

Induksi Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla dengan Kombinasi Hormon 2,4-D dan Bap Secara *In Vitro*

Andi Ilham Latunra¹, A. Masniawati¹, Baharuddin², Wiwik Aspianti T¹, Mustika Tuwo¹

¹Departemen Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar

²Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar
email: mustikamukti@yahoo.co.id

Abstract

Research on callus induction of red banana *Musa acuminata* Colla with combination hormone 2,4-D and BAP in vitro aims to find a combination of hormones BAP and 2,4D were effective in inducing callus red banana. This study was conducted from February until April 2016 at Tissue Culture Laboratory Research and Development Center of Biotechnology, Hasanuddin University, Makassar. Callus was induced from leaf explants red banana from the in vitro culture of a 5 month old, the basic medium MS + 2,4-D + BAP. This designs uses in completely randomized design with 4 treatments with 3 repetitions. The combinations were : MS medium + 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP (W1), MS medium + 2 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP + (W2), MS medium +3 ppm 2,4 -D + 2 ppm BAP (W3) and MS medium + 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP (W4). Parameters observate in this study were the emergence of callus and percentage appears callus, callus color, texture callus, and callus wet weight. The results showed that the combination of MS medium + 2 ppm 2,4D + 3 ppm BAP (W2) is the best medium to induce callus, marked by green callus, compact callus (friable), and the highest wet weight of callus 0.0203 g.

Kata kunci: 2,4-D, BAP, callus, *Musa acuminata* Colla, in vitro culture

PENDAHULUAN

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Banyak tanaman pisang di Indonesia yang telah dibudidayakan oleh masyarakat, akan tetapi tidak semua tanaman pisang mempunyai nilai komersial yang tinggi. Salah satu tanaman pisang yang mempunyai potensi yang tinggi dan berpeluang untuk dikembangkan adalah pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) (Zebua, 2015).

Khusus untuk permintaan buah pisang barangan juga terus meningkat terutama di kota-kota besar Sumatera Utara dan Jakarta, sehingga beberapa petani telah membudidayakannya secara komersial. Bercocok tanam pisang barangan sangat berbeda dengan tanaman pisang lainnya, karena pisang memerlukan pemeliharaan intensif guna mendapatkan produksi yang tinggi dan kualitas buah yang baik (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara, 2008).

Seiring dengan permintaan pisang yang terus meningkat, perbanyak pisang tidak hanya dilakukan secara konvensional dengan menggunakan anakan maupun belahan bonggol. Upaya lain yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah penyediaan bibit pisang barangan adalah melalui

perbanyak tanaman dengan cara kultur jaringan (*in vitro*) (Yusnita, 2003). Perbanyak 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).

Melalui kultur *in vitro*, daun pisang dapat diinisiasi menjadi kalus. Penginisiasian kalus dipengaruhi oleh media tanam dan juga zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh berupa auksin berupa 2,4-D dan sitokinin berupa *Benzyladenine* (BAP) dengan konsentrasi tertentu dapat merangsang terbentuknya kalus (Ramdan dan Hendra, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marlin, dkk., (2012), menunjukkan bahwa kalus yang berasal dari eksplan jantung pisang curup yang dikulturkan mengalami pertumbuhan terbesar dengan diameter 2.5 cm pada media yang mengandung 30 g/l sukrosa dan 2 ppm BAP : 2-4 ppm 2,4-D, dengan struktur kalus yang remah.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang efektif dalam menginduksi kalus pisang barangan merah *Musa acuminata* Colla secara *in vitro* dan diharapkan dapat digunakan sebagai dasar ilmiah dalam perbanyak secara *in vitro* tanaman pisang barangan khususnya dalam tahap induksi dan perkembangan kalus.

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminary Air Flow (LAF)*, lemari pendingin (kulkas), oven, autoklaf, timbangan analitik, kompor gas, mikroskop, pH meter, panci, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, botol kultur, cawan petri, pipet, *magnetic stirrer*, mikro pipet eppendorf, pinset, scalpel, dan bunsen.

Bahan-bahan yang digunakan eksplan (daun) pisang barangan, bahan-bahan kimia untuk media Murashige dan Skoog (MS), agar-agar bubuk, alkohol 70%, alkohol 96%, hormon 2,4-D, aquades, HCl 1N, KOH 1N, aquades, aluminium foil, dan *plastic seal*.

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 4 macam perlakuan. Setiap perlakuan digunakan 3 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 cawan petri sehingga jumlah cawan petri adalah 12 cawan.

Penelitian yang dilakukan menggunakan 4 perlakuan media, yaitu :

- W1 : Media MS + 1 ppm 2,4D + 4 ppm BAP
- W2 : Media MS + 2 ppm 2,4D + 3 ppm BAP
- W3 : Media MS + 3 ppm 2,4D + 2 ppm BAP
- W4 : Media MS + 4 ppm 2,4D + 1 ppm BAP

Sterilisasi Alat, Medium, dan Ruang Kultur

Alat-alat logam disterilkan dalam oven. Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas kemudian disterilisasi di dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Sterilisasi botol dilakukan dengan memasukkan botol ke dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat tanam seperti pinset dan skalpel dapat disterilkan kembali dengan pemanasan di atas api spiritus, setelah dicelupkan pada alkohol 96% sebelum penanaman dilakukan.

Sterilisasi medium dilakukan dengan botol-botol kultur yang telah berisi medium dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 17.5 psi dan dipertahankan selama 20 menit.

Laminary Air Flow (LAF) sebelum digunakan terlebih dahulu disemprot alkohol 70% dan dilap dengan menggunakan tisu. Kemudian alat dan media diberi sinar ultra violet (UV) selama ± 30 menit, kemudian dinyalakan blower selama ± 5 menit.

Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan cara menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro, vitamin serta ZPT sesuai komposisi media MS untuk tanaman pisang. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquadest steril lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*, lalu dimasukkan ke dalam botol yang diberi label (sesuai dengan perlakuannya) dan disimpan dalam lemari pendingin.

Untuk stok hormon 2,4-D dan BAP, dilakukan dengan cara menimbang hormon masing-masing sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam aquades stereril 100ml (dalam dua botol yang berbeda) lalu dihomogenkan, lalu dimasukkan ke dalam botol yang diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin.

Pembuatan Media

Pembuatan media MS dilakukan dengan memasukkan komposisi media MS yaitu larutan stok yang terdiri dari larutan stok A, B, C, D, E, F, dan vitamin kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu ditambahkan aquades hingga volume 1 liter. Selanjutnya larutan tersebut ditambah 40 g/l gula dan diukur keasaman larutan dengan menggunakan pH meter. pH media yang dibutuhkan yaitu 5,8. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam panci yang telah berisi agar – agar dan dipanaskan sambil diaduk rata hingga larutan mendidih. Untuk media perlakuan yang digunakan adalah campuran bahan media MS dengan hormon 2,4-D dan BAP. Pencampuran dilakukan dengan perlakuan yang ada sesuai dengan konsentrasi masing – masing yang dibutuhkan.

Selanjutnya media dituang kedalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan *aluminium voil* dan *plastic seal*, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 17,5 Psi, suhu 121°C selama 20 menit. Media yang sudah diautoklaf dituang ke dalam cawan petri sebanyak 5 ml kemudian ditutup dan direkatkan lagi dengan *plastic seal*. Media yang telah dituang kemudian simpan di tempat yang sejuk selama beberapa saat sebelum media tersebut digunakan untuk penanaman.

Penanaman

Pra Sterilisasi

Satu helai daun pisang muda (pucuk) barangan merah *Musa acuminata* Colla yang diambil dari botol subkultur dicuci dengan deterjen dan dibilas dibawah air mengalir sebanyak 3 kali.

Sterilisasi

Sterilisasi daun pisang muda dilakukan di dalam *Laminary Air Flow (LAF)* dengan cara daun direndam dalam larutan kalsium hipoklorit 30% selama 3 menit, lalu daun direndam dalam alkohol 70% selama 3 menit. Daun dibilas sampai bersih, diletakkan dalam cawan petri steril kemudian dipotong–potong menggunakan skapel dengan ukuran 0,5x0,5 cm dengan tulang daun dihilangkan (Arimarsetiowati, 2011).

Inokulasi

Eksplan ditanam dengan menggunakan pinset steril ke dalam cawan petri. Cawan yang telah ditanam ditutup kembali dengan dan di selotip dengan *plastic seal* kemudian disimpan di dalam ruang kultur.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap minggu mulai dari 1 Minggu Setelah Tanam (MST) hingga 8 MST. Parameter yang diamati antara lain (Andaryani, 2010):

- Waktu dan persentase munculnya kalus
- Warna Kalus
- Tekstur Kalus
- Berat Basah Kalus

Analisis Data

Analisis yang digunakan adalah analisis kuantitatif dan kualitatif. Data dianalisis dengan analisis varians (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Sedangkan analisis kualitatif melalui pengamatan secara visual.

HASIL

a. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Waktu dan Persentase Munculnya Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Waktu pertumbuhan kalus diamati setiap minggu setelah tanam (MST). Data pembentukan kalus dianalisis dengan ANOVA (Analisis Variasi) untuk mengetahui interaksi 2,4-D dan BAP dalam menginduksi kalus pisang barangan merah. Data pengamatan hari muncul kalus dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji DMRT taraf 5 % terhadap waktu muncul kalus pisang barangan merah *Musa acuminata* Colla (minggu setelah tanam)

No	Perlakuan	Rata-rata (MST)
1	1 ppm 2,4D + 4 ppm BAP	5 ^b
2	2 ppm 2,4D + 3 ppm BAP	5,67 ^c
3	3 ppm 2,4D + 2 ppm BAP	0 ^a
4	4 ppm 2,4D + 1 ppm BAP	5 ^b

Keterangan:

Nilai pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5 %.

Tabel 2. Hasil Uji DMRT taraf 5 % terhadap persentase muncul kalus pisang barangan merah *Musa acuminata* Colla

No	Perlakuan	Persentase Eksplan yang Tumbuh (%)
1	1 ppm 2,4D + 4 ppm BAP	25 ^b
2	2 ppm 2,4D + 3 ppm BAP	66 ^c
3	3 ppm 2,4D + 2 ppm BAP	0 ^a
4	4 ppm 2,4D + 1 ppm BAP	41 ^b

Keterangan:

Nilai pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5 %.

Hasil ANAVA terhadap waktu munculnya menunjukkan bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap waktu munculnya kalus, dengan nilai signifikansi yaitu 0,000 ($P < 0,05$).

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5% terhadap waktu dan persentase munculnya kalus dapat diketahui bahwa kombinasi media 2 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP (W2) merupakan media yang terbaik untuk menumbuhkan kalus pisang barangan merah secara cepat yaitu pada minggu ke 6 dengan persentase 76%. W1 dengan kombinasi 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP dan media W4 dengan kombinasi 4 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata (sama) dalam menginduksi kalus. Sedangkan untuk media W3 tidak memiliki pengaruh yang nyata dalam induksi kalus. Sehingga, keempat media kombinasi ini memiliki pengaruh yang berbeda nyata dalam menginduksi kalus pisang barangan merah.

b. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Berat Basah Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Penimbangan berat basah kalus pisang barangan merah dilakukan pada akhir pengamatan (8 MST). Kalus ditimbang menggunakan timbangan analitik dengan cara destruktif, artinya mengambil kalus satu persatu dari dalam media untuk kemudian ditimbang.

Tabel 3. Hasil Uji DMRT taraf 5 % terhadap berat basah kalus pisang barangan merah *Musa acuminata* Colla

No	Perlakuan	Rata-rata (g)
1	1 ppm 2,4D + 4 ppm BAP	0,0138 ^b
2	2 ppm 2,4D + 3 ppm BAP	0,0203 ^c
3	3 ppm 2,4D + 2 ppm BAP	0 ^a
4	4 ppm 2,4D + 1 ppm BAP	0,0149 ^b

Keterangan:

Nilai pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5 %.

Data dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA). Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat basah kalus pisang barangan merah, dengan nilai signifikan sebesar 0,000 ($P < 0,05$).

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5% diketahui bahwa medium W2 yakni 2 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP merupakan media kombinasi terbaik untuk mendapatkan berat basah kalus pisang barangan merah yang tinggi. Hal ini terbukti bahwa berat basah kalus pada media tersebut sebesar 0,0203 gram. Sedangkan berat basah kalus paling rendah yaitu 0 gram yakni pada media W3 dengan kombinasi 3 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP yang menunjukkan kalus pisang barangan merah tidak dapat mengalami pertumbuhan sampai pengamatan terakhir (8 MST).

c. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Tekstur Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Pengamatan tekstur kalus dilakukan pada akhir pengamatan (8 MST) dengan menggunakan mikroskop. Tekstur kalus diamati pada saat penimbangan dimana tekstur kalus yang terbentuk adalah kompak (*non friable*).

d. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Warna Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Warna kalus pisang barangan merah pada penelitian ini bervariasi. Warna kalus terbaik yang terbentuk adalah hijau kekuningan.

PEMBAHASAN

a. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Waktu dan Persentase Munculnya Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Salah satu indikator adanya pertumbuhan munculnya kalus adalah adanya penebalan pada jaringan yang mengalami luka. Kalus muncul diawali dengan adanya pembengkakan pada eksplan. Kalus tumbuh ditandai adanya gumpalan sel-sel kecil, berwarna putih pada bagian pelukaan (bagian bekas irisan) yang kemudian menyebar pada permukaan luar eksplan. Hal ini sesuai dengan Leon

(2001) yang menyatakan bahwa, pembentukan kalus dimulai dengan pembengkakan eksplan, sehingga strukturnya kasar dan permukaannya berkilauan jika terkena cahaya.

Waktu munculnya kalus dipengaruhi oleh komposisi ZPT berupa hormon yang ditambahkan pada media kultur. Auksin yang digunakan pada penelitian ini adalah 2,4-D dan BAP sebagai sitokinin. Kalus yang tidak terbentuk pada perlakuan 3 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP (W2) disebabkan konsentrasi hormon tidak seimbang yang ditambahkan dalam media. Sudarmadji (2003) mengungkapkan bahwa jika konsentrasi BAP yang digunakan kurang sesuai maka kalus akan lambat muncul yang akhirnya bersifat juga sebagai penghambat pertumbuhannya. Kalus yang tidak muncul, tidak selalu disebabkan oleh kombinasi media yang digunakan akan tetapi, pertumbuhan kalus yang terhambat dapat pula disebabkan oleh faktor luar seperti jenis tanaman, umur tanaman, suhu ataupun intensitas cahaya sehingga tidak terjadi interaksi antara hormon auksin dan sitokinin yang digunakan, hal ini yang menyebabkan kalus tidak terinduksi. Faktor dari dalam (endogen) seperti hormon juga mempengaruhi pertumbuhan kalus.

Pada penelitian ini kombinasi konsentrasi hormon terbaik dalam menginduksi kalus pisang barangan merah adalah 2 ppm 2,4-D dan 3 ppm BAP (W2), dimana konsentrasi hormon sitokinin lebih tinggi dibandingkan hormon auksin. Hal ini terjadi karena suplai auksin endogen yang ada dalam jaringan eksplan masih cukup untuk menstimulasi pembentukan kalus (Marlin, dkk., 2012).

b. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Berat Basah Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Pertambahan berat kalus ini dikarenakan terjadinya pembelahan pada kalus sehingga jumlah selnya bertambah. Peningkatan berat basah pada kalus disebabkan karena kandungan airnya yang tinggi. Selain itu, berat basah yang dihasilkan juga sangat tergantung pada kondisi morfologi kalus, kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus (Rahayu, 2003).

ZPT 2,4-D memberikan pengaruh terhadap perkembangan sel karena auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1994). BAP sebagai sitokinin berfungsi dalam pembelahan sel dan sintesis protein. Pemacuan pembelahan sel dan sintesis protein oleh sitokinin menyebabkan sel berproliferasi, akibatnya volume sel bertambah sehingga menyebabkan bertambahnya berat kalus yang dihasilkan (Wattimena, 1992).

c. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Tekstur Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Selama pertumbuhannya, kalus mengalami lignifikasi sehingga memiliki tekstur keras dan kompak (*nonfriable*). Adapun yang *non friable* yaitu berbentuk lunak sehingga mudah terpecah menjadi serpihan-serpihan kecil (Turhan, 2004).

Menurut Lizawati, (2012) tekstur kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrient media, zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan kultur. Akan tetapi, menurut Indah (2013), kalus yang baik untuk digunakan

sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak.

d. Pengaruh Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Warna Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata* Colla

Warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang terbentuk. Menurut Ali (2010) warna kalus yang terbentuk antara lain hijau, hijau kekuningan, dan hijau kecoklatan. Pada beberapa perlakuan didominasi warna kecolatan pada pinggiran eksplan daun pisang barangan merah pada 6 MST pada medium W2.

Eksplan yang tidak membentuk kalus mengalami perubahan warna dari hijau menjadi coklat kemudian mati, hal ini dapat disebabkan karena timbulnya senyawa fenolik yang keluar dari eksplan tersebut. Peristiwa pencoklatan ini merupakan suatu proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat adanya pengaruh seperti respon dari bekas perlakuan pada eksplan. Terjadinya pencoklatan pada jaringan adalah karena aksi oksidasi pifenol yang disintesis akibat dari oksidasi jaringan ketika terluka. (Robbiani, 2010).

Penambahan arang aktif ke dalam media kultur seringkali dapat menghindari pembentukan inhibitor fenolat. Dalam penelitian ini arang aktif ditambahkan ke semua media kombinasi sebanyak 0,5 gram/l. Arang aktif menghilangkan pewarnaan dengan menyerap dan mengoksidasi fenol dan menginaktifkan peroksidase (Tisserat, 1979).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang efektif untuk menginduksi kalus pisang barangan merah *Musa acuminata* Colla yaitu 2 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP (W2), dengan waktu muncul kalus 4 MST (Minggu Setelah Tanam); warna kalus hijau; tekstur kalus kompak (*friable*); dan berat basah kalus tertinggi 0,0203 gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A., 2010. Biochemical Investigation During Different Stages of *In Vitro* Propagation of *Stevia rebaudiana*. Pak. J. Bot, 42 (4): 2827-2837.
- Arimarsetoiwati, R., 2011. Pengaruh Auksin 2,4-D dan Sitokinin 2-ip Terhadap Pembentukan Embriogenesis Somatik Langsung Pada Eksplan Daun *Coffea arabica* L. Jurnal Pelita Perkebunan. 27 (2): 68-77.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara, 2008. Teknologi Penanaman Pisang Barangan Sistem Dua Jalur (*Double Row*). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara. Medan.
- Benitez G. I., Pablo Emilo Vanegas-Espinoza, Antonio J., Malendez-Martinez, Francisco J. H., Octavio Paredes-Lopez, and Alma Angelica Del Villar-Martinez, 2014. Callus Culture Development of Two Varietas of *Tagetes erecta* and Caratenoid Production. *E-Jurnal of Biotechnology*. Diakses pada tanggal 4 Desember 2015. Pukul 09:46 WITA. Makassar.
- Indah, P.N., 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Jurnal Sains dan Seni POMITS 2(1): 2337 -2343.
- Leon, J., 2001. Would Signalling in Plants. *Journal of Experimental Botany*. 52 (354): 1-9.

- Lizawati, 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan penggunaan 2,4-D dan TDZ. Jambi: Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi (1)2.
- Marlin, Yulian dan Hermansyah., 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang 'Curup' Dengan Pemberian Sukrosa, BAP Dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor*. 11 (2): 276-284.
- Prihandana, R. dan P. Hendroko, 2006. Petunjuk Budidaya Jarak Pagar. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Rahayu, B., 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi* 1 (1) : 1-6.
- Ramdan, R. R dan H. Hendra., 2015. Induksi Kalus *Chrysanthemum indicum* untuk Meningkatkan Keragaman Genetik dari Sel Somatik. *Pros sem nas masy biodiv indon*. 1 (1). 167-170.
- Robbiani, D., 2010. Pengaruh Kombinasi Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin pada Kultur *In Vitro* Eksplan Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. var. Prancak 95). Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Sudarmadji. 2003. Pengaruh Benzyl Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas secara In Vitro. *Buletin Teknik Pertanian* 8 (1): 8-10.
- Turhan, H., 2004. Callus Induction and Growth in Transgenic Potato Genotypes. *African Journal of Biotechnology* 3(8): 375-378.
- Tisserat, B., 1979. Propagation of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. *J. Exp. Bot.* 30:1275-1283.
- Wattimena, 1992. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Spesies. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yusnita, 2003. Kultur Jaringan. Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zebua, D., 2015. Induksi Tunas Pisang Barangan (*Musa Acuminata* L.) Asal Nias Utara Melalui Kultur Jaringan dengan Pemberian 2,4-D dan Kinetin. Tesis. Program Pascasarjana. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.