

# PROPAGASI TANAMAN NILAM (*Pogostemon cablin Benth.*) SECARA IN VITRO DENGAN KOMBINASI SITOKININ DAN AUKSIN 2,4 D

Bowo Sugiharto\*), Triastuti Rahayu\*\*), Mukhiissul Faatih\*\*)

\*) Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UNS

\*\*) Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UMS

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh (sitokinin/BAP dan auksin 2,4 D) yang paling optimal untuk propagasi secara *in vitro* pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth.*). Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan tanaman Biologi FKIP UMS. Metode yang digunakan bersifat eksploratif. Analisis dilakukan secara kualitatif terhadap morfologi perkembangan eksplan hingga diperoleh planlet yang sudah lengkap dengan organ akar, batang, dan daun. Penelitian ini menyimpulkan bahwa konsentrasi yang paling efektif untuk propagasi secara *in vitro* tanaman *Pogostemon cablin Benth.* adalah BAP 1 ppm. tanpa auksin 2,4 D yang ditambahkan dalam medium MS.

Kata kunci: *propagasi, in vitro, tanaman nilam, sitokinin dan auksin 2,4 D*

## PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth*) merupakan tanaman perkebunan yang memiliki prospek ekonomi yang cukup cerah. Hasil yang diperoleh dari tanaman nilam adalah berupa minyak, yaitu minyak nilam.

Nilam termasuk salah satu warga familia *Lamiaceae*. Menurut Gembong (2000) secara lengkap sistematika tumbuhan ini adalah divisio: *Spermatophyta*, subdivisio: *Angiospermae*, classis: *Dicotyledonae*, subclassis: *Sympetale*, ordo: *Solanales / Tubiflorae / Personatae*, familia: *Lamiaceae / Labiatae*, genus: *Pogostemon*; dan species: *Pogostemon sp*

Tanaman nilam sebenarnya dikenal lebih dari satu jenis di antaranya: *Pogostemon cablin Benth.*, *Pogostemon heyneanus*, dan *Pogostemon hostensis* Backer. Ketiga jenis tanam nilam tersebut memiliki kadar dan kualitas minyak yang berbeda-beda. Untuk mendapatkan jenis nilam yang baik, perlu diidentifikasi ketiga jenis tanaman nilam tersebut, sehingga tidak keliru dalam menen-

tukan dan mendapatkan bibit yang akan dikembangkan (Hieronymus, 1997; Titik dan Endang, 2002). Perbedaan ketiga jenis tanaman nilam itu antara lain terlihat seperti pada tabel berikut:

Minyak nilam merupakan salah satu dari beberapa jenis minyak atsiri. Minyak atsiri ini banyak digunakan dalam industri kosmetika dan banyak dicari konsumen luar negeri. Minyak atsiri pada industri selain digunakan sebagai bahan pembuat kosmetik juga banyak digunakan dalam pembuatan parfum, antiseptik, dan lain-lain. Minyak atsiri sendiri merupakan salah satu hasil proses metabolisme dalam tanaman, yang terbentuk karena reaksi berbagai persenyawaan kimia dengan air (Titik dan Endang, 2002) Sebenarnya kandungan yang terdapat pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth*) bukan hanya minyak nilam saja melainkan senyawa-senyawa bahan industri lain yaitu: patchouli alcohol, patchouli camphor, cadinene, benzaldehyde, eugenol dan cinnamic aldehyde.

Tabel 1. Identifikasi Jenis Nilam

No	Uraian	<i>P. cablin</i>	<i>P. heyneanus</i>	<i>P. hortensis</i>
1	Nama lain	-	Nilam Jawa nilam hutan	Nilam sabun
	Bentuk daun	Agak membulat seperti jantung dan berbulu rambut di bawah daun	Ujung meruncing dan lebih tipis	Ujung meruncing dan lebih tipis
3	Bunga	Tidak atau jarang berbunga	Berbunga	Tidak berbunga
4	Kadar	2,5-5%	0,5-1,5%	0,5-1,5%
5	Komposisi minyak	Bagus	Jelek	Jelek

Sumber: Hieronymus, 1997

Minyak nilam merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang memiliki permintaan cukup tinggi. Negara pengimpor terbesar minyak nilam adalah Amerika Serikat yakni tidak kurang dari 210 ton minyak nilam dibutuhkan rata-rata per tahun. Negara pengimpor lainnya antara lain Inggris, Prancis, Swis, Jerman dan Belanda. Jumlah konsumsi rata-rata minyak nilam pertahun negara-negara tersebut disajikan dalam tabel berikut.

Tabel 2 Konsumsi minyak nilam negara pengimpor

No	Negara	Konsumsi (ton)/ tahun
1	Amerika Serikat	210 - 230
2	Inggris	45 - 60
3	Perancis	40 - 50
4	Swiss	40 - 50
5	Jerman	35 - 40
6	Belanda	30

Mengingat begitu besar prospek dari hasil tanaman nilam, maka perlu diupayakan pembibitan yang menghasilkan kualitas tanaman yang baik. Dalam rangka pengembangan pemanfaatan tanaman nilam maka usaha penyediaan bibit yang bermutu dan bebas penyakit mutlak diperlukan. Teknik untuk memenuhi permintaan tersebut yang tepat adalah teknik propagasi secara *in vitro* (kultur-jaringan).

Teknik budidaya *in vitro* ini bisa mengatasi kendala yang sering dijumpai pada masalah seputar penyediaan bibit, misalnya: bisa menyediakan bibit yang seragam, dalam waktu yang relatif singkat, tidak tergantung pada musim, serta bebas penyakit. Di samping itu dalam kondisi *in vitro* produksi metabolit sekunder seperti yang dikandung oleh tanaman nilam akan lebih menguntungkan, karena kondisinya terkontrol, dapat diperbanyak pembentukannya yaitu dengan memanipulasi medium dan hasilnya relatif konstan (Soeryowinoto, 1985; Katuuk 1989).

Kultur jaringan sebagai salah satu teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan atau organ tanaman yang dipelihara dalam suatu medium dan dikerjakan seluruhnya dalam keadaan aseptik (Katuuk, 1989). Potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Pierik, 1987). Sebagai respon terhadap hormon, baik endogen maupun eksogen akan muncul kalus. Kalus dapat juga terbentuk pada bagian yang tidak mengalami luka akibat irisan dan sering muncul dari bagian ibu tulang daun atau tulang daun, bila helaian daun digunakan sebagai eksplan (Street, 1976; George dan Sherrington, 1984).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* antara lain: faktor eksplan, komponen medium dan lingkungan kultur (George dan Sherrington, 1984).

Ukuran, umur, sumber dan genotip eksplan ikut menentukan keberhasilan kultur *in vitro*. Eksplan yang terlalu kecil daya tahan untuk hidup kurang bagus dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya, eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit (George dan Sherrington, 1984). Ukuran eksplan yang paling baik adalah antara 0,5 – 1 cm, tetapi ukuran ini dapat bervariasi tergantung bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan eksplan serta jenis tanaman (Katuuk, 1989).

Ketepatan pemberian zat hara sangat penting sebab perkembangan eksplan hanya tergantung semata-mata pada susunan zat hara yang terlarut dalam medium itu (Katuuk, 1989). Fungsi utama medium adalah untuk memenuhi kebutuhan zat hara dan mengarahkan pertumbuhan eksplan.

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh dalam kultur *in vitro* adalah: cahaya, temperatur dan pH medium. Selama dalam kultur *in vitro* sel tumbuhan tidak melakukan fotosintesis secara efisien dan unumnya dalam keadaan non autotrof. Meskipun seluruh kebutuhan energi untuk pertumbuhan secara *in vitro* sudah dipenuhi dari gula tetapi untuk menghasilkan *plantlet* hijau dengan daun normal diperlukan cahaya (Wetherell, 1982).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan antara lain auksin, sitokinin dan giberelin. Hormon-hormon ini sering digunakan karena mempunyai kemampuan untuk merangsang pertumbuhan eksplan dan mempengaruhi pertumbuhan akar. Dari ketiga jenis hormon ini yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Wetherell, 1982).

Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel. Sedang peran auksin adalah merangsang pembelahan dan pembesaran sel

yang terdapat pada pucuk dan menyebabkan pertumbuhan pucuk baru, serta merangsang pembentukan akar (Wetherell, 1982). Auksin secara alami diproduksi dalam bentuk AIA (asam indol asetat), tetapi auksin ini tidak stabil. Dalam penelitian ini akan digunakan auksin 2,4 D (asam 2,4 diklorofenoksi asetat) karena bersifat stabil dan kuat (Wetherell, 1982). Sedangkan sitokinin yang digunakan adalah BAP (*6-benzilamino-purin*).

Kemampuan untuk mensintesis atau merombak serta kepekaan terhadap zat pengatur tumbuh dalam medium, untuk tiap species dan masing-masing bagian tanaman sangat berbeda-beda. Untuk itu dalam penelitian ini akan dicari konsentrasi zat pengatur tumbuh yang paling optimal untuk propagasi tanaman nilam (*Pogostemon cohlin Benth.*) secara *in vitro*.

Berdasar uraian di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: Pada kombinasi konsentrasi berapakah sitokinin dan auksin 2,4 D yang paling efektif digunakan untuk propagasi tanaman nilam (*Pogostemon cahlin Benth*) secara *in vitro*?

Sedangkan tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh (sitokinin dan auksin 2,4 D) pada medium untuk propagasi tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth*) secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### 1. Bahan:

- 1) Eksplan : meristem apikal tanaman nilam *Pogostemon cablin benth.*
- 2) Media: Media MS (Komposisi medium seperti pada lampiran 1)
- 3) Sterilan: alkohol, akuades dan Bayclean (Clorox)

### 2. Alat

Alat yang digunakan merupakan peralatan kultur jaringan, antara lain: gelas ukur, *petridisk*, *erlenmeyer*, labu takar, timbangan, pH meter, *autoclave*, botol kultur, aluminium foil, *laminar air flow cabinet*,

*magnetic stirrer dan hotplate*, pinset, skalpel, dan gunting.

### 3. Cara Kerja

#### a. Sterilisasi alat dan botol kultur

Sterilisasi ini dilakukan dengan cara mencuci bersih alat yang digunakan dengan detergent dan mengautoclave-nya pada 1 ATM, 120°C selama 20 menit.

#### b. Membuat larutan stok MS

Larutan stok dibuat untuk mempermudah pekerjaan, dibuat dengan cara:

- 1) Menimbang semua bahan garam-garam makro, mikro dan vitamin sesuai dengan ukuran berat per liter larutan (sesuai dengan lampiran 1)
- 2) Melarutkannya dalam air atau HCl sesuai dengan bahan stock yang dibuat.

#### c. Membuat medium MS per larutan medium, dengan cara:

- 1) Mengambil dengan pipet larutan stok MS yang telah dibuat sesuai dengan ukuran volume masing-masing larutan stok (lampiran 1).
- 2) Khusus untuk sitokinin (BAP) dibuat dengan konsentrasi 1 ppm, sedangkan auksin 2,4 D dibuat dengan konsentrasi 0 dan 1 ppm (botol berlabel A= BAP 1 ppm, 2,4 D 1 ppm; botol berlabel B = BAP 1 ppm tanpa 2,4 D).
- 3) Hasil pipet ini kemudian dimasukkan dalam labu takar ukuran 1 liter.
- 4) Ditambahkan glukosa / sukrosa 30 gram.
- 5) Sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* juga dipanaskan dengan hot plate.
- 6) Ditera sampai tanda skala volume yang dikehendaki dan kemudian dicek pH-nya untuk mencapai 5,8 - 6,0 dengan penambahan HCl jika terlihat basa atau NaOH jika asam.
- 7) Ditambahkan agar-agar kemudian ditunggu sampai mendidih.

8) Dibagikan pada botol-botol steril @ 20 ml.

9) Ditungkup dengan aluminium foil.

10) Diautoclave / disterilisasi pada tekanan 1 ATM, 120°C selama 15 menit.

11) Setelah dingin disimpan dalam ruang simpan selama 3 hari untuk mengecek kebersihan atau kesterilan medium.

#### d. Sterilisasi bahan tanam / eksplan

- 1) Mengambil bagian meristem pucuk tanaman sebagai eksplan.
- 2) Dicuci dengan menggunakan detergent.
- 3) Sterilisasi dalam laminar dengan direndam bay clean (clorox) 5% selama 3 menit.
- 4) Dibilas dengan akuades.
- 5) Eksplan kembali direndam dengan alkohol 70% selama 3 menit.
- 6) Dibilas lagi dengan menggunakan akuades, lalu ditiriskan dengan menggunakan kertas tissue.

e. Penanaman pada botol kultur yang sudah diisi dengan medium dan terbukti steril / tidak terkena kontaminasi, dilakukan dalam laminar air flow cabinet.

f. Diinkubasi di rak kultur pada ruang kultur.

g. Pengamatan pertumbuhan dilakukan di rak kultur.

h. Pengambilan gambar/foto terhadap hasil propagasi ini pada berbagai kombinasi konsentrasi sitokinin dan auksin 2,4 D dalam berbagai umur yaitu 4, 8 dan 12 minggu.

i. Analisis secara kualitatif dari hasil kultur in vitro dengan berbagai konsentrasi sitokinin (BAP) dan auksin 2,4 D.

### 4. Pengumpulan Data

Pengamatan terhadap perkembangan morfologi eksplan dilakukan setiap hari hingga diperoleh eksplan dengan organ lengkap yaitu akar, batang, dan daun. Kemudian dilakukan pengambilan gambar dengan menggunakan kamera foto pada usia 4,8, dan 12 minggu.

## 5. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kualitatif terhadap perkembangan morfologis eksplan dengan mengaitkan antara fakta yang diperoleh dengan pustaka yang menunjang.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil Penelitian

Penelitian ini menitikberatkan pada pengamatan secara morfologis terhadap proses perkembangan eksplan hingga dihasilkan planlet. Dengan menggunakan asumsi bahwa

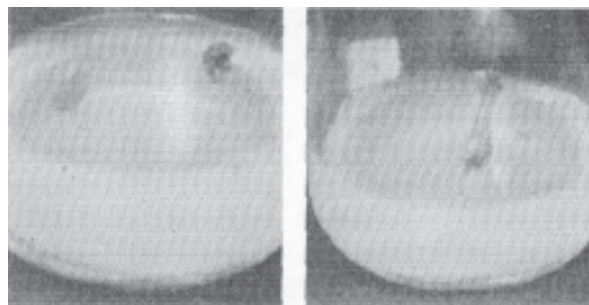
eksplan yang diambil berasal dari jaringan meristem apikal banyak mengandung hormon auksin endogen, maka penelitian ini menggunakan 2 macam kombinasi medium dengan zat pengatur tumbuh yang berbeda. Hasil pengamatan tentang perkembangan eksplan hasil kultur in vitro pada medium MS dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 1 ppm BAP + 1 ppm 2,4 D serta kombinasi yang lain adalah 1 ppm BAP saja, ternyata menunjukkan kecepatan dan tingkat perkembangan yang sangat berbeda nyata seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Perkembangan Eksplan pada Media yang Berbeda

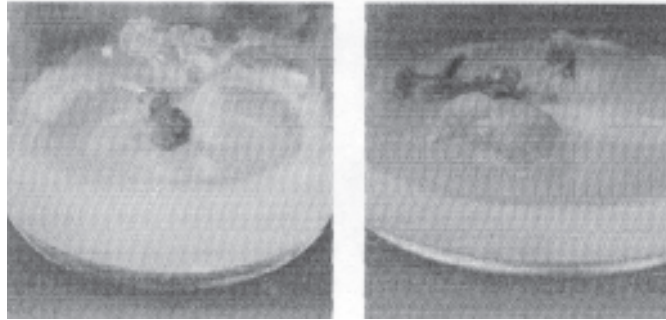
Kombinasi ZPT	Pengamatan terhadap Eksplan		
	4 minggu	8 minggu	12 minggu
A(1 ppm BAP, 1 ppm 2,4D)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Eksplan segar,</li><li>• Belum ada pembentangan</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ada pembelahan</li><li>• Kalus sedikit</li><li>• Terjadi browning</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Pembelahan terhenti</li><li>• Tidak ada diferensiasi</li></ul>
B(1 ppm BAP, 0 ppm 2,4D)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Eksplan segar</li><li>• Terbentuk kalus</li><li>• Ada diferensiasi (terbentuk daun)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Diferensiasi berlanjut</li><li>• Terbentuk batang dan daun</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Terbentuk organ tumbuhan yang lengkap(akar, batang dan daun)</li></ul>

Untuk memperjelas berikut disajikan foto-foto hasil penelitian:

#### 1. Eksplan umur 4 minggu

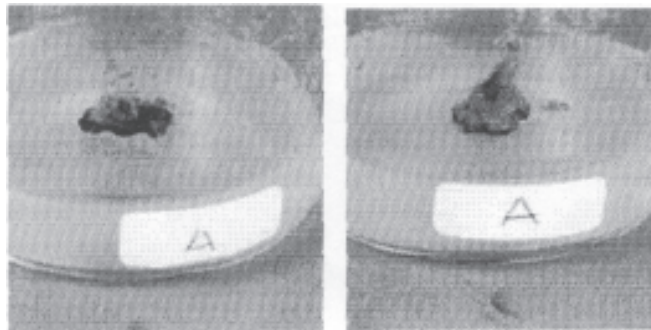


Gambar 1. Eksplan 4 Minggu pada Medium A

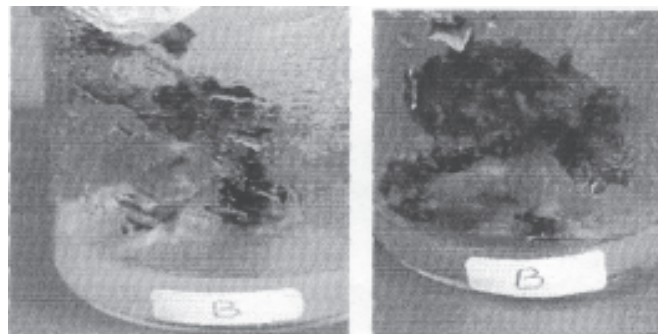


Gambar 2. Eksplan 4 Minggu pada Medium B

## 2. Eksplan Umur 8 Minggu

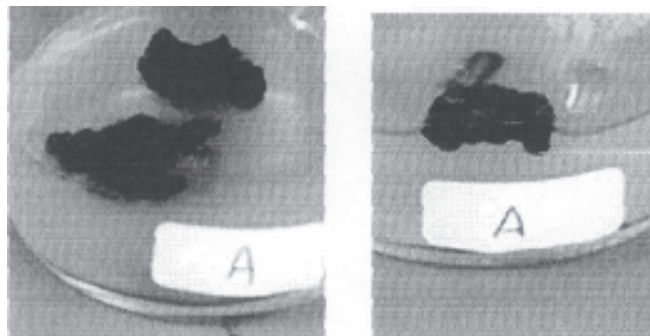


Gambar 3. Eksplan 8 Minggu pada Medium A

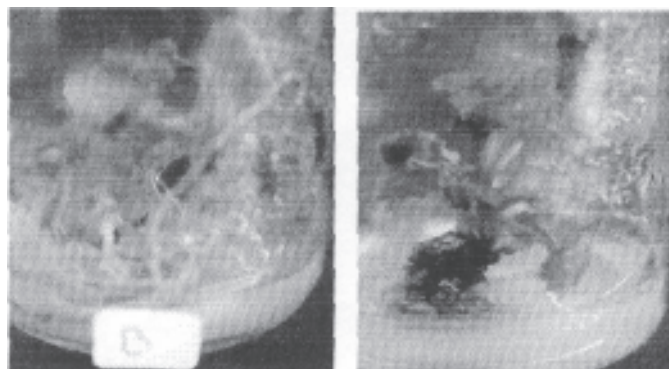


Gambar 4. Eksplan 8 Minggu pada Medium B

## 3. Eksplan Umur 12 Minggu



Gambar 5. Eksplan 12 Minggu pada Medium A



Gambar 6. Eksplan 12 Minggu pada Medium B

## 5.2. Pembahasan

Dari data di atas menunjukkan bahwa kecepatan dan tingkat perkembangan lebih tinggi pada eksplan yang ditanam pada medium MS dengan zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm saja tanpa 2,4 D. Dalam hal ini BAP (6-Benzilaminopurin) merupakan salah satu hormon sintetis derivat sitokinin. Sedangkan auksin yang ditambahkan adalah 2,4 D (asam 2,4 diklorofenoksi asetat).

Eksplan pada medium BAP saja tanpa 2,4 D (medium B) ternyata berkembang lebih cepat dibandingkan pada medium BAP+2,4 D (medium A). Pada pengamatan umur 4 minggu medium A belum menunjukkan adanya tanda-tanda pembelahan apalagi diferensiasi, sedangkan medium B sudah ada pembelahan dan terbentuk kalus serta terbentuk daun pada eksplan. Demikian seterusnya hingga pada pengamatan pada minggu ke 12 didapatkan bahwa eksplan pada medium A sudah terhenti pembelahannya dan terjadi browning, sedangkan eksplan pada medium B terus berkembang dan membentuk planlet dengan diferensiasi yang sempurna yaitu sudah memiliki akar, batang, dan daun.

Pada medium A ditambahkan 2,4 D yang merupakan auksin sintetis. Auksin sangat berperan dalam proses pembentukan tunas. Auksin secara alami dihasilkan oleh tumbuhan dalam bentuk AIA (asam indol asetat) yang banyak dihasilkan di daerah meristem apikal

(Campbell, 2000). Peran auksin yang pertama dalam propagasi in vitro adalah merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman, dan menyebabkan terbentuknya pucuk baru. Selanjutnya auksin akan merangsang pembedakan akar (Wetherell, 1982).

Tetapi pada penelitian ini dengan adanya penambahan 2,4 D justru menyebabkan pertumbuhan menjadi lambat, kalus pun juga terbentuk sedikit dan akhirnya pembelahan terhenti tanpa adanya proses diferensiasi. Hal ini berarti bahwa eksplan yang digunakan yakni yang diambil dari meristem apikal sudah banyak memiliki auksin endogen. Secara alami auksin yang disintesis dalam bentuk AIA (Asam indol asetat) banyak diproduksi pada meristem apikal kuncup, daun muda dan embrio dalam biji (Campbell, 2000).

Keberadaan 2,4 D pada penambahan dalam medium ini terakumulasi dengan AIA yang sudah dimiliki oleh eksplan, sehingga konsentrasi auksin secara keseluruhan (2,4 D + AIA) pada penelitian ini bukan konsentrasi yang optimal untuk propagasi. Hal ini menandakan bahwa kebutuhan hormon auksin sudah terpenuhi dari hasil sintesis sendiri.

Eksplan pada medium B (MS + 1 ppm BAP) ternyata menunjukkan perkembangan yang menggembirakan yakni bisa terbentuk planlet yang sempurna yang sudah memiliki akar, batang dan daun. Seperti pada penjelasan

di atas eksplan yang diambil dari meristem apikal ini kemungkinan sudah tercukupi kebutuhan auksinya. Tanpa penambahan 2,4 D ternyata eksplan berkembang baik.

Pada medium ini dilakukan penambahan BAP yang merupakan zat pengatur tumbuh sintetis derivat sitokinin. Fungsi utama sitokinin adalah memacu sitokinesis atau pembelahan sel (Salisbury, 1995). Di samping itu sitokinin juga berperan dalam merangsang pertumbuhan tunas daun (Wetherell, 1982). Tampaknya eksplan yang diambil pada penelitian ini belum memiliki sitokinin endogen sehingga penambahan BAP berpengaruh positif pada perkembangan eksplan. Sitokinin secara alami disintesis di akar, embrio, dan buah (Campbell, 2000).

Sitokinin merupakan perangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan, dan merangsang pertumbuhan tunas daun. Namun demikian, kadar sitokinin yang optimal untuk pertumbuhan tunas dapat menghambat pertumbuhan dan pembentukan akar.

Interaksi antara auksin alami dan sitokinin (BAP) pada medium B ini nampaknya merupakan kombinasi yang optimal untuk propagasi in vitro. Sehingga pembelahan sel-sel eksplan bisa berakhir dengan diferensiasi dengan pembentukan organ yang lengkap yaitu akar, batang dan daun.

## SIMPULAN

Dalam penelitian ini disimpulkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif untuk propagasi in vitro tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth.*) adalah BAP 1 ppm dalam medium MS.

## SARAN

Untuk menindaklanjuti hasil penelitian ini perlu dilakukan penelitian tentang kadar minyak atsiri yang terkandung pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth.*) yang dihasilkan melalui kultur in vitro ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Apriana, A. 1996. *Kultur Kalus dan Kecambah Tomat (Lycopersicon esculentum Mill. var. King Kong) pada Kombinasi ZPT yang Berbeda Untuk Induksi Tunas*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Campbell, N.A. 2000. *Biology Concepts and Connections*. Third Editions. San Francisco: Benjamin/Cummings an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.
- Gembong Tjitrosoepomo. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- George, E.F. dan P.O. Sherrington. 1984. *Plant Propagation By Tissue Culture. Hand and Directory of Commercial Laboratories*. New York: Exergetics Ltd.
- Hendaryono, D.P.S. dan An Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Cetakan 1. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hieronymus, B.S. *Bertanam Nilam*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Katuuk. J.R.P. 1989. *Teknik Kultur Jaringan Dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Departemen P dan K.
- Pierik, L.R.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Dordrecht Netherlands: Martmus NiJ'hoff Publisher.
- Soeryowinoto, M. 1985. *Budidaya Jaringan dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.



- Street, H.E. 1976. *Tissue Culture and Plant Science*, Second Edition. London: Academic Press Inc.
- Titik, S. dan Endang, S. 2002. *Budidaya dan Penyulingan Nilam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wahyuningsih, S. 1987. *Kultur Jaringan Tanaman Coklat (Theobroma cacao L.) dengan Variasi Gula, Zat Pengatur Tumbuh, Eksplan dan pH, Sebagai Salah Satu Alat Propagasi Vegetatif*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. diterjemahkan oleh Koensoemardiyah. Wayne New Jersey: Avery Publishing Group Inc.