

Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Pada Berbagai Kombinasi 2,4D dan BAP Secara In Vitro

^{1*} Riski Busaifi, ² Hirjani, ³ Riska Lestari

^{1,2,3}Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Nahdlatul Wathan Mataram

*Email : d0824078901@unwmataram.ac.id

Abstract

Stevia plant is one of the sweetener plants besides sugarcane, stevia plant leaves are estimated to be 300 times sweeter than sugar. But Stevia is constrained by the propagation of cuttings produced slightly in the provision of seedlings on a large scale. So, the tissue culture technique is one of the alternatives. The combination of auxedine and cytokinin has an important role in inducing callus where 2.4 D and BAP is a combination used in in-vitro plant propagation. The purpose of this study is to find the optimal 2.4D and BAP concentrations for the growth of stevia leaf calluses. The explant used from the young leaves of a healthy stevia plant comes from the field then grown on MS media with a combination of 2.4-D (0.5; 1; 1.5; and 2 mg/l) and BAP (0.5; 1; and 1.5 mg/l) to induce embryogenic callus. The observed variables include Leaf Curved Day, Callus Appear Day, Weight, Color, and its texture. Treatment of 2.4-D 2 mg / L with BAP 0.5 mg / L BAP is able to produce good callus, many, initiation is fast and efficient (optimal).

Keywords: Calus; Stevia; 2,4-D; BAP; In Vitro

Abstrak

Tanaman stevia salah satu tanaman pemanis selain tebu, Daun tanaman stevia diperkirakan 300 kali lebih manis dari gula. Namun Stevia terkendala pada perbanyakan secara stek yang dihasilkan sedikit dalam penyediaan bibit dalam skala besar. Sehingga teknik kultur jaringan merupakan salah satu alternatif. Kombinasi antara Auksin dan Sitokinin mempunyai peran penting untuk menginduksi kalus dimana 2,4 D dan BAP merupakan kombinasi yang digunakan dalam perbanyakan tanaman secara in-vitro. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menemukan konsentrasi 2,4D dan BAP yang optimal untuk pertumbuhan kalus daun stevia. Eksplan yang digunakan dari daun muda tanaman stevia yang sehat berasal dari lapang kemudian ditumbuhkan pada media MS dengan kombinasi 2,4-D (0.5; 1; 1.5; dan 2 mg/l) dan BAP (0.5; 1; dan 1.5 mg/l) untuk menginduksi kalus embriogenik. Variabel yang diamati meliputi Hari Melengkung Daun, Hari Muncul kalus, Berat, Warna, dan tekstur nya. Perlakuan 2,4-D 2 mg/L dengan BAP 0,5 mg/L BAP mampu menghasilkan kalus yang baik, banyak, inisiasi yang cepat dan efisien (optimal).

Kata kunci: Kalus; Stevia; 2,4-D; BAP; In Vitro

PENDAHULUAN

Tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) salah satu tanaman pemanis selain tebu, tanaman berbentuk perdu yang tingginya sekitar 1 m ini berasal dari Amambay, yaitu daerah bagian Timur Laut Paraguay (Lemus-Mondaca dkk, 2012). Daun tanaman stevia diperkirakan 300 kali lebih manis dari gula (sukrosa) (Geuns, 2003). Manis daun stevia ini di karenakan terdapat senyawa glikosida.

Pada umumnya tanaman stevia di perbanyak dengan menggunakan stek batang, namun demikian jumlah stek yang dihasilkan pertanaman sangat sedikit sehingga menjadi kendala dalam penyediaan bibit bila ditanam dalam skala lua. Penggunaannya juga telah diuji dan tidak memberikan efek samping. Potensi yang dimiliki oleh stevia menjadi perhatian banyak orang

sehingga banyak pula keinginan untuk mengembangkan tanaman ini. Kemampuan biji stevia untuk berkecambah sangatlah rendah dan propagasi secara vegetatif juga terbatas dilakukan karena rendahnya jumlah individu yang dapat diperoleh dari satu tanaman induk. Oleh karena itu, kultur in vitro dapat menjadi alternatif dan sebagai sumber yang efisien untuk produksi metabolit sekunder (Janarthanam dkk., 2010).

Pertumbuhan kultur in vitro dapat dibuat dengan modifikasi zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk menginduksi kalus ialah auksin dan sitokinin. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan.

Menurut penelitian (Syahid, 2007), kombinasi perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l + BAP 0,1 mg/l merupakan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan struktur kalus yang lebih remah. Menurut Busaifi dan Hirjani (2018) Kombinasi perlakuan 2,4-D 2mg/l + BAP 0 mg/l merupakan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan struktur kalus yang terbaik pada eksplan gulungan daun tanaman tebu. Lebih lanjut, Pada Penelitian yang dilakukan Buana (2018) bahwa kombinasi perlakuan 2,4-D 2 mg/L dan BAP 1 mg/L merupakan konsentrasi yang terbaik untuk menghasilkan kalus Stevia rebaudiana, dengan laju induksi kalus yaitu 12 hari, warna kalus putih, dan tekstur kalus remah.

Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro ?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian konsentrasi BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro ?
3. Apakah terdapat pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro ?

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro.
2. Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro.
3. Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4 -D dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*stevia rebaudiana*) secara in vitro

METODE

Penelitian ini akan dilaksanakan di Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Provinsi. NTB, pada bulan September - Oktober 2019. Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Daun stevia dari tanaman *stevia rebaudiana*, aquades, alkohol 70, 96 %, fungisida, bakterisida, sabun cair, medium Murashige dan skoog (MS), 2,4 D,

BAP, gula, karet, plastik, tisu. Alat-alat yang digunakan adalah: erlenmeyer, botol kultur, botol jam, petridish, autoklaf, gelas ukur, gelas beker, pinset, skalpel, blade, bunsen, timbangan analitik, mikropipet, pH meter, karet gelang, kertas saring, plastic wrap, tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, oven, termometer, rak kultur, LAFC (Laminar Air Flow Cabinet).

Rancangan yang digunakan adalah rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor yaitu 4 konsentrasi 2,4-D dan 3 konsentrasi BAP. Penelitian ini terdapat 12 (dua belas) perlakuan dan 3 (tiga) ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 4 botol. Jadi keseluruhan eksplan yang digunakan berjumlah $12 \times (3 \times 4) = 144$ eksplan. Penempatan sampel dilakukan secara acak agar semua sampel untuk berbagai konsentrasi mendapat kondisi yang sama. Faktor I: P1 = 0,5mg/l 2,4D; P2 = 1 mg/l 2,4D; P3 = 1,5 mg/l 2,4D; P4 = 2 mg/l 2,4D; Faktor II: B1 = 0,5 mg/l BAP; B2 = 1 mg/l BAP; B3 = 1,5 mg/l BAP.

Pengamatan dilakukan selama 1 bulan pada media perlakuan dengan perubahan yang diamati sebagai berikut: Hari Melengkung Daun, Hari Muncul kalus, Berat, Warna. Data yang didapat dianalisis menggunakan Analysis of Varian (ANOVA). Apabila sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata selanjutnya dilakukan uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada taraf 5% untuk mengetahui beda antar perlakuan untuk mendapatkan konsentrasi optimum 2,4 D dan BAP.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel Anova pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*Stevia rebaudiana*) secara in vitro pada parameter hari muncul kalus disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tabel Anova Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Secara In Vitro

Parameter	P	B	P x B
Hari Daun Melengkung	ns	Ns	s
Hari Muncul Kalus	ns	S	ns
Berat	ns	Ns	ns

Keterangan :P = 2,4D; B = BAP; S = Signifikan (Berpengaruh nyata), NS = Non Signifikan (Berpengaruh nyata)

Tabel 1. menunjukkan bahwa pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia secara in vitro tidak memberikan pengaruh nyata terhadap hari muncul kalus dan berat, sedangkan pada parameter hari daun melengkung memberikan pengaruh nyata sehingga dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada taraf nyata 5%.

Hari Daun Melengkung

Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*Stevia rebaudiana*) secara in vitro terhadap parameter hari daun melengkung, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Purata Hasil Analisis Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Secara In Vitro pada Parameter Hari Daun Melengkung

Konsentrasi 2,4-D	Konsentrasi BAP		
	B1	B2	B3
P1	2,67 a	2,33 a	5,00 abc
P2	3,33 ab	4,67 abc	3,67 abc
P3	5,67 bc	6,00 bc	4,33 abc
P4	6,00 bc	6,67 c	3,00 ab

Keterangan :P = 2,4D; B = BAP; P1= 0,5mg/l; P2=1mg/l; P3=1,5mg/l; P4=2mg/l; B1= 0,5mg/l; B2=1mg/l; B3=1,5mg/l

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata hari daun melengkung tercepat pada perlakuan P1B2 yaitu pada penambahan konsentrasi 0,5 mg/L 2,4D dan 1 mg/L BAP yaitu 2,33 hari. Hal tersebut disebabkan karena adanya penambahan auksin 2,4-D yang dapat memicu pertumbuhan dan proliferasi kalus embriogenik pada eksplan. Selain itu, konsentrasi 2,4-D yang digunakan, mengakibatkan semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman akibat adanya luka irisan sehingga 2,4-D yang ditambahkan akan membantu auksin endogen untuk merangsang pembelahan sel terutama sel disekitar area luka.

Menurut Lizawati (2012) bahwa kebutuhan eksplan terhadap zat pengatur tumbuh 2,4-D untuk menginduksi kalus cukup rendah, sehingga pada konsentrasi 1 mg/l, sudah cukup untuk menginduksi kalus. Salisbury dan Ross (1995) menambahkan bahwa induksi akan meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sampai mencapai titik optimum.

Hari Muncul Kalus

Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*Stevia rebaudiana*) secara in vitro terhadap parameter hari muncul kalus, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Purata Hasil Analisis Pengaruh BAP terhadap Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Secara In Vitro pada Parameter Hari Muncul Kalus

Perlakuan	Purata
B1	6,50 a
B2	10,33 b
B3	6,75 ab

Keterangan :P = 2,4D; B = BAP; P1= 0,5mg/l; P2=1mg/l; P3=1,5mg/l; P4=2mg/l; B1= 0,5mg/l; B2=1mg/l; B3=1,5mg/l

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 0,5 mg/L dengan BAP 0,5 mg/L menghasilkan hari muncul kalus dengan waktu tercepat yaitu 5,67 HSI (hari setelah inokulasi), dan juga untuk perlakuan dengan penambahan 2,4-D 0,5 mg/L yang dikombinasikan dengan BAP 1 mg/L. Pada perlakuan 2,4-D 2 mg/L dengan BAP 1,5 mg/L juga menghasilkan hari muncul kalus dengan waktu tercepat yaitu 5,67 hari. Hal ini disebabkan karena pengaruh

interaksi yang nyata ditunjukkan antara konsentrasi 2,4-D dengan konsentrasi BAP terhadap persentase eksplan yang mampu membentuk kalus embriogenik.

Yelnitis (2012), mengatakan bahwa pembentukan kalus dari eksplan daun ramin membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, induksi kalus semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman akibat adanya luka irisan sehingga 2,4-D yang ditambahkan akan membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel terutama sel disekitar area luka.

Menurut Lizawati (2012), fungsi sitokinin meliputi mengatur pembentukan bunga dan buah, menghambat proses penuaan dengan cara merangsang proses serta transportasi garam-garam mineral dan asam amino ke daun, sitokinin diperlukan bagi pembentukan organel-organel semacam kloroplas dan mungkin berperan dalam perbungaan, dan merangsang sintesis protein dan RNA untuk mensintesis substansi lain

Pada tanaman monokotil membutuhkan auksin berkisar 2 ppm-5 ppm (Yuanti, 2004). Pemberian hormon eksogen akan menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein dan permeabilitas sel terhadap air, serta melunakkan dinding sel yang diikuti dengan menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel dan sel akan membesar dan memanjang (Sitinjak *et. al.*, 2006).

Berat

Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia (*Stevia rebaudiana*) secara in vitro terhadap parameter berat, dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Purata Hasil Analisis Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Secara In Vitro pada Parameter Berat

Konsentrasi 2,4-D	Konsentrasi BAP		
	B1	B2	B3
P1	0.45	0.29	0.27
P2	0.46	0.27	0.28
P3	0.22	0.22	0.08
P4	0.10	0.31	0.08

Keterangan :P = 2,4D; B = BAP; P1 = 0,5mg/l; P2=1mg/l; P3=1,5mg/l; P4=2mg/l; B1= 0,5mg/l; B2=1mg/l; B3=1,5mg/l

Berdasarkan Tabel 4 menunjukan bahwa minimnya bobot segar kalus yang terbentuk pada rata-rata perlakuan lebih banyak disebabkan karena eksplan hanya menghasilkan kalus berupa lendir dan berair yang belum berkembang serta akibat eksplan browning. Eksplan yang mengalami mati fisiologis dan browning mengakibatkan kematian jaringan sehingga tidak mampu memproduksi kalus. Lizawati (2012), mengatakan bahwa peristiwa browning pada kalus akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan. Hal ini merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan dan juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol dalam botol kultur.

Menurut Mahadi et al (2016) perbedaan dalam hasil pertumbuhan juga di pengaruhi oleh faktor genetis, jenis tumbuhan, lingkungan dan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dalam media kultur. Kartikasari (2013) juga menambahkan berat basah yang dihasilkan tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Sitorus et al (2011) menyatakan bahwa pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal dan akan meningkatkan berat basah kalus. Hubungan sebab-akibat antara konsentrasi 2,4-D dan uji variabel dapat diketahui dengan melakukan analisis korelasi pada masing-masing variabel.

Warna dan Tekstur

Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap induksi kalus daun stevia secara in vitro terhadap parameter warna, dapat dilihat Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh 2,4-D. dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Stevia Secara In Vitro terhadap Parameter Warna

Konsentrasi 2,4-D	Konsentrasi BAP		
	B1	B2	B3
P1	Kehijauan	Kehijauan	Kehijauan
P2	Kuning	Kehijauan	Kuningan kehijauan
P3	Kuning	Kecoklatan	Kecoklatan
P4	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan

Keterangan : P = 2,4D; B = BAP; P1= 0,5mg/l; P2=1mg/l; P3=1,5mg/l; P4=2mg/l; B1= 0,5mg/l; B2=1mg/l; B3=1,5mg/l

Berdasarkan pengamatan warna kalus didapatkan hasil warna kuningan kehijauan, kehijauan, kecoklatan, dan kuning kecoklatan. Kalus yang berwarna kecoklatan juga dapat dikatakan efektif karena pada kalus metabolit warna kecoklatan merupakan suatu indikator. Berdasarkan Tabel 5 menunjukan bahwa perlakuan dengan 2,4-D 0.5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg/l yang dikombinasikan dengan BAP konsentrasi 0,5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg/l cenderung menghasilkan warna kuning kecoklatan. Hal ini seperti pernyataan Fadhillah (2014) Konsentrasi auksin yang semakin tinggi dan sitokinin yang rendah menyebabkan kalus mengalami reduksi klorofil dan warna menjadi lebih kuning atau kecoklatan.

Hasil penelitian menunjukkan juga bahwa terdapat perbedaan warna kalus pada media induksi kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP. Lutviana (2012) menyatakan bahwa jaringan yang dihasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna kalus yang berbeda. Warna terang atau putih dapat mengindikasikan bahwa kondisi kalus masih cukup baik (Hendaryono dan Wijayani, 1994), sedangkan kalus yang berwarna kuning hingga coklat merupakan kalus yang mengalami proses penuaan.

Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Jaringan yang di hasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda (Lutviana, 2012). Perbedaan warna kalus dapat disebabkan beberapa hal diantaranya yaitu pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian 2,4-D yang cukup tinggi mampu mengurangi penggunaan BAP pada media dan menghasilkan induksi dan proliferasi kalus yang optimal. Perlakuan 2,4-D 2 mg/L dengan BAP 0,5 mg/L BAP mampu menghasilkan kalus yang baik, banyak, inisiasi yang cepat dan efisien (optimal). Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan kondisi gelap, khususnya pada penelitian induksi kalus tanaman stevia. Perlu ditambahkan konsentrasi ZPT yang berbeda untuk mencari titik kritis pada induksi kalus tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

REFERENSI

- Busaifi, R. dan Hirjani.(2018). Induksi KAlus Embriogenik Tanaman Tebu (*Sacharum officinarum* L) Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara In Vitro. Jurnal Agrosains Volume 5(2).
- Fadilah, N. (2013). Induksi Kalus dari Eksplan Daun Gandarusa (*Justicia genderussa* F.) dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh NAA, IAA, dan BAP. *Skripsi Tidak Diterbitkan*, Surabaya: Universitas Airlangga.
- Geuns, J.M.C. (2003). Stevioside Phytochemistry 64: . 913 – 921.
- Hendaryono, D.P.S & A. Wijayani. (1994). *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Janarthanam, B. (2010). Secondary Metabolite Production In Callus Cultures of Stevia Rebaudiana Bertoni. Bangladesh J. Sci. Ind. Res, 45 (3): 243-248
- Kartikasari, Peni *et. al.*(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*. Vol. 2 No. 1
- Lemus-Mondaca, R., A. Vega-Gálvez., L. Zura Bravo., K. Ah-Hen. (2012). Stevia rebaudiana Bertoni Source of a High Potency Natural Sweetener, a Comprehensive review on the Biochemical Nutritional and Functional Aspects. *Food Chemistry* 132.
- Lizawati. (2012). Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Menara Perkebunan FP Universitas Jambi* 1(2): 75-87.
- Lutviana A., Y.S.W. Manuhara dan E.S Wida. (2012). *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (Helianthus annus L.)*. Surabaya . Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- 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
- Salisbury & Ross, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: ITB Bandung.
- Sitinjak, R.R., O. Rostiana, Karyono dan T. Supriatun. (2006). Pengaruh 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). 8 (2) : 115-120.
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. (2011). Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) secara *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*. 13 (1).
- Syahid dan Natalini. (2007). Induksi dan Regenerasi Kalus Keladi Tikus (*Typonium flagelliforme*. Lodd)

Secara In Vitro. *Jurnal Littri*. 13(4) : 142-146

Yelnitis dan T.E. Komar. (2010). Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin. *Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project dan PPPKA Badan Litbang Kehutanan*. Bogor.

Yuanti, A.M. (2004). Studi Kombinasi Macam Auksin dan Benzyladenin Pada Tanaman Kunyit Dan Temulawak. Badan Litbang Pertanian. *Balittro-Bogor* 9 (2) : 12-17.