

**INDUKSI KALUS JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.)
PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN BERBAGAI KONSENTRASI
BAP (*Benzyl Amino Purin*) DAN 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*)**

Haryati B¹⁾, Muslimin²⁾, dan I Nengah Suwastika¹⁾

¹Lab. Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu

²Lab. Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan, Universitas Tadulako, Palu

Jl. Soekarno Hatta km 9 Tondo Palu Sulawesi Tengah Telepon/Fax : 0451-422844,

Koresponden author : haryati_07@ymail.com

ABSTRACT

This research was conducted from January to June 2015 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Forestry, Tadulako University. The explant used in this study was the stem of seedling. Experimental was based on a completely randomized design (CRD) with 4 treatments, and 3 replication, with 3 explants on each unit. Growth Medias as treatments were H1 = MS₀ + 0.5ppm BAP + 1.5 ppm 2.4-D; H2 = MS₀ + 0.5 ppm BAP + 2 ppm 2.4-D, H3 = MS₀ + 0.5 ppm BAP + 2.5ppm 2.4-D, and H4 = MS₀ + 0.5 ppm BAP + 3ppm 2.4-D. Parameters observation were time in callus appear, type of callus, color of callus, the weight of callus, morphology of callus cells. Callus was induced on those medium under dark condition at 26-28^o C. The result of the research showed that all treatments can induced the callus. The Medium of ms₀ + 0,5ppm BAP + 1.5 ppm of 2,4-D (H1) was the best media for callus induction, as it showed in short period of callus induction, the appearance of yellowish-white colors, highest in mass and volume of the callus cell, and showed uniform and active cell in proliferation.

Keyword : MS, 2,4-D, BAP, Callus Induction, Jatropha curcas L.

PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman yang sudah lama dikenal oleh masyarakat sebagai pagar pembatas pekarangan, pembatas pagar desa, pagar pekuburan bahkan sebagai pengganti nisan. Selain digunakan sebagai pagar juga digunakan sebagai obat-obatan, penghasil minyak dan penahan erosi (Prihandana dan Hendroko, 2006).

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman perdu serbaguna. Hampir dari semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mencukupi kebutuhannya. Pemanfaatan paling utama dari tanaman jarak pagar adalah bijinya yang digunakan sebagai bahan baku minyak jarak, yang dapat digunakan sebagai pengganti minyak tanah dan pensubstitusi

bahan bakar (Hambali dkk, 2006). Hal tersebut membuka peluang bagi masyarakat untuk bisa memanfaatkan minyak nabati yang dihasilkan dari biji jarak pagar sebagai pengganti BBM yang bersifat terbarukan.

Terjadinya krisis energi, khususnya bahan bakar minyak (BBM) telah menyadarkan semua pihak tentang perlunya mencari bahan bakar alternative. Salah satu diantaranya yang potensial dari kelompok tanaman adalah Jarak pagar (Darmanti dkk, 2012).

Pengembangan tanaman jarak pagar terkendala dengan mutu bibit yang digunakan masih belum memuaskan, karena belum ditemukannya bibit jarak pagar unggul yang produksi dan kandungan minyaknya tinggi (Lizawati, 2012). Perbanyakkan secara kultur jaringan akan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak

dalam waktu relatif singkat. Selain itu kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit (Prihandana dan Hendroko, 2006).

Salah satu faktor yang mempengaruhi berhasil tidaknya pengadaan bibit jarak pagar melalui kultur jaringan adalah adanya zat pengatur tumbuh (ZPT). Namun, kandungan hormon pada tanaman juga harus diperhatikan. Penggunaan kombinasi antara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (Benzyl Adenin ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz and Gray, 1995). Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran and Smith, 1990).

Berdasarkan permasalahan tersebut maka penelitian ini diarahkan dalam usaha untuk mengkaji teknik perbanyakan jarak pagar serta pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap induksi kalus jarak pagar (*J. curcas*).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari sampai Juni 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan, Universitas Tadulako. Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang kecambah tanaman jarak pagar (*J. curcas*L.).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah botol kultur, oven, bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), petridish, peralatan diseksi (pinset, dan pisau *scalpel*), timbangan analitik, plastik *prophopilen* (PP), *hand sprayer*, karet gelang, *magnetic stirer*, *hot plate*, labu takar, erlenmeyer, *autoclave*, pipet ukur, aluminium foil, kertas saring, kertas label, lemari pendingin, rak kultur, *refrigerator*, mikroskop yang dilengkapi dengan kamera, kaca objek dan penutup (cover).

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah batang tanaman jarak pagar (*J. curcas*) yang berasal dari biji yang dikecambahkan secara steril. Bahan Kimia yang digunakan adalah agar-agar, gula, detergen, fungisida (Dhitane M-45), media *Murashige and Skoog* (MS), zat pengatur tumbuh BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*), aquadest, chlorox, spirtus, dan alkohol 70%.

Prosedur Kerja

Media MS disusun berdasar Murashige dan Skoog, (1962), dengan penambahan 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi sesuai rancangan perlakuan. Sebelum penanaman, eksplan di disterilkan secara bertahap menggunakan detergen, fungisida (dethine), fungisida (Dhitane M-45), dan clorox (bayclean). Parameter penelitian yang diamati meliputi: saat munculnya kalus, warna kalus, tekstur kalus, berat kalus dan pengamatan sel kalus.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan, dan setiap satu unit percobaan menggunakan 3 ekplan sehingga diperoleh 36 eksplan dalam 12 unit percobaan. Perlakuan meliputi:

H1 = MS₀ + 0,5 ppm BAP + 1,5 ppm 2,4-D

H2 = MS₀ + 0,5 ppm BAP + 2 ppm 2,4-D

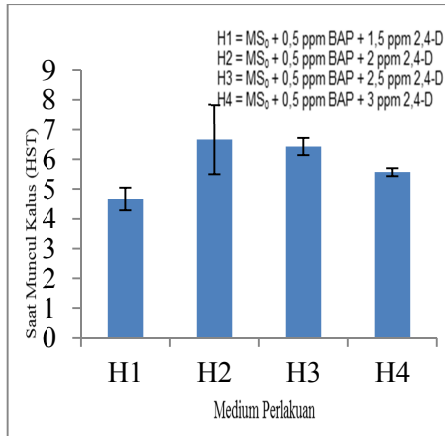
H3 = MS₀ + 0,5 ppm BAP + 2,5 ppm 2,4-D

H4 = MS₀ + 0,5 ppm BAP + 3 ppm 2,4-D

HASIL DAN PEMBAHASAN

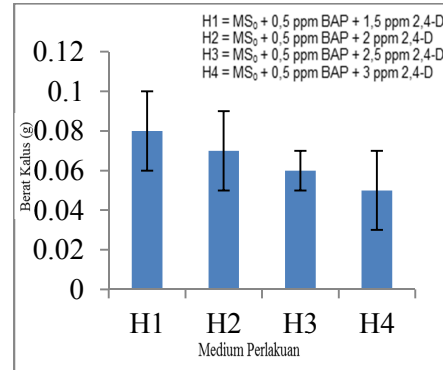
a. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil yang diperoleh, Rata-rata hasil pengamatan saat tumbuh kalus dengan respon pertumbuhan kalus tercepat pada media H₁ yaitu MS₀ +0,5 ppm BAP dan 1,5 ppm 2,4-D. Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi medium terhadap munculnya kalus. Hasil sidik ragam diperoleh tidak berbeda nyata (ns).

terhadap berat kalus. Dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi medium terhadap berat kalus. Hasil sidik ragam diperoleh tidak berbeda nyata (ns).

Tabel 1. Struktur kalus eksplan *J. curcas* L.

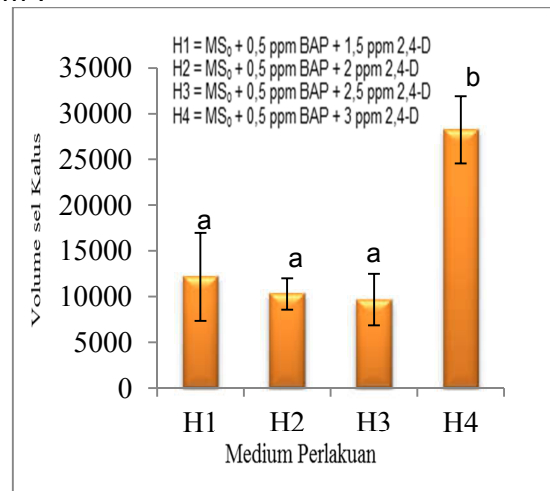
Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
H1	Remah	Remah	Remah
H2	Intermediet	Remah	Intermediet
H3	Remah	Intermediet	Intermediet
H4	Intermediet	Intermediet	Remah

Tabel 2. Warna kalus eksplan *J. curcas* L.

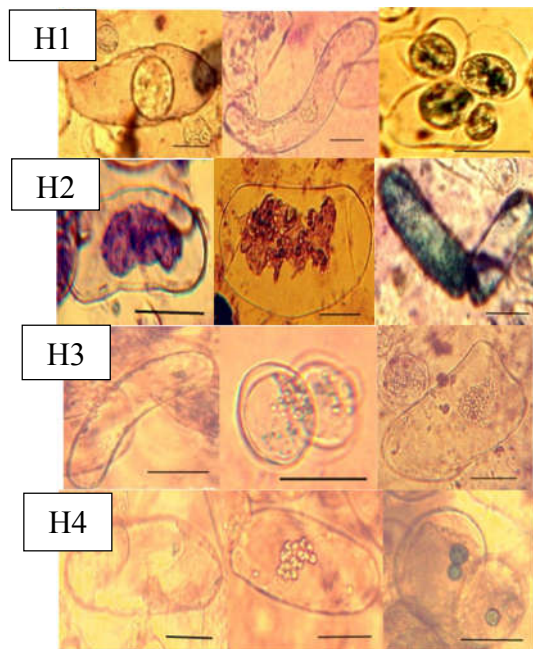
Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
H1	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan
H2	Putih kekuningan	Putih kecoklatan	Putih Kekuningan
H3	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Coklat
H4	Coklat	Putih kekuningan	Coklat

Berat kalus diukur dengan menggunakan timbangan analitik. Berat kalus pada setiap perlakuan, ditimbang pada hari terakhir pengamatan (20 HST). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa tiap perlakuan berpengaruh tidak nyata (ns)

Pengamatan sel kalus diamati di bawah mikroskop. Sel yang diamati memperlihatkan adanya pembelahan sel yang terus menerus. Rata-rata ukuran sel kalus yang lebih besar diperoleh pada perlakuan H4 dengan volume sel 28232 μm^3 .



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi media perlakuan terhadap volume sel kalus (μm^3). Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ pada taraf 5%



Gambar 4. Bentuk sel kalus *J. curcas* L. pada berbagai perlakuan. Sel yang dihasilkan memperlihatkan adanya pembelahan sel yang terus menerus. Garis hitam di bawah kanan menunjukkan skala ukuran 20 μm .

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan kultur kalus pada eksplan batang kecambah *J. curcas* L menunjukkan bahwa semua perlakuan mampu menghasilkan kalus. Pembentukan kalus ditandai dengan pembengkakan pada eksplan dan berwarna putih di sekitar permukaan eksplan dan luka irisan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Suryowinoto (1996), yang menyatakan bahwa kalus akan mulai terbentuk dari bagian pelukaan eksplan atau bagian tepi irisan eksplan, karena kalus merupakan jaringan penutup luka yang bersifat meristematis. Hal ini juga dimungkinkan karena adanya salah satu bentuk respon tumbuhan terhadap terjadinya pelukaan pada jaringan ataupun selnya. Menurut Puspitasari dan Soegihardjo (2012), dari tonjolan kecil yang berada pada bagian tepi eksplan akan tumbuh kalus yang berwarna putih dan pada waktu tertentu

kalus akan memenuhi semua permukaan eksplan.

Respon pertumbuhan kalus tercepat pada media H₁ dengan rata-rata 4,7 HST. Sedangkan eksplan yang memberikan respon paling lambat adalah pada medium H₂ dengan rata-rata 6,7 HST. Hari pembentukan kalus yang terbentuk lebih cepat jika dibandingkan dengan Penelitian Andaryani (2010), penelitiannya tentang kalus tanaman jarak pagar dengan menggunakan kombinasi 2 ppm BAP dan 0,25 ppm 2,4-D mampu menghasilkan kalus tercepat pada dengan rata-rata hari ke 5,67 setelah tanam. Sedangkan Ariati (2012), dalam penelitiannya induksi kalus tanaman kakao menunjukkan kalus yang terbentuk lebih cepat pada konsentrasi BAP 0,2 ppm dengan penambahan 2,4-D 2 ppm dan air kelapa 15%. Hal ini karena kecepatan tumbuh kalus dipengaruhi oleh kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D dan BAP yang berbeda pada setiap media serta konsentrasi fitohormon setiap tanaman yang berbeda-beda, sehingga respon dan kecepatan tumbuh kalus berbeda pula dalam menginduksi kalus. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Basri (2010) bahwa 2,4-D diketahui sebagai auksin yang efektif untuk pertumbuhan kalus. Penggunaan auksin 2,4-D lebih efektif jika dikombinasikan dengan sitokinin (BAP).

Hasil analisis sidik ragam, dari empat perlakuan yang diujikan menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata. Adanya eksplan yang lambat membentuk kalus salah satunya disebabkan adanya perbedaan setiap eksplan dalam menyerap unsur hara dan ZPT. Menurut Andaryani (2010), walaupun auksin dikenal sebagai hormon yang mampu berperan aktif dalam menginduksi kalus namun sitokinin sering pula digunakan sebagai bahan kombinasi untuk induksi kalus.

Berdasarkan pengamatan morfologi kalus tipe kalus yang dihasilkan dalam setiap perlakuan, dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Hasil pengamatan menunjukkan adanya tipe kalus yang berbeda-beda. Pada perlakuan H₁ dapat menghasilkan tipe kalus yang terbaik yaitu tipe remah, sedangkan perlakuan H₂, H₃, dan H₄ menghasilkan tipe kalus remah dan intermediet. Hal ini sejalan dengan penelitian Fatmawati (2008), yang menyatakan bahwa kalus sebagian besar bertekstur remah pada eksplan daun *A. annua* disebabkan penggunaan 2,4-D dalam media kultur. Pierik (1987), menyatakan tekstur pada kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrient, zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan kultur. Tipe kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu, kompak (*non friable*), intermediet, dan remah (*friable*) (Turhan, 2004). Kalus dengan tipe kompak umumnya mempunyai pertumbuhan yang lambat, sulit untuk dipisahkan dan ikatan antar sel terlihat padat. Sedangkan tipe kalus remah memiliki ikatan antar sel yang tampak renggang, serta mudah dipisahkan jika diambil dengan pinset. Menurut Widiarso (2010), kalus tipe intermediet merupakan massa kalus yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan sebagian lainnya remah.

Hasil pengamatan secara visual warna kalus (Tabel 4.2) menunjukkan bahwa rata-rata kalus yang terbentuk tiap perlakuan yang dicobakan menghasilkan warna yang berbeda-beda. Perbedaan warna kalus yang terjadi pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa tingkat perkembangan kalus berbeda-beda. Berdasarkan data yang diperoleh dari tabel 2, perlakuan pada medium H₁ cenderung membentuk kalus dengan warna putih kekuningan. Sedangkan perlakuan H₂, H₃, dan H₄ cenderung berwarna

kecoklatan. Perubahan warna dari putih kekuningan menjadi kuning kecoklatan disebabkan oleh semakin dewasanya umur sel atau jaringan kalus dan menandakan terjadinya reaksi enzimatis yang mengarah pada sintesis senyawa fenol yang disebut browning (pencoklatan) (Santosa dan Nursandi, 2004). Menurut Abdullah dkk (1998), sel-sel yang sehat akan menunjukkan warna kuning bening dan akan berubah menjadi kecoklatan seiring dengan pertumbuhan kalus yang semakin tua. Warna kalus semakin gelap (kecoklatan) berarti pertumbuhan kalus semakin menurun.

Berdasarkan pengukuran berat kalus yang diperoleh pada setiap perlakuan (Gambar 2), Kalus yang memiliki massa paling berat adalah pada media H₁ dengan berat 0.07543 g. Hal ini sejalan dengan penelitian Andaryani (2010) yang mengkombinasikan hormon BAP dengan 2,4-D menunjukkan bahwa kalus yang terbentuk pada perlakuan dipengaruhi oleh adanya auksin baik endogen maupun eksogen dengan adanya penambahan 2,4-D. Menurut Ruswaningsih (2007), berat segar secara fisiologi terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Rahayu dkk (2003) menyatakan bahwa berat segar kalus yang besar disebabkan kandungan air yang tinggi. Berat basah yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri, dilanjutkan dengan membesarnya kalus.

Berdasarkan analisis sidik ragam, menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap berat kalus. Pierik (1987), menyatakan bahwa pertumbuhan kalus dalam satu spesies tanaman dapat berbeda tergantung faktor seperti posisi eksplan semula dalam tanaman dan kondisi pertumbuhan. Pertumbuhan dan morfogenesis in vitro dipengaruhi oleh

adanya interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media dan hormone pertumbuhan yang dihasilkan secara endogenous oleh sel-sel yang dikultur (George and Sherrington, 1984). Oleh karena itu perlakuan BAP dan 2,4-D berpengaruh tidak nyata terhadap berat segar kalus (Fatmawati, 2008).

Pengamatan sel kalus eksplan batang kecambah jarak pagar menunjukkan adanya aktifitas sel yang terus menerus membelah. Pertumbuhan kalus berdasarkan hasil sidik ragam diperoleh berbeda sangat nyata yang menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh pada media MS dengan konsentrasi dan jenis yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap volume sel kalus. Rata-rata volume sel kalus yang lebih besar diperoleh pada perlakuan H4 28.232 μm . Masing-masing perlakuan yang diberikan dapat menghasilkan sel yang berjumlah banyak dan terus menerus melakukan pembelahan. Hal ini sejalan dengan penelitian Urfiana (2013), yang menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media MS dengan konsentrasi dan jenis yang berbeda akan memberi pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap bentuk dan ukuran sel kalus. Rata-rata ukuran sel kalus diperoleh pada perlakuannya 3 ppm 2,4-D dengan penambahan 0,2 ppm BAP dan air kelapa (15%) jika dilihat dari sifat selnya yang terus mengalami pembelahan maka eksplan memberikan respon callogenesis. Menurut Fatmawati dkk, (2010) Callogenesis merupakan kalus yang terbentuk yang tidak mengalami diferensiasi menjadi organ, hanya mengalami perubahan ukuran menjadi lebih besar dan aktif membelah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium yang paling baik untuk pertumbuhan kalus batang kecambah jarak pagar adalah medium H₁, ditandai dengan kecepatan tumbuh sel kalus,

munculnya sel kalus berwarna putih kekuningan, bertipe remah, berat kalus yang relative lebih besar, serta memiliki bentuk sel yang besar, seragam dan aktif membelah mulai dari 4 hari setelah tanam (HST).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semua perlakuan yang dicobakan mampu menginduksi kalus. Medium yang terbaik untuk pertumbuhan kalus *J.curcas* adalah medium MS + 0,5 ppm BAP + 1,5 ppm 2,4-D yang ditandai dengan munculnya kalus dengan waktu tercepat dan berwarna putih kekuningan, bertipe remah, memiliki massa yang lebih besar, dengan kondisi sel kalus yang memiliki bentuk besar dan aktif membelah. Rata-rata kalus yang terbentuk tiap perlakuan yang dicobakan pada eksplan kecambah jarak pagar berwarna putih kekuningan yang berlangsung ± 3 minggu setelah tanam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.A., A.M. Ali, M. Marziali, dan A.B. Arif.1998. *Establishment of cell suspension cultures of Morinda elliptica for the production of anthraquinones*. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 54: 173-182
- Andaryani, S.N. 2010, *Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*, Skripsi Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Ariati, S.N. 2012, *Induksi Kalus Tanaman Kakao (Theobroma cacao L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP, dan Air Kelapa.*, Skripsi Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Tadulako, Palu.

- Basri, Z., 2010. *Kajian Metode Perbanyak Klonal Pada Tanaman Kakao*. Media Litbang Sulteng.
- Bhaskaran, S. and R.H. Smith . 1990. *Regeneration in cereal tissue culture. A. Review. Crop Sci.*(30): 1328-1336.
- Darmanti S, dkk. 2012. *Jurnal Perlakuan Defoliasi untuk Meningkatkan Pembentukan dan Pertumbuhan Cabang Lateral Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi Fak. MIPA UNDIP.
- Fatmawati, A. 2008. *Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap multifikasi Tanaman Artemisia Annu L. secara In Vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Fatmawati, T., Tuti, N., dan Nurul, J., 2010, *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP Pada Kultur Jaringan Tembakau (Nicotiana tabacum L.) Var. Prancak 95*, <http://digilib.its.ac.id/public/ITS-Undergraduate-13519-Paper.pdf>.
- George E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. England
- Hambali, E., A. Suryani, Dadang, Hariyadi, H. Hanafie, I. K. Reksowardojo, M. Rivai, M. Ihsanur, P. Suryadarma, S. Tjitrosemito, T. H. Soerawidjaja, T. Prawitasari, T. Prakoso, dan W. Purnama. 2006. *Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodiesel*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Litz, R.E and D.J. Gray. 1995. *Somatic embryogenesis for agriculture improvment. World Jour. Microbiol. And Biotech* (11) 416-425.
- Lizawati. 2012. *Jurnal Induksi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Tunas Apikal anaman Jarak Pagar (Jatropha Curcas L.) Dengan Penggunaan 2,4 D Dan Tdz (The Use Of 2,4-D And Tdz To Induction Embryogenic Callus From Apical Bud Explant Of Physic Nut (Jatropha Curcas.)* Vol 1 No.2 April-Juni 2012.
- Pierik, R. L. M., 1987, *In Vitro Culture of Hinger Plant*. Martinus Nijhoff Publisher. Netherlands.
- Puspitasari, A., dan C, J, Soegihardjo, 2002, *Optimisasi Mdia Pertumbuhan Kalus Sebagai Langkah Awal Upaya Budidaya In vitro Tanaman Vitex trifolia L*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 13 (1), 21-25.
- Prihandana, R. dan P. Hendroko, 2006. *Petunjuk Budidaya Jarak Pagar*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Rahayu, B., Solichatun dan E. Anggarwulan. 2003. *Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan Flavonoid Kultur Kalus Acalypha indica L*. *Biofrms* 1(1): 1-6.
- 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.
- Santosa, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit UMM. Malang.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Kanisius. Yogyakarta.
- Turhan, H., 2004. *Callus Induction and Growth in Transgenic Potato*

Genotypes. African Journal of Biotechnology 3(8): 375-378.

Urfiana. 201. *Induksi Kalus Klon Kakao (Theobroma cacao L.) Sulawesi 2 pada Medium MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP, dan Air Kelapa.*, Skripsi Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Tadulako.Palu.

Widiarso, M., 2010, *Kajian Penggunaan BAP dan IBA untuk merangsang Pembentukan Tunas Lengkeng (Dimocarpus Longan Lour) Varietas Pingpong Secara In Vitro.* Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Pertanian UNS,Surakarta