belum diimbangi dengan ketersediaan bahan baku yang memadai. Beberapa jenis tanaman obat belum dimanfaatkan secara optimal. Salah satu diantaranya adalah tanaman pulesari (*Alyxia reinwardtii* Blume) (Pribadi 2009).

Pulesari merupakan tumbuhan berkayu berbentuk semak dan tumbuh merambat dengan panjang mencapai 153 cm. Tanaman ini memiliki daun berbentuk oval memanjang dengan pertulangan menyirip. Adapun buahnya berukuran kecil dengan bentuk bulat dan berwarna hijau (Imania *et al.* 2013). Pulesari memiliki berbagai macam kandungan fitokimia seperti minyak atsiri, tanin, kumarin, saponin, alkaloid, dan polifenol (Syamsuhidayat & Hutapea 1981) sehingga memiliki berbagai khasiat bagi kesehatan. Beberapa khasiat pulesari antara lain sebagai obat batuk, sariawan, demam, radang lambung, halusinasi akibat demam dan gagal jantung (Rattanapan *et al.* 2012).

Tanaman pulesari kurang dapat dimanfaatkan karena kelangkaan dan kurang diketahuinya teknik budidaya tanaman tersebut. Pada umumnya tanaman ini dibudidayakan dengan cara perkecambahan benih, namun cara tersebut kurang efektif karena membutuhkan waktu yang cukup lama dan benih yang ditanam sulit berkecambah. Oleh karena itu untuk meningkatkan produksi tanaman pulesari maka budidaya dapat dilakukan secara kultur jaringan.

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik budidaya tanaman yang mampu melipatgandakan sel dan jaringan yang berasal dari satu induk sehingga tumbuh menjadi sejumlah tanaman tunggal (Wetherell 1982). Teknik ini memiliki berbagai keunggulan antara lain menggunakan sebagian kecil tanaman sehingga tidak merusak tanaman induk, waktu budidaya

singkat, pertumbuhan tanaman tidak tergantung musim karena lingkungan tumbuh terkendali, dan menghasilkan tanaman bebas penyakit (Sukmajaja & Mariska 2003).

Untuk menghasilkan tanaman secara kultur jaringan dibutuhkan media dasar yang ditambah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh berupa auksin dan sitokinin. Menurut Danso *et al.* (2008), sitokinin berfungsi untuk menstimulasi pembelahan sel, sedangkan menurut Mahadi *et al.* (2014), auksin berfungsi untuk merangsang pembentukan sel. Dalam penelitian ini digunakan auksin berupa 2,4 D (2,4 Diklorofenoksiasetat) dan sitokinin berupa BAP (Benzil Amino Purin).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh BAP dan 2,4 D terhadap inisiasi kalus tanaman pulesari dan mengetahui konsentrasi BAP dan 2,4 D yang paling tepat untuk menghasilkan pertumbuhan kalus pulesari yang optimal. Sebelumnya telah dilakukan penelitian sejenis dengan perlakuan BAP dan NAA. Dalam penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa dengan kombinasi BAP 2 mg per l dan NAA 2,3,4 mg per l menghasilkan kalus berwarna kuning dalam waktu enam bulan (Sudrajad *et al.* 2015).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan. Dalam penelitian ini eksplan yang digunakan adalah daun muda tanaman pulesari yang diambil dari urutan kedua dan ketiga pucuk tanaman. Tanaman yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: botol kultur, timbangan analitik, spatula, shaker, erlenmeyer, gelas beaker, hot plate, magnetic stirrer, pinset, petri disk, scalpel, blade, autoclave, dan *Laminar Air Flow*. Bahan yang digunakan meliputi: daun pulesari, detergen, fungisida, bakterisida, desinfektan, tween, sukrosa, aluminium foil, alkohol 70 persen, HCl, NaOH, akuades steril, dan indikator universal. Penelitian menggunakan dua faktor perlakuan,

yaitu faktor pertama 2,4 D konsentrasi 1, 2 dan 3 ppm dan faktor kedua adalah BAP dengan konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 ppm.

Cara Kerja. Penelitian dilakukan pada April hingga Juni 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan merendam eksplan dalam detergen yang dilarutkan dalam akuades steril selama tiga menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Kemudian kembali digojog berturut-turut dengan larutan bakterisida selama 10 menit, larutan fungisida selama 10 menit, larutan desinfektan selama tiga menit, dan larutan tween selama tiga menit. Sebelum mengganti larutan masing-masing dibilas tiga kali dengan akuades.

Eksplan yang sudah steril ditanam pada media dengan masing-masing perlakuan kemudian ditumbuhkan dalam ruang inkubasi dengan suhu dan cahaya yang diatur. Setiap minggu dilakukan pengamatan terhadap masing-masing perlakuan selama tiga bulan. Pengamatan yang dilakukan meliputi: waktu tumbuh kalus, jumlah kalus, warna dan tekstur kalus. Pengukuran jumlah kalus dilakukan dengan pengukuran luas permukaan kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah

dilakukan pada eksplan tanaman pulesari terhadap media kultur yang terdiri dari kombinasi BAP dan 2,4 D, maka diperoleh hasil sebagai berikut.

Waktu Tumbuh Kalus. Dari hasil pengamatan diperoleh hasil sebagai berikut. Penelitian ini menggunakan kombinasi BAP dan 2,4 D. BAP yang merupakan salah satu hormon sitokinin, sedangkan 2,4 D merupakan salah satu hormon auksin. Menurut Kartikasari (2013), hormon sitokinin berperan dalam pembelahan sel serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sedangkan hormon auksin berperan dalam perkembangan sel, menaikkan tekanan osmotik, dan meningkatkan permeabilitas sel terhadap air sehingga air dapat masuk ke dalam sel dengan meningkatkan volume sel.

Kalus merupakan kumpulan massa sel yang tidak terorganisasi yang terbentuk akibat pembelahan sel yang terjadi secara terus menerus. Pembelahan terjadi di permukaan sel sebagai respon stres akibat pelukaan (Ikeuchi *et al.* 2013).

Proses induksi kalus diawali dengan terjadinya penebalan pada bagian potongan dan daerah pelukaan pada eksplan. Penebalan tersebut merupakan hasil interaksi antara eksplan dan media kultur, zat pengatur tumbuh, dan lingkungan tumbuh sehingga ukuran eksplan semakin besar (Yelnitis & Komar 2010).

Tabel 1. Waktu tumbuh Kalus Pulesari dengan perlakuan BAP dan 2,4 D

Luas permukaan kalus (cm ²)	Waktu Mulai Muncul Kalus	Perlakuan
2,1	37 hari	BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm
1,08	34 hari	BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm
2,73	31 hari	BAP 2 ppm + 2,4 D 1 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 2 ppm + 2,4 D 2 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 2 ppm + 2,4 D 3 ppm
1	30 hari	BAP 2 ppm + 2,4 D 4 ppm
3,12	28 hari	BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm
1,8	26 hari	BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm
3,4	23 hari	BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 4 ppm + 2,4 D 2 ppm
Tidak tumbuh	-	BAP 4 ppm + 2,4 D 3 ppm
2,06	35 hari	BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm menghasilkan pertumbuhan paling cepat, yaitu kalus mulai muncul pada hari ke-23. Pertumbuhan paling lambat terjadi pada perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm, yaitu pada hari ke-37. Kalus dengan jumlah banyak terdapat pada perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D 1 ppm, dan BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm. Hasil paling baik ditunjukkan pada perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm, di sini kalus tumbuh paling cepat dengan jumlah banyak.. Pemberian BAP dalam konsentrasi tinggi dan 2,4D dalam konsentrasi rendah mampu memberikan pertumbuhan kalus paling baik diduga karena 2,4D pada konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang menunjukkan efek paling optimal. Pada konsentrasi rendah 2,4 D tidak memberikan pengaruh namun pada konsentrasi tinggi menyebabkan toksik pada eksplan, sehingga kemampuannya dalam membentuk kalus berkurang. Hasil tersebut juga dapat disebabkan oleh faktor lain, seperti respon terhadap hormon endogen. Hal ini sesuai dengan pendapat Santosa & Nursandi (2002) yang menyatakan bahwa selain zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media kultur, sel eksplan juga memberikan respon terhadap hormon endogen, baik auksin maupun sitokinin. Selain faktor respon terhadap hormon, menurut Mahadi *et al.* (2016) perbedaan hasil pertumbuhan juga dapat dipengaruhi oleh jenis tanaman, faktor genetis, dan faktor lingkungan, seperti cahaya, kandungan O₂, suhu, kelembaban, dan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dalam media kultur.

Pada beberapa perlakuan, eksplan sama sekali tidak mengalami pertumbuhan Hal ini disebabkan karena tidak semua sel pada eksplan berkompeten untuk tumbuh menjadi

kalus akibat tidak mampu mengekspresikan totipotensi. Menurut Fadhilah *et al.* (2014), selain zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media kultur, respon eksplan terhadap kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain hormon endogen dan sifat kompeten pada eksplan. Hal ini didukung dengan pernyataan Rosyidah *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa beberapa sel dalam eksplan dapat beregenerasi menjadi kalus, sedangkan yang lain tidak dapat mengekspresikan totipotensi sehingga tidak dapat merespon zat pengatur tumbuh dalam media kultur.

Warna Kalus. Dalam penelitian ini dihasilkan warna kalus sebagai berikut. Eksplan tanaman dapat menghasilkan kalus dengan warna yang berbeda-beda. Menurut Rahayu *et al.* (2003), perbedaan warna kalus disebabkan karena perubahan pigmentasi, yaitu berkurangnya pigmen klorofil. Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa kalus dengan konsentrasi BAP tinggi, yaitu perlakuan BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm, dan BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm menghasilkan warna hijau, BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm menghasilkan warna putih kekuningan, sedangkan kalus dengan konsentrasi 2,4 D tinggi, yaitu perlakuan BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D 4 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm menghasilkan warna putih. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Fadhilah *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa sitokinin berperan dalam pembentukan klorofil, sedangkan auksin berperan dalam penurunan jumlah klorofil. Hal ini didukung oleh pendapat Audus (1963) yang menyatakan bahwa kadar auksin menurunkan kandungan klorofil karena menyebabkan gangguan pada metabolisme karbohidrat, di sini karbohidrat merupakan zat pokok pembentuk klorofil.

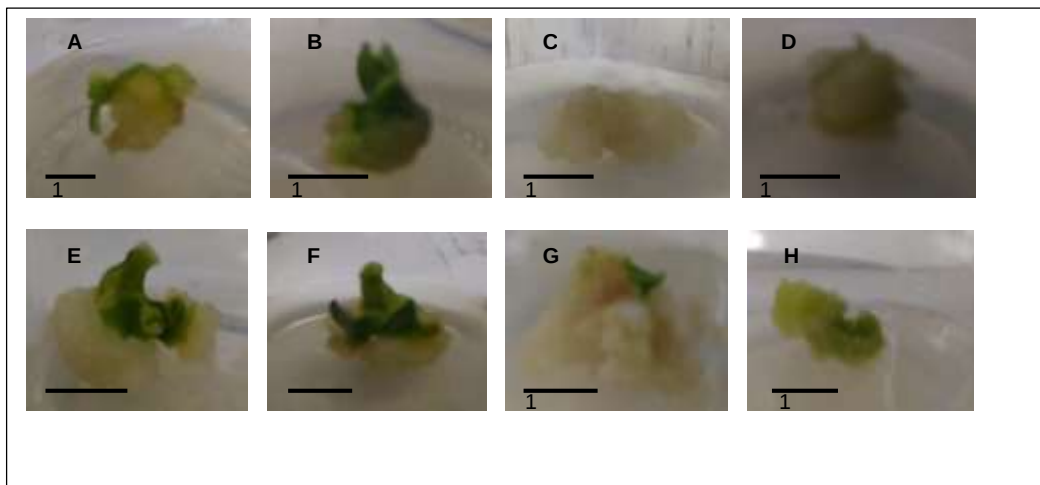
Tabel 2. Warna kalus Pulesari pada perlakuan BAP dan 2,4 D

Warna Kalus	Perlakuan
Putih kekuningan	BAP 1 ppm + 2,4 D 1 ppm
putih	BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm
-	BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm
-	BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm
putih	BAP 2 ppm + 2,4 D 1 ppm
-	BAP 2 ppm + 2,4 D 2 ppm
-	BAP 2 ppm + 2,4 D 3 ppm
putih	BAP 2 ppm + 2,4 D 4 ppm
hijau	BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm
-	BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm
-	BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm
putih	BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm
putih	BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm
-	BAP 4 ppm + 2,4 D 2 ppm
-	BAP 4 ppm + 2,4 D 3 ppm
hijau	BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm

Pada perlakuan BAP dan 2,4 D konsentrasi rendah yang menghasilkan warna putih, yaitu BAP 2 ppm + 2,4 D 1 ppm dan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm diduga akibat pengaruh hormon endogen. Pada perlakuan sitokinin tinggi, yaitu BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm dan BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm menunjukkan warna hijau, sedangkan pada auksin tinggi, yaitu BAP 1 ppm + 2,4 D 2 ppm, BAP 2 ppm + 2,4 D 4 ppm, dan BAP 3 ppm + 2,4 D 4 ppm menunjukkan warna putih pada kalus. Menurut Yelnitis (2012) warna kalus hijau menunjukkan hasil yang baik karena dalam kalus tersebut terkandung banyak klorofil. Kalus berwarna putih pada perlakuan BAP 2 ppm + 2,4 D 1 ppm kemungkinan disebabkan oleh auksin endogen yang tinggi, sehingga menyebabkan munculnya warna putih pada kalus walaupun di dalam media kultur konsentrasi BAP lebih tinggi dibandingkan 2,4 D. Menurut Puteri *et al.* (2014), kalus berwarna putih tidak mengandung banyak kloroplas namun

mengandung banyak butir pati, sedangkan kalus berwarna putih kekuningan menurut Arianto *et al.* (2013) menunjukkan bahwa kalus memiliki sel dewasa yang menuju fase pembelahan aktif.

Tekstur Kalus. Berdasarkan pengamatan terhadap tekstur kalus diperoleh hasil sebagai berikut. Tekstur kalus dapat menunjukkan kualitas kalus yang dihasilkan oleh eksplan. Menurut Mahadi *et al.* (2016), tekstur kalus dibedakan menjadi tiga, yaitu kalus kompak, intermediet, dan remah. kalus kompak, yaitu kalus yang memiliki sel-sel tipe nodular, memiliki tekstur yang keras, dan struktur yang padat. Purnamaningsih (2006) menyatakan bahwa kalus remah, yaitu kalus yang terdiri dari sel-sel tubular, tersusun renggang dan tidak teratur. Kalus intermediet adalah kalus yang terdiri dari campuran kalus remah dan kalus kompak. Dalam penelitian ini dihasilkan kalus kompak dan kalus remah (Gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan kalus pada tanaman Pulesari dengan perlakuan BAP dan 2,4 D. Tekstur kalus remah dihasilkan perlakuan BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm (A), BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm (B), BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm (E), dan BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm (F), sedangkan tekstur kompak ditunjukkan oleh perlakuan BAP 2 ppm + 2,4 D 2 ppm (C), BAP 2 ppm + 2,4 D 3 ppm (D), BAP 4 ppm + 2,4 D 2 ppm (G), dan BAP 4 ppm + 2,4 D 3 ppm (H).

Menurut Mahadi *et al.* (2016), kalus bertekstur remah disebabkan adanya kerja hormon auksin endogen yang diproduksi oleh eksplan yang telah mengalami pertumbuhan kalus, sedangkan tekstur kompak merupakan efek dari sitokinin. Kalus bertekstur remah mengalami pembelahan sel yang lebih cepat dibandingkan dengan kalus dengan tekstur kompak. Tekstur kompak terbentuk akibat terjadinya lignifikasi, sehingga kalus menjadi keras. Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Arianto *et al.* (2013) disebutkan bahwa kalus yang baik untuk pembentukan planlet adalah kalus yang memiliki tekstur remah karena mudah dipisahkan dan dapat membentuk sel-sel tunggal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan BAP dan 2,4 D mempercepat pertumbuhan kalus pulesari. Kalus yang menunjukkan pertumbuhan paling cepat dan jumlah banyak pada perlakuan BAP 4 ppm + 2,4 D 1 ppm dengan luas permukaan kalus 3,4 cm². Warna kalus yang paling baik (hijau) ditunjukkan pada perlakuan BAP 3 ppm + 2,4 D 1 ppm, dan BAP 4 ppm + 2,4 D 4 ppm. Tekstur kalus remah dihasilkan perlakuan

BAP 1 ppm + 2,4 D 3 ppm, BAP 1 ppm + 2,4 D 4 ppm, BAP 3 ppm + 2,4 D 2 ppm, dan BAP 3 ppm + 2,4 D 3 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu yang telah menyediakan sampel Pulesari serta fasilitas laboratorium untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Audus, L.J. 1963. "Plant Growth Substances". New York: CRC Press, Inc.
- Arianto, Basri Z, & Bustamil MU. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid secara *In Vitro*. *e-J. Agrotekbis* 1 (3): 211-220
- Danso KE, Ayeh KO, Oduro V, Amiteye S & Amoatey, HM. 2008. Effect of 6-Benzylaminopurine and -Naphthalene Acetic Acid on *In Vitro* Production of MD2 Pineapple Planting Materials. *World Applied*

Sciences Journal 3 (4): 614-619

Fadilah R, Ratnasari E, & Isnawati.2014. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Daun Tin (*Ficus carica*) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi IBA dan Kinetin pada Media MS secara *In Vitro*. *Lentera Bio* 3 (3): 141–146

Ikeuchi M, Sugimoto K, & Iwase A.2013. Review: Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, Vol. 25: 3159–3173

Imania A, Pujiasmanto, B & Sulistijo TD.2013. Study of Agroecology, Morphology and Domestication Pulesari (*Alyxia reinwardtii* Bl.). *Journal of Agronomy Research*. ISSN : 2302 – 8226.

Kartikasari P, Hidayat MH, & Ratnasari E.2013. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) dan Kinetin (6-Furfurylaminopurine) untuk Pertumbuhan Tunas Eksplan Pucuk Tanaman Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq. ex Roxb.) secara *In Vitro*. *Lentera Bio* 2 (1) :75–80

Mahadi I, Wulandari S, & Omar A. 2014. Pengaruh *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi Bagi Siswa SMA. *Jurnal Biogenesis* 11(1): 1-7.

Mahadi I, Syafi'i W, & Sari Y.2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *In Vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 21 (2): 84-89

Pribadi ER.2009. Pasokan dan Permintaan Tanaman Obat Indonesia serta Arah Penelitian dan Pengembangannya. *Perspektif* 8 (1) :52-64

Purnamaningsih R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal Agro Biogen* 2(2):74-80

Puteri RF, Ratnasari E, & Isnawati.2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) secara *In Vitro*. *Lentera Bio* 3(3): 154–159

Rahayu B, Solichatun, & Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1 (1): 1-6

Rattanapan J, Sichaem J, & Tip-pyang S.2013. Chemical Constituents and Antioxidant Activity from the Stems of *Alyxia reinwardtii*. *Records of Natural Product*: 6(3):288-291

Rosyidah M, Ratnsari E, & Rahayu YS.2014. Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan 6- Benzylamino Purine (BAP) pada Media MS secara *in Vitro*. *Lentera Bio* 3(3): 147–153

Sudrajad, H. Suharto D, Wijaya NR.2015. Pengaruh Benzil Amino Purin dan Naftalene Acetic Acid terhadap Kalus Pulesari (*Alyxia reinwardtii* Bl.). *Inisiasi* 4(2): 10-13.

Sukmajaja D, & Mariska I.2003. “Perbanyakan Bibit Jati melalui Kultur Jaringan”. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.

Wetherell DF. 1982. “Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro*” .Diterjemahkan oleh Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang.

Yelnititis & Komar TE. 2010.”Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin”. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam Kementerian Kehutanan, Bogor.