

**Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus
Pada Ginseng Jawa
(*Talinum paniculatum*, Gaertn.)**

Skripsi



**Karen Natasha Herman
31150038**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2019**

**Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus
Pada Ginseng Jawa
(*Talinum paniculatum*, Gaertn.)**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**Karen Natasha Herman
31150038**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus Pada Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*
Gaertn.)

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

KAREN NATASHA HERMAN

31150038

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 23 September 2019

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr.
(Ketua Tim Penguji)
2. Ratih Restiani, M.Biotech
(Dosen Pembimbing I/Penguji)
3. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si
(Dosen Pembimbing II/Penguji)



Yogyakarta, 23 September 2019

Disahkan Oleh:

Dekan,


Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,


Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si

**LEMBAR PENGESAHAN NASKAH
SKRIPSI**

Judul : Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus Pada
Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*
Gaertn.)
Nama Mahasiswa : Karen Natasha Herman
Nomor Induk Mahasiswa : 31150038
Hari/Tanggal Ujian : Senin/ 23 September 2019

Disetujui oleh :

Pembimbing 1,



(Ratih Restiani, S.Si., M. Biotech)
NIK : 174 E 449

Pembimbing 2,



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)
NIK : 884 E 075

Ketua Program Studi Biologi



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si
NIK : 884 E 075

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : **KAREN NATASHA HERMAN**

NIM : **31150038**

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus Pada Ginseng Jawa
(*Talinum paniculatum* Gaertn.)”**

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 23 September 2019



Karen Natasha Herman

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan senantiasa anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan proses penyusunan skripsi dengan judul **“Optimasi Sterilisasi dan Induksi Kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.)”** yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. Dalam penyusunan Skripsi ini tentu tidak lepas dari peran, kerja sama, bimbingan, motivasi dan bantuan semua pihak. Oleh karena itu dengan kerendahan hati, penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat, hikmat, dan kebijaksanaan yang diberikan kepada penulis.
2. Papi Herman dan Mami Siska serta seluruh keluarga penulis yang memberikan doa, dukungan baik dalam materi maupun motivasi untuk dapat melaksanakan
3. Ratih Restiani, M. Biotech, selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingan, motivasi dan pengarahan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si., sebagai Dosen Pembimbing kedua yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
5. Drs. Kisworo, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi dan Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.
6. Segenap pengurus Laboratorium Bioteknologi UKDW atas bantuannya.
7. Dhira Puttajaya, Eka Kurniati, Anggita Arvinandita, Adelia G, Maria H.O, Bella Palma W.S sebagai teman yang selalu setia menemani, memberi bantuan, dukungan, waktu, dan semangat selama menyelesaikan skripsi ini.
8. Tamariska dan Hulda Natasya serta seluruh teman-teman Bioteknologi angkatan 2015 untuk kebersamaan, dukungan, bantuan serta masukan dalam proses pengerjaan skripsi.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari masih adanya kekurangan dalam penulisan skripsi ini mengingat keterbatasan kemampuan dan pengalaman yang dimiliki. Apabila terdapat kesalahan pada penulisan atau penggunaan kata dan kalimat penulis mohon maaf yang sebesar-besarnya. Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, 23 September 2019

DAFTAR ISI

JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Morfologi <i>T. paniculatum</i>	5
2.1.1 Kandungan senyawa bioaktif <i>T. paniculatum</i>	7
2.2 Kultur <i>in vitro</i>	7
2.2.1 Sterilisasi.....	8
2.2.2 Kontaminasi.....	10
2.2.3 Media kultur <i>in vitro</i>	10
2.2.4 Zat Pengatur Tumbuh.....	11
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.2 Alat dan Bahan.....	14
3.2.1 Alat Penelitian.....	14
3.2.2 Bahan Penelitian.....	14
3.3 Desain Penelitian.....	14
3.4 Pembuatan Medium MS.....	15
3.5 Sterilisasi.....	16
3.6 Inokulasi.....	17
3.7 Pengamatan.....	17
3.8 Pengumpulan Data.....	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Hasil.....	18
4.1.1 Pengaruh jenis, konsentrasi dan waktu perendaman sterilisasi terhadap persentase eksplan yang hidup dan terkontaminasi.....	18
4.1.2 Pengaruh konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D dan Kinetin terhadap pertumbuhan kalus.....	23

4.1.3	Warna dan Tekstur Kalus.....	24
4.2	Pembahasan.....	25
4.2.1	Pengaruh jenis, konsentrasi dan waktu perendaman sterilisasi terhadap persentase eksplan yang hidup dan terkontaminasi.....	25
4.2.2	Pengaruh konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D dan Kinetin terhadap pertumbuhan kalus.....	27
4.2.3	Warna dan Tekstur Kalus.....	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		35
DAFTAR PUSTAKA.....		36
LAMPIRAN.....		42

© UKDW

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
3.1	Kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh pada eksplan daun <i>T. paniculatum</i>	15
3.2	Kombinasi Sterilisasi di dalam LAF	16
4.1	Waktu munculnya kontaminasi/nekrosis, persentase eksplan yang terkontaminasi, persentase nekrosis dan persentase eksplan yang hidup	21
4.2	Persentase kontaminasi setelah dilakukan inokulasi eksplan daun <i>T. paniculatum</i>	22
4.3	Kombinasi konsentrasi, waktu munculnya kalus, dan persentase eksplan yang membentuk kalus	23
4.4	Deskripsi morfologi kalus	25

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tanaman <i>Talinum paniculatum</i> Gaertn.	6
4.1	Eksplan daun <i>Talinum paniculatum</i> Gaertn. yang mengalami nekrosis	20
4.2	Jamur yang tumbuh di sekitar permukaan eksplan setelah satu minggu pengamatan	20
4.3	Pertumbuhan akar pada media perlakuan kontrol	24
4.4	A: Kalus yang terbentuk pada perlakuan Kinetin 2,5 ppm; B: Eksplan daun <i>Talinum paniculatum</i> Gaertn. yang melengkung pada perlakuan Kinetin 0,5 ppm	31
4.5	Pertumbuhan kalus dari perlakuan 2,4-D 0,5 ppm & kinetin 5 ppm (a), 2,4-D 1 ppm & kinetin 4 ppm (b), 2,4-D 2 ppm & kinetin 3 ppm (c), 2,4-D 4 ppm & kinetin 1 ppm (d), kinetin 0,5 ppm (e), kinetin 1 ppm (f), kinetin 2 ppm (g), kinetin 2,5 ppm (h) kinetin 3 ppm (i), kinetin 3,5 (j) dan kinetin 4 ppm (k)	33
4.6	Perkembangan eksplan daun menjadi kalus. (1) pengamatan eksplan daun pada hari ke-7, daun mulai membengkak, (2) Kalus mulai terbentuk di bagian tepi daun (pengamatan hari ke-13) (3) Kalus sudah terlihat jelas (pengamatan hari ke 17), (4) Kalus mulai membesar (pengamatan hari ke-20) dan (5) Kalus terbentuk sempurna (pengamatan hari ke-28)	34

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki iklim tropis. Curah hujan yang cukup banyak yaitu sekitar 700 sampai 7000 mm/ tahun serta temperatur yang cukup tinggi yaitu 26⁰C – 28⁰C merupakan ciri-ciri dari daerah yang memiliki iklim tropis. Tanah yang berada di daerah beriklim tropis bersifat subur sehingga banyak jenis tumbuhan yang dapat bertumbuh (Zaky dan Kusuma, 2005). Di Indonesia banyak terdapat kekayaan keanekaragaman hayati yaitu sekitar 30.000 spesies tanaman dimana 9.600 spesies di antaranya digunakan sebagai tanaman obat. (Hidayat, 2012)

Salah satu tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat adalah tumbuhan ginseng Jawa (*T. paniculatum* Gaertn). Tumbuhan ginseng jawa (*T. paniculatum*) diketahui memiliki khasiat yang sama seperti ginseng Korea dan Cina. Bentuk dan susunan bagian tumbuhan *T.paniculatum* menunjukkan persamaan dengan tumbuhan *Panax ginseng* khususnya pada bagian akar sehingga masyarakat berasumsi bahwa *T.paniculatum* dan *Panax ginseng* memiliki khasiat yang sama (Heyne, 1987). Khasiat yang terkenal dari *Panax ginseng* salah satunya adalah sebagai tonikum yaitu untuk menguatkan badan serta untuk merangsang selera makan (Ramli dan Pamoentjak, 2000). Khasiat tonikum juga dapat ditemukan pada akar dari *T. paniculatum*. (Widowati *et al*,2002). Akar dari *T. paniculatum* juga memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berkhasiat untuk mengurangi bahkan menghilangkan berbagai penyakit seperti sulit tidur dan jantung (Rubatzky, 1998). Di Indonesia, tumbuhan *T. paniculatum* digunakan sebagai pengganti dari *Panax ginseng* karena harganya yang relatif lebih murah, mudah didapat serta tidak sulit untuk dibudidayakan (Widiyani, 2006).

Selama ini, usaha untuk membudidayakan tumbuhan *T. paniculatum* sudah dilakukan dengan berbagai cara, yaitu seperti menggunakan biji, stek batang maupun umbinya tetapi masing-masing cara tersebut memiliki kendala. Biji yang ditumbuhkan sangat tergantung oleh faktor internal dari biji itu sendiri (faktor fisik dan biologi). Selain itu membudidayakan tumbuhan *T. paniculatum* dengan stek batang membutuhkan media pasir untuk mempercepat tumbuhnya akar dimana media pasir mengandung zat hara yang sangat kurang yang menyebabkan akar akan sulit bertumbuh dan tidak optimum, sedangkan budidaya *T. paniculatum* dengan menggunakan umbi membutuhkan waktu yang cukup lama (Hidayat, 2005). Oleh karena itu, dibutuhkan usaha lain untuk dapat membudidayakan *T. paniculatum* dengan tepat dan optimal. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan kultur *in vitro*. Metode kultur *in vitro* memiliki banyak manfaat salah satunya dapat memproduksi metabolit sekunder dengan lebih banyak. Kelebihan penggunaan kultur *in vitro* dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder adalah dapat diproduksi secara kontinyu dengan keadaan yang dapat dikontrol (Collin & Edward, 1998). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kee-Hwa Bae *et al* (2006) menyatakan bahwa produktivitas senyawa metabolit sekunder ginsenosida melalui kultur akar adventif pada *Panax ginseng* dengan menggunakan 50 μ M ethephon meningkat sebesar 1,7 mg.

Faktor penting dalam menentukan keberhasilan kultur *in vitro* adalah sterilisasi eksplan dan pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT). Sterilisasi merupakan penghancuran atau pemusnahan terhadap semua kontaminasi mikroba yang mungkin muncul pada kultur *in vitro*. Kontaminasi mikrobia yang biasa tumbuh di dalam kultur *in vitro* adalah seperti bakteri, virus, khamir dan jamur. Kontaminasi mikrobia ini juga dapat mempengaruhi kematian jaringan atau yang biasa disebut *nekrosis* dan menghambat pertumbuhan tunas maupun akar eksplan (Kane, 2003). Mengingat kondisi steril adalah salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dari kultur *in vitro* maka pemilihan metode sterilisasi yang tepat sangat penting untuk dioptimasi. Hal lain yang perlu diperhatikan juga dalam sterilisasi adalah

mengkombinasikan antara eksplan yang steril dan menjaga agar jaringan dari eksplan tidak rusak akibat dari konsentrasi bahan sterilisasi yang digunakan (Pancaningtyas, 2011). Bahan sterilisasi yang biasa digunakan adalah seperti natrium hipoklorit, alkohol, bakterisida, dan fungisida (Purwanto AW, 2008). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Habibah *et al*, (2013) menyatakan bahwa penggunaan fungisida selama 24 jam kemudian dilakukan perendaman bakterisida dan fungisida dengan durasi waktu 30 menit, perendaman pada alkohol 70% dengan durasi waktu 1 menit, dilanjutkan dengan klorox 15% selama 10 menit, dan klorox 10% selama 10 menit efektif dalam menghilangkan jamur endofit yang ada pada permukaan eksplan daun burahol.

Selain dari teknik sterilisasi, pemberian zat pengatur tumbuh juga mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh pada tumbuhan berfungsi untuk mengatur proses biologi dalam jaringan tanaman (Davies, 1995; Gaba, 2005). Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah golongan dan sitokinin. Salah satu zat pengatur tumbuh auksin yang sering digunakan adalah 2,4-D yaitu untuk menginduksi pembelahan sel atau menginduksi kalus (Wetter dan Constabel, 1991), sedangkan sitokinin yang sering digunakan adalah kinetin yaitu untuk memacu faktor multiplikasi tunas (Pierik, 1987). Menurut Flick *et al*, 1993, kombinasi zat pengatur tumbuh golongan auksin dan sitokinin dapat memicu morfogenesis dalam pembentukan tunas. Selain itu, Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa pemberian auksin dan sitokinin mempengaruhi pembelahan, pemanjangan, dan diferensiasi sel serta pembentukan organ tanaman di dalam kultur *in vitro*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Indriani (2013) diketahui bahwa variasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin berpengaruh terhadap berat segar dan berat kering kalus dari tanaman sambung nyawa. Variasi 2,4-D dan kinetin yang optimal untuk berat segar kalus adalah 2,4-D 0,5 mg/L dan kinetin 0,5 mg/L dengan rerata berat segar yaitu 0,4749 g serta variasi 2,4-D dan kinetin yang optimal untuk berat kering kalus adalah 2,4-D 2 mg/L dan kinetin 1 mg/L dengan rerata berat kering

yaitu 0,024 g. Kombinasi auksin dan sitokinin yang perlu ditambahkan ke dalam kultur tergantung pada kandungan auksin dan sitokinin endogen pada eksplan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian ini untuk mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh yang optimal dalam menginduksi kalus.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah jenis, konsentrasi dan waktu bahan sterilisasi yang optimal dalam menekan kontaminasi pada eksplan daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum*)?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang optimal dalam menginduksi kalus?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui jenis, konsentrasi dan waktu yang optimal dalam menekan kontaminasi pada eksplan daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum*).
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-D dan Kinetin yang optimal dalam menginduksi kalus.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- 5.1.1. Jenis, konsentrasi dan waktu bahan sterilisasi yang optimal dalam menekan kontaminasi pada eksplan daun ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*) berturut-turut adalah menggunakan bahan sterilisasi tunggal alkohol dengan konsentrasi 50% selama 1 dan 5 menit.
- 5.1.2. Konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang optimal dalam menginduksi kalus adalah zat pengatur tumbuh golongan kinetin dengan konsentrasi 2,5 ppm karena menghasilkan pertumbuhan kalus sebesar 100% dan menghasilkan warna dan tekstur yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya. Warna kalus yang baik adalah kalus yang berwarna hijau dan tekstur kalus yang baik adalah kalus yang bertekstur remah (*friable*).

5.2 Saran

- 5.2.1. Dapat dilakukannya rancangan penelitian pada perlakuan sterilisasi menggunakan Rancangan Acak Lengkap satu Faktor
- 5.2.2. Dapat dilakukan rancangan penelitian pada perlakuan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) menggunakan analisis interaksi dua faktor antara hormon 2,4-D dan Kinetin
- 5.2.3. Dilakukan uji korelasi regresi untuk mengetahui interaksi antara Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dan bahan sterilisasi

DAFTAR PUSTAKA

- Aarifa Jan, K. M. Bhat, Bhat, S. J. A., M. A. Mir, M. A. Bhat, Imtiyaz A, Wani and J. A. Rather. 2013. Surface sterilization method for reducing microbial contamination of field grown strawberry explants intended for in vitro culture. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 12(39)
- Abbas, B. (2011). *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Bandung: Alfabeta.
- Adji, Dhirgo. Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah, Otoklaf, dan Ozon terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Sain Veteriner*.
- Ali, Gowher et al. 2007. Callus Induction and in vitro Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (*Nicotiana TabaccumL.*) on media of Different Hormonal Concentration. *Biotechnology* 6 (4) : 561-566. ISSN Asian Network for Scientific Information
- Amasino, R. 2005. Kinetin Arrives. The 50th Anniversary of a New Plant Hormone.
- Antony T, Anees PVM, Kumar V, Sangamithra D, Philip T, Santhoshkumar AV (2015) Application of mercuric chloride and charcoal in micro-propagation of teak (*Tectona grandis*). *Indian J Trop Biodiv* 23:157-166
- Arianti, A. M. 2015. Pengaruh Berbagai Konsentrasi PEG (Polyethylen Glykol) 6000 Terhadap Kualitas dan Kuantitas Kalus Serta Uji Kualitatif Metabolit Sekunder Vernodalin Pada Kalus Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*). Skripsi: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim :Malang
- Beyl, C.A. 2000. Getting started with tissue culture, media preparation, sterile technique and laboratory equipment, p. 21-38. In R. N. Trigiano and D. J. Gray (Eds.). *Plant Tissue Culture Concept and Laboratory Exercise*. Second Edition. CRC Press. New York.
- Bhojwani, S.S. and M. K. Razdan. 1983. *Plant tissue Culture. Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. 502 p.
- Campbell, N. A. & Reece, J.B., 2014. *Biologi Jilid 2*. Edisi 8 penyunt. Jakarta: Erlangga
- Campbell. N.A, Reece. J.B, and Mitchell. L.W. 2013. *Biologi*. Alih Bahasa: Wasmen Manalu. Erlangga: Jakarta
- Carroll, K.C., Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A., dan Mietzner, T.A. 2001. *Jawetz, Melnic & Adelberg's Medical Microbiology*. McGraw-Hill, New York.
- Collin, H. A. & S. Edward. 1998. *Plant Cell Culture*. UK: BIOS Scientific Publisher. Pp. 103-1121.
- Danguole, Kamstaityte and Stanys Vidmantas. 2004. Micropropagation of onion (*Allium cepa L.*) *Acta Universitatis Latviensis, Biology*. Vol. 676, Hal: 173-176.

- Daud NH, Jayaraman S dan Mohamed R (2012) Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Aspac J Mol Biol Biotechnol* 20:55-58
- Davies, P.J. 1995. The plant hormone their nature, occurrence and function. In Davies (ed.) *Plant Hormone and Their Role in Plant Growth Development*. Dordrecht Martinus Nijhoff Publisher.
- Dewi Sartika., Djoko Santosa. 2012. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (2,4-D dan Kinetin) Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Kalus *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Dixon, R.A. 1985. *Plant cell Culture A Practical Approach*. Washington DC: Department of Biochemistry, Royal Holloway College. IRL Press Oxford.
- Dwiyani R, Fitroh A.I, I Ketut A.W, Yuswanti H.2018. Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Daun Stoberi (*Fragaria sp.*) dengan Media Alternatif Nutrisi Hidroponik AB Mix. E-jurnal Agroekoteknologi Tropika : Vol. 7 No 3.
- Effendy, 2008, Teori VSEPR, kepadatan dan gaya antar molekul, Malang, Bayu Media Publishing
- Fauzy, E., Mansyur., Husni, A. 2016. Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna dan Berat Kalus Rumput
- Flick, C.E., D.A. Evans, and W.R. Sharp. 1993. Organogenesis. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amirato, and T. Yamada (eds.) *Handbook of Plant Cell Culture* Collier Macmillan. Publisher London. p. 13-81.
- Gaba, V.P. 2005. Plant Growth Regulator. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) *Plant Tissue Culture and Development*. CRC Press. London. p. 87-100.
- Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma Pada Dosis LD50 (in Vitro). Universitas Padjajaran.
- Gati, E dan I. Mariska. 1992. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap kalus *Mentha piperita* Linn. *Buletin Litri* 3: 1-4.
- George, Edwin F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition*. Exegetic Limited : England
- Gunawan, L. N. 19. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: PAN ITB
- Habibah N.A, Sumardi, dan Ambar Sri. 2013. Optimasi Sterilisasi Permukaan Daun dan Eliminasi Endofit pada Burahol. *Biosaintifika* 5(2)
- Hargono, D. et al. 1996. *Sediaan Galenik*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Edisi Ketiga: Penebar Swadaya. Jakarta
- Harmanto. 2007. *Herbal untuk keluarga*. Penerbit: PT Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Hendaryono dan wijayanti. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalandan petunjuk Perbanyakkan Tanaman secara Vegetatif Modern*. Yogyakarta: kanisius.

- Hendriyani, I.S. dan N. Setiari. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *J. Sains & Mat.* 17(3): 145-150
- Heyne K, 1987, Tumbuhan berguna Indonesia II. Badan Litbang Kehutanan. Jakarta
- Hidayat, S, 2008. Ginseng Multivitamin Alami Berkhasiat. Penebar Swadaya, Bogor.
- Hidayat dan Hardiansyah, G. (2012). Studi Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat di Kawasan IUPHHK PT. Sari Bumi Kusuma Camp Tontang Kabupaten Sintang. *Jurnal Vokasi.* 8 (2): 61-68.
- Indriani M.D, Manuhara S.W, Utami E.S. 2016. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D, Kinetin Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens Merr.*). Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Indriani M.D. Y. Sri Wulan Manuhara, dan Edy Setiti Wida Utami.2013. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D, Kinetin dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Ekstrak Daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens merr.*). Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Jan A *et al.* 2013. Surface Sterilization Method for Reducing Microbial Contamination of Field Grown Strawberry Explants Intended for *in vitro* Culture. *African Journal of Biotechnology.* Vol 12(39)
- Kane, M. (2003). Bacterial and Fungal Indexing of Tissue Cultures. Microbial Contaminants of Cultured Hibiscus Cannabinus and Telfaria Occidentalis Tissues. *African Journal Of Biotechnology.* Page 473–476.
- Katuuk, J.R.P., 1989. *Teknik Kultur Jaringan Dalam Mikropropagasi Tanaman.* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan. Jakarta. Hlm:3,37-62, 90-109.
- Kee-Hwa Bae, Yong-Eui Choi, Cha-Gyn Shin, Yoon-Young Kim, and Yun-Soo Kim. Enhanced ginsenoside productivity by combination of ethephon and methyl jasmoante in ginseng (*Panax ginseng C.A. Meyer*) adventitious root cultures. *Biotechnol Lett* (2006) 28:1163–1166
- Kieber, Joseph J. 2002. The Arabidopsis Book: Cytokinins. American Society of Plant Biologists. University of North Carolina: Carolina
- Kresnawati, E. 2006. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh NAA Dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Dari Daun Nilam (*Pogostemon cablin Beth*). Skripsi: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kumar, GR., Reddy, CRK., Jha, B., 2007. Callus Induction and Thallus Regeneration from Callus of Phycocolloid Yielding Seaweeds from the Indian Coast. *J Appl Phycol.* 19:15-25.
- Lina, F.R., Ratnasari E., Wahyono, R. 2013. Pengaruh 6-benzylamino purine (BAP) dan 6-furfuryl amino purine (Kinetin) pada Media MS terhadap Pertumbuhan Eksplan Ujung Apikal Tanaman Jati secara In Vitro. *LenteraBio Berkala Ilmiah Biologi* (Online),

- (<http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>) diakses pada 25 Agustus 2019
- Martiansyah, I. 2010. Pengadaan bahan tanam karet untuk seleksi batang bawah dan Teknik *in vitro* microcutting pada tanaman karet. Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. Bogor
- Muswita. 2008. Respons Pertumbuhan Kotiledon Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Pertambahan IAA dan Kinetin pada Medium MS. *Jurnal Biospecies* Volume 1 No. 2, Halaman 55-58.
- Oyebanji OB, Nweke O, Odebunmi O, Galadima NB, Idris MS, Nnodi UN, Afolabi AS, Ogbadu GH (2009) Simple, effective and economical explantsurface sterilization protocol for cowpea, rice and sorghum seeds. *Afr J Biotechnol* 8:5395-5399
- Pancaningtyas, Sulistyani dan Cahya Ismayadi. 2011. Sterilisasi pada Perbanyak Somatic Embryogenesis Kakao (*Theobroma cacao* L.) untuk Penyelamatan Embrio Terkontaminasi. *Pelita Perkebunan*. Hlm. 1-10.
- Pasquolletto PL. 1990. Vitrification in Plant Tissue Culture. In Rodriguez *et al.* (Eds) *Plant Aging* vol. 186, pp 133-137.
- Pierik, R.I. 1987. *In vitro* Culture of Higher Plants. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers
- Poerba Y.S. 2004. Penampilan Genotipe *T. paniculatum* Jacq (Gaertn) pada Generasi M2. *Berita Biologi*: Bogor
- Prakash, S., M.I. Hoque, and T. Brinks. 2004. Culture Media and Containers. *Proceedings of a Technical Meeting. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture*. Viena. p 29-40.
- Purwanto AW (2008). *Sansievera flora cantik penyerap racun*. Kanisius, Yogyakarta.
- Rahardja, P. C., dan Wahyu, W. 2003. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Rindang D. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bali: Palawa Sari
- Rahmawati, Siti Melly. 2008. Pengaruh BAP dan GA3 terhadap Perkecambahan *Heliconia caribea* Lam. Secara *in Vitro*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Ramli, A. dan Pamoentjak. 1997. *Kamus Kedokteran*. Penerbit Djambatan, Jakarta.
- Rindang Dwiyani. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bali: Palawa Sari
- Riska, Apriska. Induksi Kalus Embriogenik Dua Genotipe Mutan Jagung (*Zea mays* L.) Pada Media Dasar MS dan N6. Skripsi. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 2012
- Rubatzky, V.E., dan Ma Yamaguchi. 1998. *Prinsip, Produksi dan Gizi* Jilid II. ITB :Bandung
- Ryugo, K. 1988. *Fruit Culture*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Sahrawat, AK & Chand, S 2001, 'Continuous somatic embryogenesis and plant regeneration of hypocotyls segments of *Psoralea corylifolia* Lin. An endangered and medicinally important fabaceae plant', *Current Science*, vol. 81 no.10, pp.1328-31.

- Santoso J, Nursandi, 2004. Perbanyak tanaman kina *Cinchona ledgeriana* Moens. dan *C. succirubra* Pavon melalui penggandaan tunas aksiler
- Setiani N.A, Nurwinda F, Astriany D.2018. Pengaruh Desinfektan dan Lama Perendaman pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. F.A Zorn) Fosberg). *Biotropika: Journal of Tropical Biology* | Vol. 6 No. 3
- Setianingrum, Andaryani. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas*L.) Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 2010
- Simpson. M. G. 2006. *Plant systematic*, Elsevier Academic Press Publication. London.
- Skoog, F. and Miller, C.O. 1997. Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured In Vitro. *Journal Biotechnology*. 11 (2):118-131
- Staba, E.J. 1988. *Plant Tissue Culture as Source of Biochemical*. Florida: CRC Press Inc. Boca Raton.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius
- Syahid, S. F dan Hernani. 2001. Pengaruh Komposisi Media terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kadar Tannin dari Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) secara Kultur In Vitro. *Jurnal Littri*, 16 (1) : 1-5.
- Tajuddin T, Karyanti, Sukarnih T, Haska N (2014) A revised method for sucker sterilization to support the in vitro propagation of sago palm (*Metroxylon sago* Rottb.). *J Bioteknologi Biosains Indones* 1:21-26
- Titov S, Bhowmik SK, Mandal A, Alam MdS& Uddin SN. 2006. Control of phenolic compound secretion and effect of growth regulators for organ formation from *Musa* spp. cv. Kanthali fl oral bud explant. *Am.J. Biochem. & Biotechnol.* 2 (3): 97-104.
- Tsuro, M et al. 1998. Comparative Effect of Different Types of Cytokinin for Shoot Formation and Plant Regeneration in Leaf-derived Callus of lavender. (*Lavandula vera* DC). Laboratory of Plant Breeding Science, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Shimogamo-Hangi Sakyo-ku, Kyoto 606-8522 : Japan
- Tukawa, N.D, Ratnasari E, Wahyono R. Efektivitas 6-furfuryl amino purine (Kinetin) dan 6-benzylamino purine (BAP) pada Media MS terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk Mahoni (*Swietenia mahagoni*) secara In Vitro. 2013 *LenteraBio Berkala Ilmiah Biologi*. (Online) (<http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>) Diakses pada 25 Agustus 2019.
- Uno, R., Storey, dan Moore, 2001. *Principle Of Botany*. Mc.Graw-Hill Companies. USA.
- Wattimena GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Volume ke-1. Bogor: Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Wattimena, G. A. 2001. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. IPB, Bogor
- Werner, Thomas dan Schmulling, Thomas. 2009. Cytokinin Action in Plant Development. *Current Opinion in Plant Biology* 2009, 12 : 527

- Wetter, L. R., and Constable, F.(1991).Metode Kultur Jaringan Tanaman.(diterjemahkan oleh Mathilda B Widiyanto). Edisi Kedua,.ITB, Bandung.
- Widiyani T. 2006. Efek antifertilitas ekstrak akar som jawa (*T. paniculatum gaertn.*) pada mencit (*Mus musculus L.*) jantan. Jurnal Kesehatan. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Widowati, S., Suismono., Suarni., Sutrisno., dan Komalasari, O. 2002. Petunjuk Teknis Proses Pembuatan Aneka Tepung dari Bahan Pangan Sumber Karbohidrat Local. Balai Penelitian Pasca Panen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Widyawati, Geningsih. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar.Tesis: Universitas Sebelah Maret. Surakarta.
- Willmann, D.E., Nield-Gehrig, J.S.1995. Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist; Lippincott Williams & Wilkins.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus*(Miq) Kurz). Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan Vol 6: 181-194.
- Yunus. 2007. Pengaruh IAA dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Eksplan Bawang merah (*Allium ascalonicum*) secara In vitro. Jakarta: AgroMedia Pustaka
- Zaky B.M dan Kusuma, F. R. 2005. Tumbuhan Liar Berkhasiat Obat. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Zulkarnain, 2007. Regenerasi Tanaman Nenas (*Ananas comosus (L.) Merr.*) dari Tunas Aksilar Mahkota Buah. J. Agroland. (14)1:1-5.
- Zulkarnain, 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Bumi Aksara : Jakarta.