

**RESPON INDUKSI KALUS TANAMAN TEBU
(*Saccharum officinarum* L.) VARIETAS ASA AGRIBUN TERHADAP
PEMBERIAN BERBAGAI KONSENTRASI 2.4 D (*Dichlorophenoxyacetic*)
DAN BAP (*Benzyl Amino Purine*)**

RESPONSE OF CALLUS INDUCTION IN SUGARCANE PLANT (*Saccharum officinarum* L.) ASA AGRIBUN VARIETY TO VARIOUS CONCENTRATIONS OF 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic acid*) AND BAP (*Benzylaminopurine*)

Dillah Abdullah^{1*}, Ani Lestari¹, Sri Suhesti²

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Singaperbangsa Karawang
Jl. HS.Ronggo Waluyo, Puseurjaya, TelukjambeTimur, Karawang, Jawa Barat 41361, Indonesia

²Pusat Standardisasi Instrumen Pertanian Perkebunan
Jalan Tentara Pelajar No. 1 Bogor, Jawa Barat 16111, Indonesia

ABSTRAK

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan komoditas perkebunan yang bernilai ekonomis cukup tinggi karena sebagai bahan baku utama dalam pembuatan gula. Perbanyak tanaman tebu umumnya dilakukan secara vegetatif menggunakan stek, namun metode tersebut memiliki kekurangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh konsentrasi 2,4D dan BAP terhadap respon induksi kalus tanaman tebu varietas ASA Agribun. Penelitian dilakukan di Laboratorium Unit Pengelola Benih Unggul Pertanian (UPBUP), Pusat Standardisasi Instrumen Perkebunan (PSIP), Bogor dari bulan Januari sampai dengan Maret 2021. Bahan tanaman tebu yang digunakan adalah umbut daun muda varietas ASA Agribun yang masih menggulung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial dengan 2 faktor yaitu konsentrasi 2,4D dan BAP yang terdiri dari 9 perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali; D0B0 (2,4D 1 ppm + BAP 0 ppm); D0B1 (2,4D 1 ppm + BAP 0.1 ppm); D0B2 (2,4D 1 ppm + BAP 0.2 ppm); D1B0 (2,4D 2 ppm + BAP 0 ppm); D1B1 (2,4D 2 ppm + BAP 0.1 ppm); D1B2 (2,4D 2 ppm + BAP 0.2 ppm); D2B0 (2,4D 3 ppm + BAP 0 ppm); D2B1 (2,4D 3 ppm + BAP 0.1 ppm); D2B2 (2,4D 3 ppm + BAP 0.2 ppm). Parameter yang diamati adalah persentase eksplan hidup, waktu muncul kalus, berat segar dan diameter kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi pemberian 2,4D dan BAP dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan kalus tanaman tebu varietas ASA Agribun. Perlakuan D1B0 (2,4D 2 ppm + BAP 0 ppm) merupakan kombinasi terbaik dalam waktu muncul kalus, berat segar dan diameter kalus.

Kata Kunci : 2,4D, BAP, Kalus, *Saccharum officinarum* L.

ABSTRACT

*Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is a plantation commodity that has a high economic value because it is the main raw material in making sugar. Sugarcane plant propagation is generally done vegetatively using cuttings, but this method has shortcomings. This study aims to examine the effect of 2,4D and BAP concentrations on the callus induction response of sugarcane varieties ASA Agribun. The research was conducted at the Laboratory of Agricultural Superior Seed Management Unit, Plantation Instrument Standardization Center (PSIP), Bogor from January to March 2021. The sugarcane plant material used was young leaf tubers of the ASA Agribun variety that were still rolling. This study used a completely randomized design (CRD) factorial pattern with 2 factors, namely the concentration of 2,4D and BAP consisting of 9 treatments and repeated 3 times; D0B0 (2,4D 1 ppm + BAP 0 ppm); D0B1 (2,4D 1 ppm + BAP 0.1 ppm); D0B2 (2,4D 1 ppm + BAP 0.2 ppm); D1B0 (2,4D 2 ppm + BAP 0 ppm); D1B1 (2,4D 2 ppm + BAP 0.1 ppm); D1B2 (2,4D 2 ppm + BAP 0.2 ppm); D2B0 (2,4D 3 ppm + BAP 0 ppm); D2B1 (2,4D 3 ppm + BAP 0.1 ppm); D2B2 (2,4D 3 ppm + BAP 0.2 ppm). The parameters observed were the percentage of live explants, callus emergence time, fresh weight and callus diameter. The results showed that there was an interaction effect of 2,4D and BAP in spurring the growth and development of*

sugarcane callus varieties ASA Agribun. D1B0 treatment (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) is the best combination in callus emergence time, fresh weight and callus diameter.

Keywords : 2.4 D, BAP, Callus, *Saccharum officinarum*

Pendahuluan

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan komoditas perkebunan yang bernilai ekonomis cukup tinggi karena sebagai bahan baku utama dalam pembuatan gula. Kebutuhan gula tiap tahun meningkat sejalan dengan pertumbuhan pangan masyarakat. Akan tetapi Produksi gula nasional hanya mencapai angka 2,17 juta ton. Sementara, kebutuhan gula nasional mencapai 66 juta ton. Ini menandakan Indonesia baru mampu memenuhi 3,29% dari total kebutuhan nasional, sehingga lebih dari 96% defisit kebutuhan gula nasional yang belum mampu dan harus dipenuhi Indonesia (Kemenperin, 2019)

Gula merupakan salah satu komoditas yang termasuk dalam sembilan jenis kebutuhan pokok masyarakat (Sembako) menurut keputusan Menteri Industri dan Perdagangan no 115/mpp/kep/2/1998 tanggal 27 Februari 1998. Konsumsi gula selalu mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Ketergantungan konsumen terhadap konsumsi gula cukup besar karena kecilnya/lemahnya kecenderungan untuk mensubstitusikannya dengan gula buatan atau pemanis lain. Permintaan gula secara nasional akan terus meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, pendapatan masyarakat, dan pertumbuhan industri pengolahan makanan dan minuman (Sugiyanto, 2007).

Salah satu masalah tidak tercukupinya kebutuhan gula nasional karena petani tebu masih menggunakan metode perbanyakan konvensional yang tidak efektif, metode ini menghasilkan tanaman yang terbatas. Untuk mengatasi masalah tersebut dilakukan perbanyakan secara vegetatif non-kovensional yaitu dengan kultur jaringan (Lutfiani *et al.*, 2022)

Teknik kultur jaringan yang dikenal juga dengan kultur *in vitro* telah terbukti dapat

memperbanyak tanaman secara cepat dan dalam jumlah yang banyak serta identik dengan induknya di industri pembibitan komersial (Hardjo, 2018). Prinsip dari teknik kultur jaringan adalah teori totipotensi sel, dimana semua bagian tanaman baik berupa sel, jaringan, dan organ tanaman dapat berkembang menjadi individu baru yang utuh apabila ditumbuhkan dalam kondisi yang aseptik. Kultur *in vitro* berperan penting untuk memperoleh hasil yang tidak bisa dicapai melalui kultur *ex vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formulasi media penggunaan 2.4 D dan BAP dalam menginduksi kalus Tanaman tebu varietas ASA Agribun secara lebih optimal.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Somatik Embriogenesis Unit Pengelola Benih Unggul Pertanian (UPBUP), Jl. Tentara Pelajar, RT.01/RW.11, Ciwaringin, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor, Jawa Barat 16124. Dengan titik koordinat 6°34'40"S 106°47'11"E. Waktu dilaksanakan penelitian dari bulan Desember 2022 sampai bulan Februari tahun 2023.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor perlakuan yaitu 2.4 D (*Dichlorophenoxyacetic*) terdiri atas 3 taraf (1 ppm, 2 ppm, 3 ppm) dan konsentrasi BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 27 unit. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah Persentase Eksplan Hidup, Waktu Muncul Kalus, Diameter Kalus dan Bobot Segar Kalus.

Tabel 1. Perlakuan Interaksi Berbagai Konsentrasi 2.4 *Dichlorophenoxyacetic* (2.4D) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP)

		ZPT BAP (B)		
ZPT 2.4 D (D)		0 ppm (B0)	0.1 ppm (B1)	0.2 ppm (B2)

1 ppm (D0)	D0B0	D0B1	D0B2
2 ppm (D1)	D1B0	D1B1	D1B1
3 ppm (D2)	D2B0	D2B1	D2B2

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis ragam menunjukkan terdapat interaksi yang berbeda nyata terhadap waktu muncul kalus. Sedangkan, pada parameter

persentase eksplan hidup, diameter kalus dan bobot segar kalus menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (Tabel 2).

Tabel 2. Rekapitulasi analisis ragam pertumbuhan kalus *in vitro* tebu dengan pemberian berbagai konsentrasi 2.4D dan BAP

Parameter Pengamatan	2.4D	BAP	Interaksi
Persentase Eksplan Hidup	0.15tn	0.27tn	0.79tn
Waktu Muncul Kalus	7.59tn	2.09tn	0.000006**
Diameter Kalus	0.21tn	0.04*	0.55tn
Bobot Segar Kalus	0.13tn	0.12tn	0.65tn

Keterangan : * = nyata pada taraf 5%, ** = nyata pada taraf 1%, tn = tidak nyata.

Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan hidup merupakan eksplan yang mampu bertahan hidup yang ditandai dengan daun berwarna hijau dan tidak mengalami *Browning* maupun kontaminasi. Hasil rata-rata persentase eksplan hidup berdasarkan tabel 3. Menunjukan bahwa perlakuan 2.4D dan BAP tidak berinteraksi terhadap persentase eksplan hidup, tetapi terdapat perbedaan persentase eksplan hidup pada perlakuan D0B1(2.4D 1 ppm + BAP 0.1 ppm), D0B2 (2.4D 1 ppm + BAP 0.2 ppm), D2B1 (2.4D 3 ppm + BAP 0.1 ppm) dan D2B2 (2.4D 3 ppm + BAP 0.2 ppm).

Perlakuan dengan tingkat kematian tertinggi terjadi pada D2B2 (2.4D 3 ppm + BAP 0.2 ppm) (Gambar 1), eksplan mengalami *browning* dan terjadi kontaminasi bakteri dan cendawan. Menurut Zulfikar *et al.*, (2009) pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh zat pengatur tumbuh endogen yang ada di dalam eksplan. Hal ini diduga berkaitan dengan kerja auksin dan sitokin yang belum seimbang Dewanti (2019). selain itu, eksplan mengalami *browning* (Gambar

1) *Browning* diawali dengan adanya perubahan warna eksplan dari hijau dan kemudian berubah menjadi coklat pada daerah pelukaan. Eksplan yang berwarna kecoklatan menandakan bahwa sel-selnya telah mengalami kematian (Sitinjak *et al.*, 2019) kemudian Ozygit (2008) menambahkan bahwa eksplan yang terpotong menyebabkan kandungan sitoplasma dan vakuola tercampur dan keluar sehingga senyawa fenol dapat teroksidasi oleh udara.



Gambar 1. Perlakuan D2B2 mengalami Pencoklatan (*Browning*)

Waktu Muncul Kalus

Respon awal terbentuknya kalus dari eksplan potongan daun tebu adalah membengkaknya daun yang disertai dengan munculnya kalus, terutama di sekitar daerah pemotongan tebu. Hasil analisis statistik untuk

variabel waktu muncul kalus menunjukkan terdapat beda nyata dan interaksi antara penggunaan ZPT 2.4D dan BAP (Tabel 2). Hasil rata-rata penggunaan 2.4D dan BAP berdasarkan Tabel 2. menunjukkan pengaruh perlakuan D1B0 dengan faktor (1) 2,4D dan Faktor (2) BAP (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) memberikan hasil terbaik

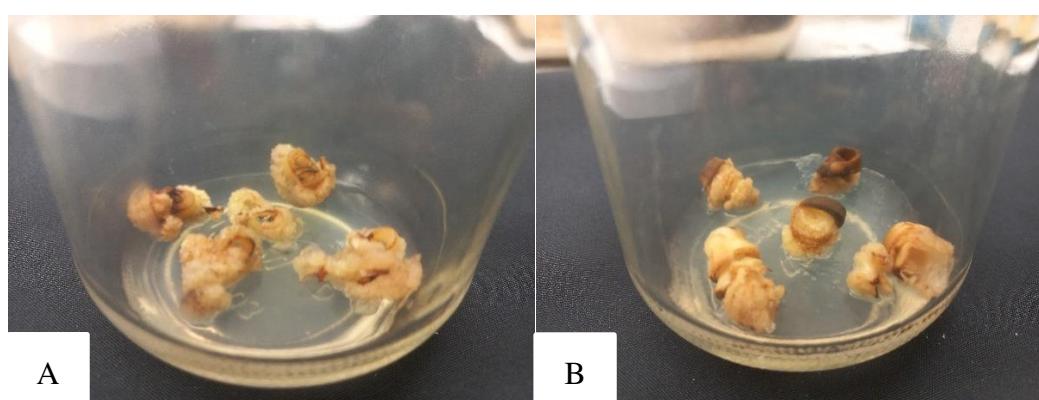
dengan waktu kemunculan kalus 37 HSK (Hari Setelah Kultur) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya kecuali perlakuan D1B1 (2.4D 2ppm + BAP 0.1 ppm). Waktu kemunculan kalus terlama terjadi pada perlakuan D0B0 (2.4D 1 ppm + 0 BAP 0 ppm), D0B1 (2.4D 1 ppm + 0 BAP 0.1 ppm), D0B2 (2.4D 1 ppm + 0 BAP 0.2 ppm), D1B2(2.4D 2 ppm + BAP 0.2 ppm), D2B0 (2.4D 3 ppm + 0 BAP ppm), D2B1 (2.4D 2 ppm + 0.1 BAP ppm) dan D2B2 (2.4D 3 ppm + 0.2 BAP).

Perlakuan D1B0 (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) merupakan konsentrasi yang optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan kalus dapat terlihat dengan nilai waktu muncul kalus tercepat (Tabel 3). Penggunaan auksin secara mandiri tanpa sitokinin dengan konsentrasi 2 ppm sudah cukup untuk menginduksi kalus (Gambar 2). Hal ini sejalan dengan penelitian Suhesti (2015) yang menjelaskan bahwa penggunaan 2.4D secara tunggal memberikan pengaruh inisiasi kalus yang lebih cepat, baik pada varietas Kidang Kencana maupun PSJT 941.

Perlakuan D1B1 (2.4D 2ppm + BAP 0 ppm) dan D1B0 (2.4D 2ppm + BAP 0.1 ppm)

berdasarkan tabel 3. tidak berbeda nyata hal ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan 2.4D secara tunggal (D1B0) maupun kombinasi dengan BAP (D1B1) dengan konsentrasi 0.1 ppm menghasilkan respon inisisasi kalus tercepat dengan waktu 37 HSK dan 38 HSK. Sedangkan perlakuan dengan konsentrasi 2.4D dibawah 2 ppm ataupun diatasnya menghasilkan waktu muncul kalus terlama.

Perlakuan dengan kombinasi 2.4 D dan BAP tertinggi justru memberikan hasil kemunculan kalus terlama. Hal ini disebabkan oleh ketidakseimbangan (*Not Balanced*) antara pemberian hormon eksogen dengan ketersediaan hormon endogen pada tanaman sehingga pertumbuhan kalus terhambat karena kontaminasi dan *browning* (pencoklatan) dan akhirnya eksplan mengalami perlambatan pertumbuhan bahkan mengalami kematian. Menurut Sainawal (2017) beberapa faktor penyebab *browning* diantaranya seperti penggunaan eksplan berasal dari jaringan dewasa, tindakan sterilisasi berlebihan, dan media atau lingkungan yang tidak mendukung.



Gambar 2. Respon Perlakuan D1B0 (A) dan Perlakuan D1B1 (B) terhadap Waktu Kemunculan kalus Tebu Varietas ASA Agribun

Diameter Kalus

Hasil pengamatan terhadap diameter kalus setelah dilakukan analisis ragam didapatkan nilai $\text{sig} > 0.05 = 0.55$ lebih dari 5% tidak signifikan, ini menunjukkan tidak terdapat interaksi pemberian 2.4D dan BAP dalam mempengaruhi diameter kalus tanaman tebu. Kemudian, dilakukan analisis faktor mandiri 2.4

D dan BAP (Tabel 3 dan 4) pengaruhnya terhadap diameter kalus tanaman tebu, didapatkan hasil yang berbeda nyata penggunaan BAP terhadap diameter kalus, sementara penggunaan 2.4D menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Tabel 3. Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2.4 D dan BAP terhadap Pertumbuhan tebu *In-Vitro*

Kode <i>Code</i>	Formulasi Media <i>Media Formulation</i>	Percentase Eksplan Hidup (%)	Waktu Muncul Kalus	Diameter Kalus	Bobot Segar Kalus
D0B0	2.4D 1 ppm + BAP 0 ppm	100a	41bA	1.43a	3.26a
D0B1	2.4D 1 ppm + BAP 0.1 ppm	96a	40aA	1.27a	2.28a
D0B2	2.4D 1 ppm + BAP 0.2 ppm	97a	43aB	1.2a	2.02a
D1B0	2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm	100a	37aA	1.67a	3.53a
D1B1	2.4D 2 ppm + BAP 0.1 ppm	100a	38aA	1.13a	2.23a
D1B2	2.4D 2 ppm + BAP 0.2 ppm	100a	43aB	1.37a	2.99a
D2B0	2.4D 3 ppm + BAP 0 ppm	100a	44aC	1.17a	2.13a
D2B1	2.4D 3 ppm + BAP 0.1 ppm	89a	54bB	1.07a	1.72a
D2B2	2.4D 3 ppm + BAP 0.2 ppm	83a	52bB	1.23a	2.26a
KK (%)		5.45	6.24	6.04	6.3

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Tabel 4. Uji Lanjut Faktor Mandiri 2.4D

Kode	Perlakuan	Diameter Kalus
D0	2.4 D 1 ppm	1.16 a
D1	2.4 D 2 ppm	1.3 a
D2	2.4 D 3 ppm	1.3 a
KK (%)		6

Rerata diameter tertinggi selama 8 minggu pengamatan terjadi pada media dengan tidak menggunakan BAP di dalamnya. Seperti pada tabel 3. Terlihat perlakuan D1B0 (BAP 0 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan D1B1 (BAP 0.1 ppm) akan tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan B2 (0.2 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa 2.4D sebagai ZPT tunggal mampu menghasilkan diameter kalus terbaik. Hasil ini sesuai dengan Pierik (1984) yang menyatakan bahwa 2.4D merupakan golongan auksin kuat yang sering digunakan secara tunggal untuk mendukti terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman serta sangat efektif untuk inisiasi kalus.

Bobot Segar Kalus

Hasil pengamatan terhadap bobot segar kalus setelah dilakukan analisis ragam didapatkan nilai $\text{sig} > 0.05 = 0.65$ lebih dari 5% tidak signifikan, ini menunjukkan tidak terdapat interaksi pemberian 2.4D dan BAP dalam mempengaruhi Bobot segar kalus tanaman tebu. Kemudian dilakukan uji mandiri pengaruh

Tabel 5. Uji Lanjut Faktor Mandiri BAP

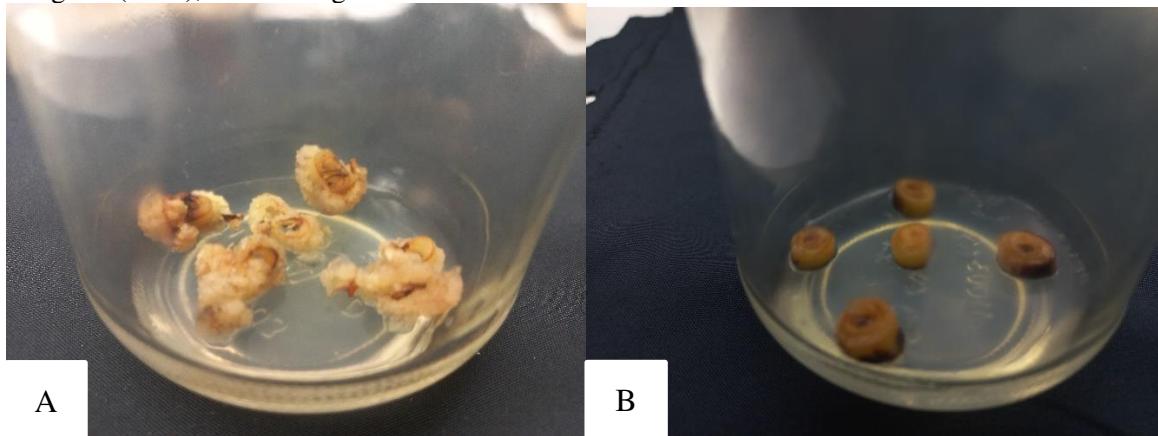
Kode	Perlakuan	Diameter Kalus
B0	BAP 0 ppm	1.43 a
B1	BAP 0.1 ppm	1.16 b
B2	BAP 0.2 ppm	1.3 ab
KK (%)		6

penggunaan masing-masing 2.4D dan BAP terhadap Bobot segar kalus didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata. Berdasarkan tabel 3. Perlakuan D1B0 (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) memiliki Bobot segar kalus tertinggi dengan nilai 3.53 dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Hal ini sejalan dengan uji lanjut faktor mandiri BAP (Tabel 5) diameter kalus D1B0 (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) yang memiliki nilai rata-rata 1.43. Menurut Fitriani (2019) Bobot segar kalus yang tinggi didukung oleh besarnya diameter kalus yang dihasilkan dan seluruh variabel tersebut saling berkaitan, selain itu diameter kalus dipengaruhi oleh besar atau tidaknya rongga pada kalus.

Perlakuan D2B1(3 ppm 2.4D + 0.1 ppm BAP) memiliki Bobot segar kalus terendah dengan nilai 1.72 meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya namun nilai ini cukup bervariasi. Bobot segar kalus rendah diduga disebabkan oleh adanya kontaminasi bakteri dan cendawan kemudian terjadi pencoklatan

(*Browning*) sehingga eksplan mengalami gagal tumbuh.

Bobot segar kalus berhubungan dengan tekstur kalus. Kalus yang memiliki kepadatan tinggi berbanding lurus dengan Bobot segar kalus. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ruswaningsih (2007), Bobot segar kalus dari



Gambar 3. Respon Perlakuan D1B1 (A) dan D2B1 terhadap Bobot Segar Kalus Tebu Varietas ASA Agribun

Kesimpulan

Terdapat Pengaruh Interaksi penggunaan ZPT 2.4D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap waktu muncul kalus. Sementara persentase eksplan hidup, Bobot segar kalus dan diameter kalus tidak berinteraksi namun, terdapat pengaruh yang berbeda nyata untuk faktor mandiri diameter kalus. Perlakuan D1B0 (2.4D 2 ppm + BAP 0 ppm) menghasilkan persentase eksplan hidup terbaik, waktu kemunculan kalus tercepat (37 hsk), diameter kalus terlebar (1.43 cm) dan Bobot segar kalus terberat dengan nilai 3.53 gram.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada kepala Pusat Standardisasi Instrumen Pertanian Perkebunan yang telah memberikan kesempatan untuk penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Sri Suhesti, S.P., M.P sebagai Kepala Laboratorium Somatik Embriogenesis, Unit Pengelola Benih Unggul Pertanian (UPBUP).

Daftar Pustaka

Dewanti, P. 2019. Teknik Kultur Jaringan Tanaman: Prinsip Umum Dan Metode Aplikasi di Bidang Bioteknologi Pertanian. UNEJ Press. Jember.

segi fisiologi terdiri dari dua komponen utama, yaitu air dan karbohidrat. Hasil penelitian oleh Indah dan Ermavitalini (2013) menyatakan bahwa Bobot segar kalus yang signifikan pada kalus disebabkan oleh adanya kandungan air yang tinggi

Ermavitalini D. 2013. 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): 16

Hardjo, P. 2018. Kultur Jaringan Anggrek: Embriogenesis Somatik *Vanda Tricolor* (*Lindl.*) var. *pallida*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. 2019, Industri Gula Digenjot. Melalui: <https://kemenperin.go.id/artikel/20447/industri-gula-digenjot> Di akses pada tanggal 11 Juni 2022.

Lutfiani, I., Lestari, A., Widyodaru, N., dan Suhesti, S. 2022. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Agrotek Indonesia.* 1 (7) : 49 - 57.

Ozygit. 2008. *Phenolic changes during in vitro organogenesis of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) shoot tips.* Afr.J. Biotechnol. 7 (8): 1145-1150.

- Pierik, R.L.M. 1984. *Plant tissue culture: Theory and practice. Scientia Horticulturae.* 24 (1) : 93.
- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk (*Artemisia annua* L.) pada Kultur *In Vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Sugiyanto, C. 2007. Permintaan Gula di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Pembangunan: Kajian Masalah Ekonomi dan Pembangunan.* 8 (2) :113.
- Sainawal, S. B., Nugroho, J. D., dan Kesaulija, F. F. 2017. Kultur Embrio Merbau (Intsiabijuga OK.) pada Media Murashige dan Skoog (MS) siperkaya dengan Zat Pengatur Tumbuh BAP, GA3 dan IBA. *Jurnal Kehutanan Papuasia.* 3 (2) : 132 - 141.
- Sitinjak, M., Novaliza Isda, M., & Fatonah, S. (2019). Induksi Kalus Dari Eksplan daun *In Vitro* Keladi (*Typhonium* sp.) Dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Jurnal Biologi,* 8(1), 32–39.
- Suhesti, S., Khumaida, N., Husni, A., Hadipoentyanti, E., & Hartati, R. 2015. Induksi Kalus dan Regenerasi Dua Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*. *Jurnal Littri,* 21(2) : 77-88.
- Teknik Sterilisasi dan Efektivitas 2.4D terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun NilamT (*Pogostemon cablin* Benth) *In Vitro*. *J. Agric. Sci. and Biotechnol,* 8(1), 41–52.
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman.* Bumi Aksara. Jakarta