

Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan

Endang G. Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; E-mail: egati_1@yahoo.com

Diajukan: 1 November 2010; Diterima: 1 Maret 2011

ABSTRACT

The Role of Growth Regulator in Tissue Culture Plant Propagation. Endang G. Lestari. In plant tissue culture, growth regulator has significant roles such as to control root and shoot development in the plant formation and callus induction. Cytokinin and auxin are two prominent growth regulator. Cytokinin consists of BA (benzil adenin), kinetin (furfuril amino purin), 2-Ip (dimethyl allyl amino purin), and zeatin. While auxin covers IAA (indone acetic acid), NAA (naphtalene acetic acid), IBA (indole butiric acid) 2,4-D (2,4-dicholophenoxy acetic acid), dicamba (3,6 dicloro-O-anisic acid), and picloram (4-amino 3,5,6-tricloropicolinic acid). The emphasis of plant growth purposes decide the use of growth regulator. Cytokinin is applied mainly for the purpose of shoot, while auxin is mainly used for the purpose of root and callus. The application of growth regulator application is varied, depending on the genotype and physiological condition of the plant. The existence of a certain growth regulating substances can enhance growth regulator activity of other substances. The type and concentration of the appropriate growth regulators for each plant is not the same because it depends on the genotype and physiological condition of plant tissue. However so often both are frequently required depend on the ratio/ratio of auxin cytokines or vice versa. The existence of a certain growth regulating substances can enhance growth regulator activity of other substances. The type and concentration of the appropriate growth regulators for each plant is not the same because it depends on the genotype and physiological condition of plant tissue. For the propagation, multiple and adventive shoots along with embriosomatic formation could be applied. The seedling is obtained from one somatic cell. Here, strong auxin, such as dicamba and picloram 2,4-D, is utilized for callus production. For this reason, seedling per unit could be produced more than that of organogenesis.

Keywords: Growth regulator, auxin, cytokinin, tissue culture.

ABSTRAK

Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. Endang G. Lestari. Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman sangat penting, yaitu untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkem-

bangun tunas dan akar serta pembentukan kalus. Ada dua golongan zat pengatur tumbuh tanaman yang sering digunakan dalam kultur jaringan, yaitu sitokinin dan auksin. Yang termasuk golongan sitokinin antara lain BA (benzil adenin), kinetin (furfuril amino purin), 2-Ip (dimethyl allyl amino purin), dan zeatin. Yang termasuk dalam golongan auksin antara lain IAA (indole acetic acid), NAA (naphtalene acetic acid), IBA (indole butiric acid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), dicamba (3,6-dicloro-o-anisic acid), dan picloram (4-amino-3,5,6-tricloropicolinic acid). Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas pada umumnya digunakan sitokinin sedangkan untuk pembentukan akar atau pembentukan kalus digunakan auksin. Namun demikian sering pula dibutuhkan keduanya tergantung pada perbandingan/ratio sitokinin terhadap auksin atau sebaliknya. Adanya salah satu zat pengatur tumbuh tertentu dapat meningkatkan daya aktivitas zat pengatur tumbuh lainnya. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat untuk masing-masing tanaman tidak sama karena tergantung pada genotipe serta kondisi fisiologi jaringan tanaman. Dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan di samping melalui pembentukan tunas ganda atau tunas adventif dapat pula melalui pembentukan embriosomatik. Dengan teknik tersebut bibit dapat berasal dari satu sel somatik. Sehingga bibit yang dihasilkan persatuan wadah persatuan waktu lebih banyak dibandingkan dari organogenesis. Untuk produksi kalus embriogenik digunakan auksin kuat seperti 2,4-D, dicamba atau picloram.

Kata kunci: Zat pengatur tumbuh, auksin, sitokinin, kultur jaringan tanaman.

PENDAHULUAN

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam perbanyakan tanaman secara klonal untuk perbanyakan masal. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril (*mother stock*) sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyakan selanjutnya (Lestari, 2008). Untuk mendapatkan hasil yang optimum maka penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor yang penting (Purnamaningsih dan Lestari, 1998). Kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan meningkatkan aktivitas

pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis.

Dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat ditempuh melalui dua jalur, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Jalur embriogenesis somatik di masa mendatang lebih mendapat perhatian karena bibit dapat berasal dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak dibandingkan melalui jalur organogenesis. Di samping itu, sifat perakarannya sama dengan bibit asal biji.

Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksin. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Pierik, 1987). Untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik seringkali auksin diperlukan dalam konsentrasi yang relatif tinggi.

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman (Davies, 1995; Gaba, 2005). Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004; George, 1993; Dodds dan Roberts, 1982). Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman (Winata, 1987). Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi "faktor pemicu" dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al.*, 1989).

Kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas (Flick *et al.*, 1993). Pada tanaman inggu, pembentukan tunas adventif dari batang dapat diperoleh dengan menggunakan media MS + BA 1,5 mg/l + 2.4-D 0,3 mg/l (Lestari dan Husni, 1997). Tunas adventif pada tanaman daun dewa diperoleh dari kalus yang diinisiasi menggunakan media MS + 2.4-D 0,1 mg/l + BA 0,1 mg/l + kinetin 2 mg/l kemudian dipindah ke media

tanpa zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh 2.4-D berperan sebagai inisiasi kalus, dengan adanya BA maka pembentukan tunas adventif menjadi lebih aktif (Flick *et al.*, 1993). Jenis zat pengatur tumbuh yang berbeda dari golongan yang sama seperti kinetin, zeatin dan 2-iP kadang dibutuhkan untuk memacu morfogenesis yang lebih optimal (Gaba, 2005).

Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada tujuan atau arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan. Zat pengatur tumbuh BA (benzyl adenin) paling banyak digunakan untuk memacu penggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang kuat dibandingkan dengan kinetin (Zaer dan Mapes, 1982). BA mempunyai struktur dasar yang sama dengan kinetin tetapi lebih efektif karena BA mempunyai gugus benzil (George dan Sherington, 1984). Flick *et al.* (1993) menyatakan bahwa pada umumnya tanaman memiliki respon yang lebih baik terhadap BA dibandingkan terhadap kinetin dan 2-iP sehingga BA lebih efektif untuk produksi tunas *in vitro*. Pada banyak jenis tanaman zat pengatur tumbuh 2-iP merupakan sitokinin yang mempunyai daya aktivitas lebih lemah dibandingkan dengan sitokinin lainnya sehingga jarang digunakan. Pada tanaman nilam penggunaan 2-iP menghasilkan tunas yang lemah dan kurus (Seswita *et al.*, 1996).

Di samping sitokinin BA atau kinetin, penggunaan thidiazuron (TDZ) dapat pula meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas. Lu (1993) menyatakan bahwa thidiazuron dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Diduga thidiazuron mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi ribonukleosida yang secara biologis lebih aktif (Capella *et al.* dalam Lu, 1993). Thidiazuron merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin (Pierik, 1987; Singha dan Bathia, 1988). Thidiazuron berpotensi memacu frekuensi regenerasi pada kacang tanah (*Arachis hypogaea*) secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan (Huetterman dan Prece, 1993) karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel meristem sehingga terbentuk primordia tunas (George dan Sherington, 1984). Senyawa organik tersebut merupakan derivat urea yang tidak mengandung rantai purin yang umumnya dimiliki oleh sitokinin.

Kombinasi BA dengan thidiazuron untuk meningkatkan kemampuan proliferasi tunas antara lain pada tanaman *Pyrus communis* (Singha dan Bhatia, 1988), tunas apel (Van Niewkerk *et al.*, 1986), Sukun (Supriati *et al.*, 2005). Thidiazuron dalam konsentrasi yang rendah 1 μ M lebih efektif dalam pembentukan tunas

Tabel 1. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk multiplikasi tunas *in vitro*.

Jenis tanaman	Eksplan	Komposisi media (mg/l)	Pustaka
Jahe (<i>Zingiber officinalis</i>)	Tunas rimpang	MS cair + BA 5	Mariska dan Syahid (1992)
Poko (<i>Mentha arvensis</i>)	Setek 1 buku	MS cair + BA 10	Mariska <i>et al.</i> (1987)
Panili (<i>Vanilla planifolia</i>)	Setek 1 buku	MS + BA 4	Mariska dan Sukmadjaja (1987)
	Biji	Knudson + BA 1	Lestari <i>et al.</i> (1994)
Nilam (<i>Pogostemon cablin</i>)	Setek 1 buku	MS +BA 0,1	Seswita <i>et al.</i> (1996)
Rami (<i>Boehmeria nivea</i>)	Setek 1 buku	MS + BA 0,5 + 2-IP2	Lestari <i>et al.</i> (1991)
Lada (<i>Piper nigrum</i>)	Setek 1 buku	MS ½ + BA 1	Sukmadjaja dan Mariska (1991)
	Kalus	MS + BA 0,3 + thi 0,2	
Pyrethrum (<i>Chrysanthemum cinerarifolium</i>)	Tunas lateral	MS + BA2	Seswita <i>et al.</i> (1992)
Seruni (<i>Chrysanthemum morifolium</i>)	Setek 1 buku	MS + kin 10	Mariska dan Lestari (1988)
Pulasari (<i>Alyxia stellata</i>)	Setek 1 buku	MS + BA 3 + NAA 0,1	Lestari dan Mariska (1992)
Pule pandak (<i>Rauwolfia serpentina</i>)	Setek 1 buku	MS + BA 0,8	Seswita <i>et al.</i> (1993)
	Kalus		Yunita dan Lestari (2008)
Purwoceng (<i>Pimpinella pruatjan</i>)	Mata tunas	MS + kin 10	Darwati dan Roostika (2006)
Inggau (<i>Ruta angustifolia</i>)	Mata tunas	MS ¾ + BA1	Husni <i>et al.</i> (1994)
	Batang dan daun	MS+ 2,4-D 0,3 mg/l + BA 1,5 mg/l	Lestari dan Husni (1997)
Daun dewa (<i>Gynura procumbens</i>)	Mata tunas	MS + BA 2	Lestari dan Purnamaningsih (1995)
Sukun (<i>Artocarpus communis</i>)	Mata tunas	WPM + BA 2 + TDZ 0,4	Supriati <i>et al.</i> (2005)
Belimbing (<i>Averhoa bilimbi</i>)	Mata tunas	WPM + IAA 0,5 + zeatin 2 mg/l	Supriati <i>et al.</i> (2006)
Kencur (<i>Alpinia rotunda</i>)	Rimpang	MS + BA 2 +IAA 1	Seswita <i>et al.</i> (1994)
Manggis (<i>Garcinia mangostana</i>)	Potongan/lapisan biji	MS + BA 5	Roostika <i>et al.</i> (2005)

MS = Murashige dan Skoog, WPM = woody plant medium, kin = kinetin, BA = benzyl adenin, TDZ = thidiazuron.

adventif (Sankhla *et al.*, 1996). Contoh lain tanaman yang memberikan respon lebih baik bila ditumbuhkan pada media dengan penambahan thidiazuron antara lain pada tanaman kencur (Lestari dan Hutami, 2005), thidiazuron 0,1 mg/l yang ditambahkan pada media MS + BA 1, 3, dan 5 mg/l, mampu meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas, demikian pula pada tanaman pisang. Tidak semua tanaman memberikan respon proliferasi tunas yang optimal dengan adanya thidiazuron contohnya pada tanaman belimbing Dewi tidak diperoleh adanya peningkatan jumlah tunas, thidiazuron yang ditambahkan cenderung meningkatkan tinggi tunas dan jumlah daun. Komposisi media terbaik untuk multiplikasi tunas pada belimbing Dewi adalah media MS + zeatin 2 mg/l + IAA 0,5 mg/l (Supriati *et al.*, 2006).

Penggunaan Sitokinin untuk Memacu Multiplikasi Tunas pada Beberapa Tanaman

Pembentukan tunas *in vitro* sangat menentukan keberhasilan produksi bibit yang cepat dan banyak. Semakin banyak tunas yang terbentuk akan berkorelasi positif dengan bibit yang dapat dihasilkan melalui kultur jaringan. Dengan demikian untuk memacu faktor multiplikasi tunas yang tinggi diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin. Tunas ganda (tunas majemuk) yang terbentuk secara langsung lebih stabil secara genetik dibandingkan dengan tunas tidak langsung.

Penggandaan tunas pada tanaman berkayu atau tanaman tahunan seperti gaharu, cendana, belimbing,

sukun, dan melinjo pada umumnya memerlukan zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang lebih tinggi berkisar antara 5-10 mg/l, untuk meningkatkan kemampuan proliferasi tunas dan kadang perlu ditambahkan thidiazuron atau auksin seperti IAA dalam konsentrasi yang rendah (0,1-0,3 mg/l). Sebaliknya pada tanaman herba seperti mentha, seruni, dan rami, diperlukan sitokinin seperti BA atau kinetin konsentrasi yang rendah, yaitu berkisar 0,1-1 mg/l. Faktor multiplikasi pada tanaman nilam yang tinggi dapat diperoleh tanpa menggunakan sitokinin (Seswita *et al.*, 1996).

Penggunaan sitokinin dan auksin dalam satu media dapat memacu proliferasi tunas karena adanya pengaruh sinergisme antara zat pengatur tumbuh tersebut (Thorpe, 1987; Davies, 1995). Contohnya pada tanaman obat langka pulasari (*Alyxia stellata*) kombinasi BA dan NAA menghasilkan tunas lebih banyak (Lestari dan Mariska, 1992), tanaman krisan menggunakan kombinasi BA 1 mg/l + GA₃ mg/l diperoleh faktor multiplikasi tunas tertinggi (Karim *et al.*, 2003), dan tanaman tangguh menggunakan kinetin 3 mg/l + IAA 10 mg/l (Lestari *et al.*, 1999).

Penggunaan Auksin untuk Memacu Perakaran

Perakaran dengan kualitas yang baik sangat menentukan keberhasilan dalam tahap aklimatisasi. Untuk itu formulasi media yang tepat sangat menentukan kualitas akar. Pembentukan akar dari tunas *in vitro* pada tanaman tertentu sangat cepat contohnya pada tembakau, mentimun, nilam, dan beberapa kultur lainnya. Akar tersebut dapat dihasilkan pada media yang

sama untuk pertunasan. Namun pada tanaman tertentu pembentukan akarnya sangat sulit sehingga diperlukan media tumbuh baru yang mengandung auksin. Pada tunas *in vitro* pule pandak, lada, vanili, dan lain-lain dapat menghasilkan akar dengan menggunakan IBA atau IAA. Pada tanaman inggu, penggunaan IAA 1 mg/l menghasilkan akar terbanyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada tanaman tangguh menggunakan media MS + NAA 1 mg/l dapat dihasilkan akar (Lestari *et al.*, 1999).

Pembentukan Tunas Adventif dari Eksplan Kalus

Pembentukan tunas dalam kultur jaringan dapat terbentuk secara langsung dan tidak langsung. Tunas adventif yang terbentuk dari kalus umumnya disebut sebagai regenerasi tidak langsung. Pembentukan tunas adventif dari kalus padi *indica* dipengaruhi oleh faktor genetik, sehingga formulasi media untuk masing-masing varietas tidak sama. Alam *et al.* (1998) menggunakan media MS + kinetin 2 mg/l + NAA 0,1 mg/l untuk padi *indica* kultivar Vaidehi. Purnamaningsih (2003) menggunakan media MS + BA 5 mg/l + IAA 0,8 mg/l untuk pembentukan tunas dari kalus padi varietas Rojolele (*Javanica*), pada padi varietas Bengawan Solo dan Cisadane menggunakan media MS + BA 3 mg/l + IAA 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Pada tanaman pule pandak (*Rauwolfia serpentina*), pembentukan tunas dari eksplan kalus dapat diperoleh menggunakan media MS + BA 1 mg/l + zeatin 0,5 mg/l + maltosa 3% (Yunita dan Lestari, 2008).

Pembentukan Embrio Somatik

Konsentrasi dan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan tergantung pada tahapan dalam perkembangan pembentukan embrio somatik. Tahapan dalam proses embriogenesis somatik adalah induksi kalus embriogenik, pendewasaan, perkecambahan, pembentukan kotiledon, dan bibit somatik. Pada tiap tahapan membutuhkan kombinasi auksin dan sitokinin yang berbeda. Pada tanaman cendana menggunakan media MS + 3,44 μ M IBA + 0,44 μ M BA (Alam *et al.*, 1998) pada tanaman pepaya untuk induksi kalus embriogenik adalah media MS + 2,4-D 20 mg/l dan untuk memproduksi embrio somatik dan bibit somatik adalah media MS + BA 0,4 mg/l + kinetin 0,1 mg/l (Hutami *et al.*, 2001). Pada tahap pembentukan embrio fase globular dan hati sering digunakan zat pengatur tumbuh sitokinin seperti benzyl adenin atau yang mempunyai peran fisiologis yang sama, yaitu thidiazuron (Husni *et al.*, 1997) atau 2,4-D dan NAA apabila embrio somatik melalui fase kalus. Pada tahap pendewasaan, konsentrasi sitokinin diturunkan dan untuk tahap perkecambahan sering ditambahkan GA₃ (Mariska *et al.* 2001a, 2001b). Pembentukan embriosomatik pada tanaman cendana dari eksplan embrio somatik dewasa menggunakan media MS + BA 1 mg/l, sedangkan dari eksplan embrio somatik muda menggunakan media MS + BA 2 mg/l. Perkecambahan embrio somatik membentuk tunas menggunakan media MS ½ + GA₃ 5 mg/l (Sukmadjaja, 2005).

KESIMPULAN

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tergantung pada jenis tanaman yang digunakan serta tujuan kegiatan. Untuk pembentukan tunas umumnya menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin (BA atau kinetin), untuk pembentukan kalus menggunakan auksin 2,4-D dan untuk pembentukan akar menggunakan auksin (IAA, IBA, atau NAA).

Pada tanaman tertentu sering pula digunakan kombinasi sitokinin dan auksin tergantung tujuan pembentukan tunas, akar atau kalus. Perimbangan sitokinin terhadap auksin atau sebaliknya dapat mengarahkan proses morfogenesis.

Untuk regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik diperlukan beberapa tahapan dengan menggunakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda. Untuk pembentukan kalus embriogenik umumnya digunakan auksin kuat seperti 2,4-D. Untuk tahap berikutnya konsentrasi auksin diturunkan dan pada tahap pendewasaan digunakan sitokinin.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M., F. Datta, E. Abrigo, A. Vasques, D. Senadhira, and S.K. Datta. 1998. Production of transgenic deep water Indica rice plants expressing a syntetic Bt Cry (B) gene with enhance resistance to YSB. Plant Sci. 35:25-30.
- Davies, P.J. 1995. The plant hormone their nature, occurence and function. In Davies (ed.) Plant Hormone and Their Role in Plant Growth Development. Dordrecht Martinus Nijhoff Publisher.
- Dodds, J.H. and L.R. Roberts. 1982. Experiments in Plants Tissue Culture. Cambridge University Press. Cambridge.
- 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.
- George, E.F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology Exegetic. England. p. 1361.
- George, E.F. and P.D. Sherington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetic. England. 709 p.

- Huetterman, C.A. and J.E. Preece. 1993. Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 33:1050-119.
- Husni, A., E.G. Lestari, dan I. Mariska. 1994. Perbanyakan klonal tanaman obat langka inggu melalui kultur jaringan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*. Bogor, 6-7 September 1994.
- Husni, A., I. Mariska, dan M. Kosmiatin. 1997. Embriogenesis somatik tanaman lada liar. *Makalah Seminar Mingguan Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan*. Bogor, 5 September 1997.
- Hutami, S., I. Mariska, R. Purnamaningsih, M. Herman, D. Damayanti, and I.R. Utami. 2001. Regeneration of papaya (*Carica papaya* L.) through somatic embryogenesis. *Proc of the 2nd. Indonesian Biotechnology Conference*. Indonesian Biotechnology Concorium.
- Karim, M.Z., M.N. Amin, M.A.K. Azad, F. Begum, M.M. Rahman, M.M. Islam, and R. Alan. 2003. Effects of different plant growth regulator on *in vitro* shoot multiplication of *Chrysanthemum morifolium*. *J. Biological Science* 3(6):553-560.
- Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. AkaDemia. 60 hlm.
- Lestari, E.G. dan I. Mariska. 1992. Mikropropagasi tanaman obat langka *Alyxia Stellata*. *Prosiding Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi I*. Puslitbang Bioteknologi LIPI, 11-12 Februari 1992. hlm. 310-316.
- Lestari, E.G. dan R. Purnamaningsih. 1994. Mikropropagasi daun dewa melalui kultur *in vitro*. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VII*. Bogor, 24-25 November 1994.
- Lestari, E.G. dan A. Husni. 1997. Regenerasi tunas adventif dari jaringan batang dan kalus pada tanaman inggu. *Prosiding Simposium Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Bogor 21-23 Nopember 1997. hlm. 58-61.
- Lestari, E.G. dan S. Hutami. 2005. Produksi bibit kencur melalui kultur jaringan. *Berita Biologi* 7(6):315-322.
- Lestari, E.G., D. Seswita, dan I. Mariska. 1991. Pengaruh beberapa zat tumbuh sitokinin (BAP, Kinetin dan 2-ip) pada perbanyakan mikro tanaman rami. *Makalah Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer untuk Industri*. PAU Bioteknologi, IPB 10-11 Desember 1991.
- Lestari, E.G., S. Fatimah, dan I. Mariska. 1994. Perbanyakan generatif tanaman panili melalui kultur *in vitro*. *Buletin Littri* 7:33-38.
- Lestari, E.G., R. Purnamaningsih, dan S. Hutami. 1999. Perbanyakan mikro tanaman tangguh melalui kultur *in vitro*. *Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian*. Bogor, 31 Agustus-1 September 1999.
- Lu, C.Y. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cell Dev. Biol.* 29:92-96.
- Mariska, I. dan E.G. Lestari. 1988. Perbanyakan tanaman krisan melalui teknik kultur jaringan. *Buletin Peragi* 2(1):19-25.
- Mariska, I. dan S.F. Syahid. 1992. Perbanyakan vegetatif melalui kultur jaringan pada tanaman jahe. *Buletin Littri* 4:1-5.
- Mariska, I., E.G. Lestari, dan D. Sukmadjaja. 1987. Multiplikasi tunas tanaman mentha melalui kultur *in vitro*. *Pemb. Littri XII*(3-4):80-84.
- Mariska, I., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan W.H. Adil. 2001a. Regenerasi massa sel embrionik kedelai setelah seleksi pada kondisi Al berbeda dan pH rendah. *Berita Puslitbangtan* 20:1-3.
- Mariska, I., D. Soepandie, S. Hutami, E. Syamsudin, dan M. Kosmiatin. 2001b. Peningkatan ketahanan terhadap Al pada tanaman kedelai melalui kultur *in vitro*. *Laporan Riset Unggulan Terpadu VIII*. Kantor Menristek dan LIPI Jakarta.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publisher. London. 344 p.
- Poonsapaya, P.M.W, Nabors, W. Kersi, and M. Vajrabhaya. 1989. A comparison of methods for callus culture and plant regeneration of RD-25 rice (*Oryza sativa* L.) *in vitro* laboratoris. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 16:175-186.
- Purnamaningsih, R. 2003. Seleksi *in vitro* tanaman padi untuk ketahanan terhadap aluminium. *Thesis S2*. Intitut Pertanian Bogor. 59 hlm.
- Purnamaningsih, R. dan E.G. Lestari. 1998. Multiplikasi tunas temu giring melalui kultur *in vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* 1(5):24-27.
- Roostika, I., N. Suarlim, dan I. Mariska. 2005. Mikropropagasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana*). *Jurnal AgroBiogen* 1(1):20-25.
- Sankhla, D., D. Tim, and N. Sankhla. 1996. *In vitro* regeneration of silk tree (*Albizia julibrissin*) from excised roots. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 44:83-86.
- Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, and M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic and biotechnology effects of growth regulators on *in vitro* plant regeneration. *Crop Sci.* 44:1839-1846.
- Seswita, D., I. Mariska, dan E.G. Lestari. 1992. Perbanyakan mikro tanaman penghasil insektisida alami pyrethrum. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi*. Bogor, 11-12 Februari 1992. hlm. 303-309.
- Seswita, D., I. Mariska, dan E.G. Lestari. 1993. Perbanyakan tanaman obat langka *Rauwolfia serpentina* melalui kultur jaringan. *Buletin Littri* 6:5-9.
- Seswita, D., I. Mariska, dan E.G. Lestari. 1994. Aplikasi kultur jaringan untuk perbanyakan klonal tanaman kencur. *Makalah dalam Seminar Nasional VI Tumbuhan Obat Indonesia*. Bandung, 2-3 Februari 1994.
- Seswita, D., I. Mariska, dan E.G. Lestari. 1996. Mikropropagasi nilam penampakan khimera hasil radiasi pada kalus. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. Jakarta, 9-10 Januari 1996.

- Singha, S. and S.K. Bathia. 1988. Shoot proliferation of pear culture on medium containing thidiazuron and benzyl aminopurine. Hort. Sci. 23:803-806.
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis somatik langsung pada tanaman cendana. Jurnal Bioteknologi Pertanian 10(1):1-6.
- Sukmadjaja, D. dan I. Mariska. 1991. Regenerasi tanaman lada melalui kultur jaringan. Prosiding Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer. Bogor, 10-11 Desember 1991.
- Supriati, Y., I. Mariska, dan S. Hutami. 2005. Mikropropagasi sukun (*Artocarpus communis* Forst). Tanaman sumber karbohidrat alternatif. Berita Biologi 7(4):207-214.
- Supriati, Y., I. Mariska, dan Mujiman. 2006. Multiplikasi tunas belimbing Dewi (*Averhoa carambola*) melalui kultur *in vitro*. Buletin Plasma Nutfah 12(2):50-55.
- Thorpe, T.A. 1987. Micropropagation of softwood and hard woods. Proceeding of the Seminar on Tissue Culture of Forest Species. Kualalumpur, 15-18 Juni.
- Van Niewkerk, J.P., R.H. Zimmerman, and I. Fordhan. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. Hort. Sci. 21:516-518.
- Winata, L. 1987. Teknik Kultur Jaringan. PAU Bogor. 252 hlm.
- Yunita, R. dan E.G. Lestari. 2008. Induksi kalus dan regenerasi tunas pule pandak (*Rauwolfia serpentina* L.). Berita Biologi 9(1) 91-97.
- Zaer and Mapes. 1982. Action of growth regeneration. In Bonga and Durzan (eds.) Tissue Culture in Forestry. Martinus Nijhoff London. p. 231-235.
-