

APLIKASI VARIASI KONSENTRASI MEDIA MS DAN THIDIAZURON PADA INDUKSI KALUS PUCUK JATI (*Tectona grandis*) SECARA *IN VITRO*

Application of MS media and Thidiazuron Concentration Variations on In Vitro Callus Induction of Teak (*Tectora grandis*)

Mirza Arsiaty Arsyad*

Email: mirzaaarsyad@gmail.com

Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo
Kampus Hijau Bumi Tridharma, Anduonohu, Kec. Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara 93232

Nur Reski Immalasari

Email: rezkyimmalasari@gmail.com

Prodi Kehutanan Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon,
Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan KM 12, Tamalanrea Makassar Sulawesi Selatan 90245

Siti Halimah Larekeng

Email: sitih5h.82@gmail.com

Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon,
Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan KM 12, Tamalanrea Makassar Sulawesi Selatan 90245

ABSTRAK

Jati (*Tectona grandis*) merupakan salah satu spesies pohon unggulan Indonesia yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan konsentrasi terbaik media Murashige dan Skoog (MS) dan Thidiazuron (TDZ) untuk menginduksi kalus jati secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi media MS terdiri dari ½ MS dan MS konsentrasi penuh. Faktor kedua adalah konsentrasi TDZ terdiri atas lima taraf, yaitu 1, 2, 3, 4, and 5 ppm. Media terbaik yang diperoleh adalah media M2T2 (½ MS + 2 ppm TDZ) yang berhasil membentuk kalus kompak berwarna putih kekuningan dan hijau keputihan di seluruh eksplan dalam waktu 16.5 hari dan tingkat pencokelatan eksplan sebesar 55%. Seluruh media yang dievaluasi dapat digunakan dalam menginduksi kalus pada jati secara *in vitro*.

Kata kunci: *kalus; media Murashige dan Skoog; Tectona grandis; thidiazuron; jati.*

ABSTRACT

Teak (Tectona grandis) is one of the leading tree species in Indonesia with a very high economic value. This study's objective was to determine the proper concentration of Murashige and Skoog (MS) media, and Thidiazuron (TDZ) for in vitro callus induction of T. grandis shoots. The design used was a Completely Randomized Design (CRD) factorial experiment. The first factor was the concentrations of MS media (1/2MS and MS full

strength). The second one was TDZ concentrations consisted of five levels, i.e 1, 2, 3, 4, and 5 ppm. The best medium observed was M2T2 ($\frac{1}{2}$ MS + 2 ppm TDZ), which successfully induced yellowish-white and whitish-green compact calli on all evaluated explants in 16,25 days with 55% of browning explants. Overall, the media being assessed can be used for callus induction on *T. grandis* shoots.

Keywords: callus; Murashige and Skoog media; *Tectona grandis*; thidiazuron; teak.

PENDAHULUAN

Jati (*Tectona grandis* L. f.) merupakan salah satu jenis pohon unggulan di Indonesia yang memiliki nilai ekonomi tinggi dengan tingkat permintaan semakin meningkat dari tahun ke tahun. Keunggulan utama dari spesies ini terletak pada struktur kayu yang indah. Jenis ini memiliki beberapa sifat-sifat unggul lainnya yaitu daya tahan, kekuatan, dan stabilitas yang tinggi serta resisten terhadap hama, bahan kimia dan air (Yasodha dkk., 2018). Pohon ini juga telah dimanfaatkan sebagai bahan baku konstruksi, obat tradisional (Degbe dkk., 2018; Nidavani & Am, 2014), penyerap polutan (Mashkooor & Nasar, 2019), dan pewarna tekstil (Satria & Suheryanto, 2016). Jati di Indonesia telah terdistribusi secara alami di seluruh pulau Jawa, Muna, dan beberapa pulau kecil di sekeliling pulau Jawa dan memiliki karakter morfologi dan fisiologi yang berbeda (Larekeng dkk., 2019; Widiyanto dkk., 2005).

Permintaan kayu jati selalu mengalami peningkatan baik dari dalam maupun luar negeri. Berbeda dengan peningkatan permintaan akan kayunya, populasi dan pasokan jati malah semakin berkurang akibat siklus umur panen yang relatif panjang (sekitar 45 tahun) dan persediaan bibit unggul yang semakin terbatas. Perbanyakan tanaman ini umumnya dilakukan secara konvensional

melalui biji atau bagian vegetatif, seperti stek atau sambungan. Untuk menyediakan bibit dalam jumlah banyak, metode ini sulit untuk dilakukan. Oleh sebab itu, dibutuhkan suatu metode yang dapat menghasilkan bibit dalam waktu relatif singkat dan dalam jumlah besar (*mass propagation*).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk memenuhi permintaan bibit unggul jati adalah melalui teknik kultur jaringan (microporagasi secara *in vitro*). Kultur jaringan adalah suatu teknik propagasi bagian tanaman dalam lingkungan aseptik yang bebas dari mikro-organisme. Metode ini telah diaplikasikan pada berbagai tanaman kehutanan, seperti *Arenga pinnata* (Arsyad dkk., 2013), *Khaya senegalensis* (Darwesh dkk., 2017), *Pinus tecunumanii* (Zanella dkk., 2018), Jabon Merah (Batti dkk., 2020), dan jati. Teknik ini juga dilakukan untuk tujuan tertentu, di antaranya perbanyakan massal untuk sektor industri (Mendoza dkk., 2007).

Pada kultur jaringan dikenal istilah kalus yang merupakan kumpulan sel yang belum mengalami differensiasi. Kalus dapat terdiri dari sel-sel embrionik yang memiliki kemampuan untuk tumbuh menjadi tanaman utuh atau dapat terdiri dari primordial tunas dan akar, merupakan tahap awal dari perkembangan organ dan sel (Kyte dkk., 2013). Kumpulan sel ini umumnya terbentuk akibat adanya pelukaan (irisasi) atau akibat stress dan

dapat diinisiasi pada sebagian besar bagian tanaman, namun kemampuan dan kecepatan dalam menginduksi kalus berbeda.

Induksi kalus dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah besar baik melalui organogenesis tidak langsung maupun melalui embryogenesis somatik. Beberapa faktor penentu dari keberhasilan induksi kalus adalah bagian tanaman yang dikulturkan (eksplan), umur fisiologis tanaman sumber eksplan, media kultur jaringan, serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan. Salah satu media dasar dan ZPT yang sering digunakan dalam induksi kalus yaitu media dasar Murashige dan Skoog (MS) dan ZPT Thidiazuron (TDZ) yang merupakan golongan ZPT sitokinin.

Media dasar MS dan TDZ telah digunakan untuk menginduksi kalus pada berbagai tanaman, antara lain *Lycium barbarum* (Karakas, 2020), *Parasponia andersonii* (Knyazev dkk., 2018), *Crocus sativus* L (Moradi dkk., 2018), dan tanaman obat (Deepa dkk., 2018). Induksi kalus pada jati dengan pemanfaatan media MS dan penambahan TDZ dapat menjadi salah satu solusi untuk memperoleh bibit unggul yang dibutuhkan dalam memenuhi permintaan pasar. Oleh sebab itu, penelitian ini diarahka pada induksi kalus melalui eksplan pucuk jati menggunakan kombinasi beberapa konsentrasi media dasar MS dan ZPT TDZ secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Eksplan yang digunakan adalah pucuk jati dari bibit jati yang diperoleh dari Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah 2 Sulawesi. Media dasar

yang digunakan berupa media dasar Murashige dan Skoog (MS) dengan konsentrasi penuh (MS) dan konsentrasi setengah ($\frac{1}{2}$ MS). Bahan lain yang digunakan ialah Thidiazuron, tween 80, Bakterisida Agrept 20WP, Fungisida Masalgin 50WP, aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96%, NaOH 1 N, HCL 1 N, spiritus, larutan pemutih komersil 20%, label, plastik wrapping, karet gelang, korek api dan tissue.

Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan prosedur, yaitu (1) eksplan pucuk berukuran ± 3 cm dipotong dari bibit jati; (2) potongan pucuk tersebut disimpan dalam wadah yang berisi akuades steril yang telah ditambahkan tween 80 untuk melembutkan permukaan pucuk; (3) sterilisasi pucuk jati dilakukan melalui dua tahap yaitu di luar Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dan di dalam LAFC.

1) Sterilisasi di luar LAFC;

- (a) Daun pada pucuk dipotong dan dicuci di bawah air mengalir.
- (b) Eksplan pucuk selanjutnya direndam dalam akuades steril 100 ml ditambahkan 2 tetes tween 80 selama 20 menit.
- (c) Setelah direndam di dalam larutan tween 80, eksplan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
- (d) Pucuk kemudian direndam dalam larutan bakterisida Agrept 6% (0,6 g Agrept dilarutkan dalam 100 ml akuades steril) ditambah 2 tetes tween 80 selama 60 menit.
- (e) Setelah direndam, pucuk selanjutnya dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali, selanjutnya

jutnya pucuk kembali direndam dalam larutan fungisida Masalgin 6% (0,6 g Masalgin dilarutkan dalam 100 ml akuades steril) ditambah 2 tetes tween 80 selama 60 menit.

- (f) Pucuk lalu kembali dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.

2) Sterilisasi di dalam LAFC:

- (a) Pucuk direndam dalam larutan alkohol 70% yang telah ditambahkan 2 tetes tween 80 selama 1 menit dan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
- (b) Pucuk kembali direndam dalam larutan pemutih komersil 20% ditambah 2 tetes tween 80 selama 10 menit, selanjutnya pucuk dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
- (c) Pucuk direndam kembali dalam larutan pemutih komersil 10% ditambah 2 tetes tween 80 selama 7 menit dan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali.
- (d) Pucuk selanjutnya diletakkan di dalam cawan petri dan ujung pucuk yang memutih dipotong menggunakan pisau skalpel steril.
- (e) Pucuk yang berukuran ± 1 cm diletakkan di atas kertas saring dalam cawan petri yang bertujuan untuk mengeringkan residu cairan sterilisasi.
- (f) Setelah kering, eksplan pucuk siap untuk ditanam pada media perlakuan.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini disusun dalam Faktorial Rancangan Acak Lengkap yang

terdiri dari faktor pertama adalah media dasar (M), media dasar yang digunakan adalah Media Murashige dan Skoog konsentrasi penuh (M1), dan Media Murashige dan Skoog konsentrasi setengah (M2). Faktor kedua adalah konsentrasi Thidiazuron (T), terdiri atas lima taraf, yaitu Thidiazuron (TDZ) 1 ppm (T1), Thidiazuron (TDZ) 2 ppm (T2), Thidiazuron (TDZ) 3 ppm (T3), Thidiazuron (TDZ) 4 ppm (T4), dan Thidiazuron (TDZ) 5 ppm (T5). Seluruh kombinasi perlakuan berjumlah 15 dan setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali. Setiap ulangan terdiri atas satu botol pengamatan. Setiap botol pengamatan ditanam satu eksplan, sehingga seluruh satuan pengamatan berjumlah 75 pengamatan.

Variable Pengamatan

Pengamatan dilakukan 60 hari setelah tanam (HST). Khusus untuk waktu terbentuk tunas, pengamatan dilakukan setiap hari sampai 60 HST. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif menggunakan diagram batang dan tabel rekapitulasi. Variabel yang diamati meliputi:

- 1) Rata-rata waktu terbentuk kalus (HST), dilakukan dengan menghitung hari terbentuk kalus pada setiap eksplan di setiap perlakuan.
- 2) Warna dan tekstur kalus.
- 3) Persentase eksplan berkalus (%), dihitung menggunakan menggunakan Persamaan 1.

$$\frac{\sum \text{Eksplan berkalus setiap perlakuan}}{\sum \text{Total eksplan yang ditanam}} \times 100 \text{ --- (1)}$$

- 4) Persentase eksplan pencokelatan (%), dilakukan dengan menggunakan Persamaan II.

$$\frac{\sum \text{Eksplan pencokelatan}}{\sum \text{Total eksplan yang ditanam}} \times 100 \text{ -- (2)}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-Rata Waktu Terbentuk Kalus

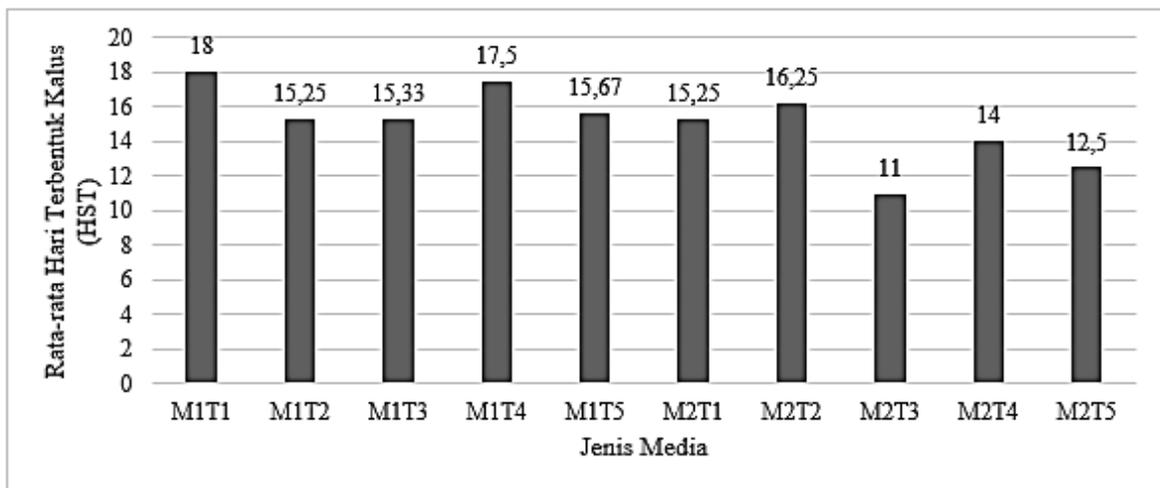
Pengamatan terbentuknya kalus dinyatakan dalam hari setelah tanam (HST) yang dilakukan setiap 2 hari. Pembentukan kalus diawali oleh kemunculan benjolan berwarna putih pada bagian tengah pangkal eksplan dan ukuran benjolan semakin bertambah setiap harinya. Seiring dengan perkembangan kalus, eksplan juga mengalami pembengkakan dimana pada beberapa eksplan menyebabkan patahan di salah satu tangkainya.

Pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa seluruh kombinasi media dapat membentuk kalus. Media M2T3 (½ MS + TDZ 3 ppm) membentuk kalus tercepat dibandingkan media lain (11 HST), sedangkan media M1T1 (MS + TDZ 1 ppm) dengan waktu pembentukan 18 hari merupakan waktu pembentukan kalus terlama (Gambar 1). Hasil ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Raza

dkk. (2020), melaporkan bahwa induksi kalus terbaik pada *Solanum lycopersicum* menggunakan media ½ MS dibandingkan media MS. Selain itu, jaringan eksplan yang dikulturkan didominasi oleh jaringan meristematik yang aktif memproduksi auksin endogen sehingga auksin yang terkandung dalam jaringan cukup tinggi untuk berinteraksi dengan TDZ dalam menginduksi pembelahan sel dan proliferasi kalus. Pernyataan serupa dilaporkan oleh Patma dkk. (2013), bahwa jaringan tanaman, berupa tunas, daun muda dan buah, memiliki jaringan meristematik yang aktif memproduksi hormone auksin endogen.

Warna dan Tekstur Kalus

Terdapat variasi pada warna kalus yang terbentuk, yaitu putih kekuningan dan hijau keputihan, sedangkan keseluruhan kalus bertekstur kompak yang diamati hingga akhir pengamatan (56 HST) (Tabel 1). M1T1, M1T4, M1T5, dan M2T4 hanya memiliki satu warna kalus yaitu putih

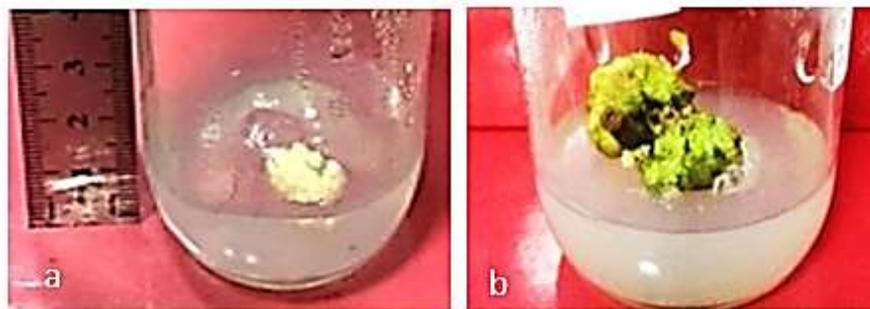


Keterangan: Murashige dan Skoog konsentrasi penuh (M1); Murashige dan Skoog konsentrasi setengah (M2); TDZ 1 ppm (T1); TDZ 2 ppm (T2); TDZ 3 ppm (T3); TDZ 4 ppm (T4); dan TDZ 5 ppm (T5).

Gambar 1. Rata-rata waktu terbentuk kalus (HST) pada media kombinasi MS dan TDZ pucuk jati secara *in vitro*.

Tabel 1. Warna dan tekstur kalus pada kultur jaringan pucuk jati pada konsentrasi media MS dan TDZ.

Media MS	Media TDZ	Warna Kalus	Tipe kalus
Full	1 ppm	Putih kekuningan	Kompak
	2 ppm	Putih kekuningan dan hijau keputihan	Kompak
	3 ppm	Putih kekuningan dan hijau keputihan	Kompak
	4 ppm	Putih kekuningan	Kompak
	5 ppm	Putih kekuningan	Kompak
½ MS	1 ppm	Putih kekuningan dan hijau keputihan	Kompak
	2 ppm	Putih kekuningan dan hijau keputihan	Kompak
	3 ppm	hijau keputihan	Kompak
	4 ppm	Putih kekuningan	Kompak
	5 ppm	Putih kekuningan dan hijau keputihan	Kompak



Gambar 2. Warna Kalus. a) putih kekuningan, b) hijau keputihan.

kekuningan, sedangkan M2T3 hanya menghasilkan warna kalus hijau keputihan. Selain itu, terdapat juga media-media yang membentuk kalus yang memiliki dua warna (putih kekuningan dan hijau keputihan) yaitu media M1T2, M1T3, M2T1, M2T2, dan M2T5. Seluruh media yang digunakan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada warna kalus yang dihasilkan. Warna kalus yang dihasilkan menggunakan media MS dan TDZ ditunjukkan pada Gambar 2.

Warna kalus yang dihasilkan menggunakan konsentrasi media MS dan TDZ yang berbeda pada induksi kalus jati diperoleh dua warna yang berbeda (Gambar 2). Kalus berwarna hijau berhubungan dengan kandungan klorofil yang terkandung dalam kalus dan pencahayaan

yang diberikan selama pembentukan kalus, sedangkan kalus berwarna keputihan merupakan plastid dengan kandungan butiran pati. Warna kalus serupa juga dilaporkan oleh Idris dan Paserang (2019), yaitu pada induksi kalus kentang Dombu yang menghasilkan kalus berwarna putih kehijauan dan putih kekuningan. Menurut Afshari dkk. (2011), bahwa sitokinin cenderung menginduksi pembentukan klorofil pada kalus. Wahyuningtyas (2014), menambahkan bahwa sitokinin dapat menginduksi warna hijau keputihan pada kalus karena sitokinin berperan sebagai inhibitor dalam proses senesensi sel yang menghambat perombakan butiran klorofil dan protein sel.

Seluruh media yang digunakan



Gambar 3. Tekstur Kalus Kompak pada Media MS dan TDZ.

menghasilkan kalus bertekstur kompak (Gambar 3). Pembentukan tekstur kompak ini dapat dilihat dari benjolan-benjolan seperti tumor dengan tekstur padat dan kuat yang muncul pada permukaan eksplan. Royani dkk. (2015), mendeskripsikan bahwa kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel nodular berstruktur padat dan mengandung cukup banyak air. Indah dan Ermavitalini (2013), menyatakan kalus bertekstur kompak diinduksi oleh hormon auksin endogen yang terkandung dalam eksplan. Leupin dkk. (2000), menambahkan bahwa kalus kompak merupakan materi terbaik untuk regenerasi planlet.

Persentase Eksplan Berkalus

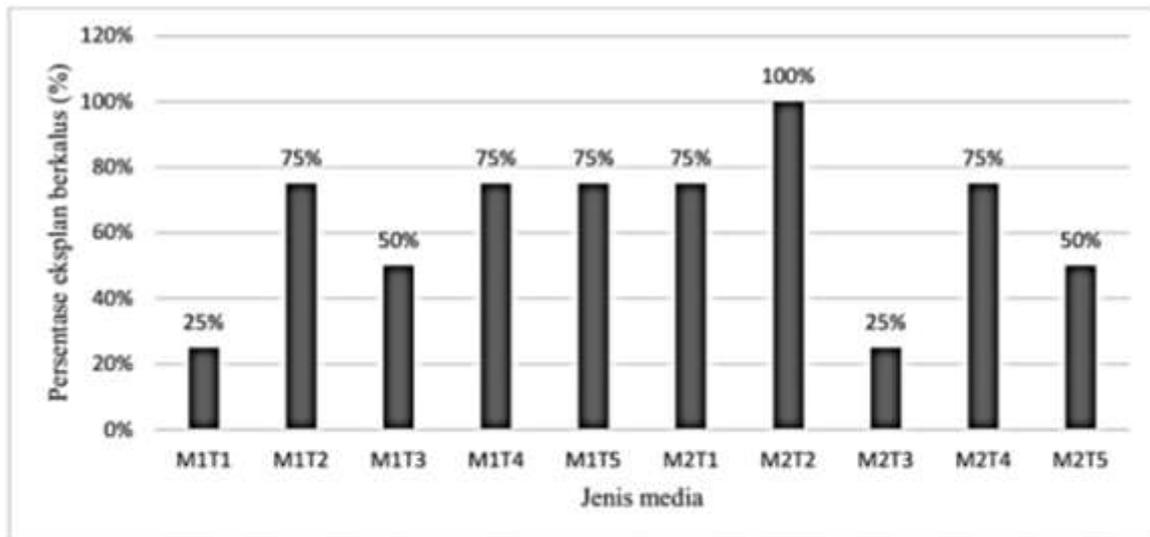
Pengamatan pada persentase eksplan berkalus menunjukkan bahwa semua media dapat menginduksi pembentukan kalus pada pucuk jati. Persentase eksplan berkalus tertinggi terdapat pada media M2T2, yaitu 100%, dan terendah pada media M1T1 dan M2T3, yaitu 25%. Media M1T2, M1T4, M1T5, M2T1, dan M2T4 masing-masing memperoleh persentase eksplan berkalus sebesar 75%, sedangkan media M1T3 dan M2T5 masing-masing memiliki persentase sebesar 50% (Gambar 4).

TDZ 2 ppm cenderung membentuk kalus lebih baik dibandingkan

konsentrasi TDZ yang lain, sedangkan media $\frac{1}{2}$ MS dan MS cenderung memiliki kemampuan yang sama dalam membentuk kalus pada pucuk jati (Gambar 4). Hasil ini berbeda dengan studi oleh Afshari dkk. (2011) pada *Brassica napus* yang melaporkan bahwa media MS lebih efektif dalam menginduksi kalus dibandingkan media $\frac{1}{2}$ MS. Penelitian ini membuktikan bahwa pucuk jati dapat membentuk kalus hanya dengan menggunakan media MS dengan konsentrasi setengah dan cenderung sama baiknya dengan media MS konsentrasi penuh. Selain itu, hal ini mengindikasikan bahwa pucuk jati hanya membutuhkan media sederhana untuk menginduksi pembentukan kalus.

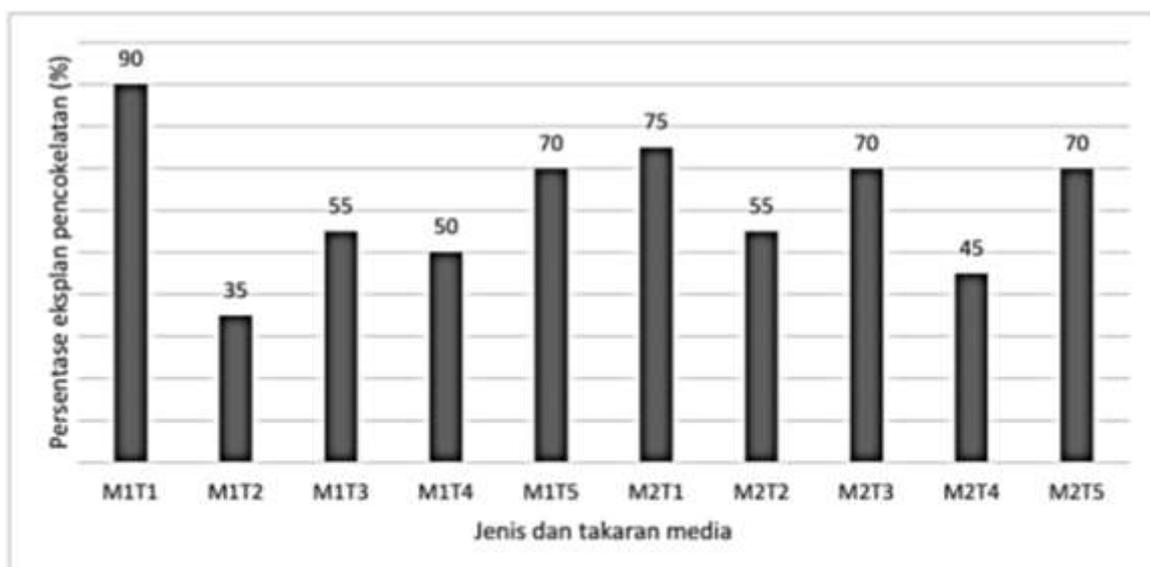
Persentase Eksplan Pencokelatan (*Browning*)

Eksplan yang ditanam pada media M1T1 (full MS dan TDZ 1 ppm) memiliki persentase pencokelatan tertinggi sebesar 90%, sedangkan media M1T2 (full MS dan TDZ 2 ppm) memperoleh persentase eksplan pencokelatan terendah, yaitu 35% (Gambar 5). Pencokelatan yang terjadi dalam penelitian ini mulai terlihat sesaat setelah pemotongan pucuk jati yang akan digunakan sebagai eksplan dari pohon induk. Selama proses sterilisasi eksplan, browning dapat dicegah dengan membasuh eksplan. Namun pencokelatan



Keterangan: Murashige dan Skoog konsentrasi penuh (M1); Murashige dan Skoog konsentrasi setengah (M2); TDZ 1 ppm (T1); TDZ 2 ppm (T2); TDZ 3 ppm (T3); TDZ 4 ppm (T4); dan TDZ 5 ppm (T5).

Gambar 4. Persentase eksplan berkalus (%) pucuk jati pada media kombinasi MS dan TDZ secara in vitro.



Keterangan: Murashige dan Skoog konsentrasi penuh (M1); Murashige dan Skoog konsentrasi setengah (M2); TDZ 1 ppm (T1); TDZ 2 ppm (T2); TDZ 3 ppm (T3); TDZ 4 ppm (T4); dan TDZ 5 ppm (T5).

Gambar 5. Persentase eksplan pencokelatan (%) pucuk jati pada media kombinasi MS dan TDZ secara in vitro.

kembali terlihat pada permukaan eksplan hanya berselang 1 jam setelah penanaman pada media.

Umumnya seluruh media yang

digunakan masih menunjukkan pencokelatan pada eksplan dengan persentase 35 - 90%. Ini dimungkinkan karena jati mengandung senyawa fenolik yang tinggi

dan akan teroksidasi jika terjadi pelukaan, sehingga menyebabkan pencokelatan pada eksplan yang digunakan. Meskipun demikian, pada penelitian ini pembentukan kalus masih dapat terjadi meskipun terjadi pencokelatan pada sebagian besar eksplan. Keberhasilan induksi jati juga dilaporkan oleh Srinivasan dkk. (2012) menggunakan media BAP dan Kinetin. Namun pada penelitian tersebut kalus tidak dapat terbentuk pada media dengan penambahan 0.5-1 mg/L BAP akibat pencokelatan eksplan.

Pencokelatan merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan jati. Pada penelitian ini pencokelatan yang terjadi cenderung tidak berdampak negatif pada pembentukan kalus, namun dikhawatirkan apabila waktu inkubasi ditambah maka pencokelatan akan mempengaruhi keberhasilan pembentukan kalus. Kalus yang semula berwarna putih dan/atau hijau akan berubah menjadi kecokelatan yang menjadi ciri bahwa metabolisme yang terjadi dalam kalus tersebut terhenti (mati). Oleh sebab itu, diperlukan penelitian lanjutan yang mengkaji mengenai pengendalian pencokelatan pada kultur jaringan jati.

KESIMPULAN DAN SARAN

Media terbaik untuk induksi kalus jati melalui eksplan pucuk adalah media dengan konsentrasi $\frac{1}{2}$ MS + 2 ppm TDZ dengan persentase eksplan berkalus sebesar 100%. Selain itu kombinasi media ini membentuk kalus rata-rata 16,25 hari, kalus berwarna putih kekuningan dan hijau keputihan, bertekstur kompak, dan terjadi 55% pencokelatan eksplan. Sedangkan media yang menghasilkan

pembentukan kalus terendah adalah media 1 MS + 1 ppm TDZ dan $\frac{1}{2}$ MS + 3 ppm TDZ, yaitu sebesar 25% dengan rata-rata terbentuk kalus 18 dan 11 hari. Kalus yang terbentuk pada media $\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm TDZ berwarna putih kekuningan dengan persentase browning sebesar 90%, sedangkan pada media $\frac{1}{2}$ MS + 3 ppm kalus berwarna hijau keputihan dan persentase browning sebesar 70%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afshari, R. T., Angoshtari, R., & Kalantari, S. (2011). Effects of light and different plant growth regulators on induction of callus growth in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes. *Plant Omics J*, 4(2), 60-67.
- Arsyad, M. A., Sudarsono, Purwito, A., & Dinarti, D. (2013). Pengaruh umur embrio dan jenis media dasar terhadap keberhasilan *embryo rescue* aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) secara *in vitro*. *Buletin Palma*, 14(1), 20-27.
- Batti, J. R., Larekeng, S. H., Arsyad, M. A., Gusmiaty, & Restu, M. (2020). *In vitro* growth response on three provenances of Jabon Merah based on auxin and cytokinin combinations. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 486(012088), 1-16.
- Darwesh, M. A., Naser, A. A., Habba, E. E., Taha, L. S., Gabr, A. M. M., & El-Assaly, R. M. B. (2017). *In vitro* Propagation Protocol for Improving African Mahogany (*Khaya senegalensis*) Endangered Tree. *Journal of Biological Sciences*, 17, 235-246.
- Deepa, A. V., Anju, M., & Thomas, T. D. (2018). *The applications of TDZ*

- in medicinal plant tissue culture*. in Thidiazuron: from urea derivative to plant growth regulator, edited by Naseem Ahmad and Mohammad Faisal, 1st ed., 297–316. Springer Singapore.
- Degbe, M., Debierre-Grockiego, F., Tété-Bénissan, A., Débare, H., Aklikokou, K., Dimier-Poisson, I., & Gbeassor, M. (2018). Extracts of *Tectona grandis* and *Vernonia amygdalina* have anti-toxoplasma and pro-inflammatory properties in vitro. *Parasite*, 25(11).
- Idris, S. R. L. R., & Paserang, A. P. (2019). Induksi kalus tanaman kentang dombu (*Solanum tuberosum* L.) secara in vitro dengan pemberian ZPT 2,4-D (Dichlorophenoxy Acetic Acid). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 8(2), 110–115.
- Indah, P. N., & Ermavitalini, D. (2013). Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Sains dan Seni Pomits*, 2(1), 1–6.
- Karakas, F. P. (2020). Efficient plant regeneration and callus induction from nodal and hypocotyl explants of Goji Berry (*Lycium barbarum* L.) and comparison of phenolic profiles in calli formed under different combinations of plant growth regulators. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146 (pp. 384–391).
- Knyazev, A., Kuluev, B., Vershinina, Z., & Chemeris, A. (2018). Callus induction and plant regeneration from leaf segments of unique tropical woody plant *Parasponia andersonii* Planch. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 28(1), 45–55.
- Kyte, L., Kleyn, J., Scooggins, H., & Bridgen, M. (2013). *Plants from test tubes an introduction to micropropagation*. 4th ed. Portland, London: Timber Press.
- Larekeng, S. H., Gusmiaty, Restu, M., Arsyad, M. A., & Dermawan, R. (2019). Morphophysiological analyses on teak (*Tectona grandis* Linn. F.) from three provenances. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 235(012048), 1-12.
- Leupin, R. E., Leupin, M., Ehret, C., Erismann, K. H., & Witholt, B. (2000). Compact callus induction and plant regeneration of a non-flowering vetiver from Java. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62(2), 115–123.
- Mashkoo, F., & A. Nasar. (2019). Polyaniline/*Tectona grandis* sawdust: a novel composite for efficient decontamination of synthetically polluted water containing crystal violet dye. *Groundwater for Sustainable Development*, 8 (390–401).
- Mendoza, D. G., Emilio, Royani, J. I., & Rugini, E. (2007). Efficient method of micropropagation and in vitro rooting of teak (*Tectona Grandis* L.) focusing on Large-Scale Industrial Plantations. *Annals of Forest Science*, 64(1), 73–78.
- Moradi, A., Zarinkamar, F., Caretto, S., & Azadi, P. (2018). Influence of Thidiazuron on callus induction and Crocin production in corm and style explants of *Crocus sativus* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(185), 1-8.
- Nidavani, R. B., & Am, M. (2014). Teak (*Tectona grandis* Linn.): a renowned timber plant with

- potential medicinal values. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 48–54.
- Patma, U., Putri, L. A. P., & Siregar, L. A. M. (2013). Respon media tanam dan pemberian auksin asam asetat naftalen pada pembibitan aren (*Arenga pinnata* Merr). *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 1(2), 286–295.
- Raza, M. A., Nawaz, A., Ali, M., Zaynab, M., Muntha, S. T., Zaidi, S. H. R., ... & Zheng, X. (2020). In-vitro regeneration and development for the conservation and propagation of tomato plant (*Solanum lycopersicum*) and currant tomato (*S. pimpinellifolium*) from two different explants. *Applied Ecology And Environmental Research*, 18(1), 879-888.
- Royani, I., Zulkifli, L., & Sedijani, P. (2015). Induksi kalus kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) varietas kelinci dengan perlakuan 2,4-D dan BAP. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 1(2), 70-76.
- Satria, Y., & Suheryanto, D. (2016). Pengaruh temperatur ekstraksi zat warna alam daun jati terhadap kualitas dan arah warna pada batik. *Dinamika Kerajinan Dan Batik*, 33(2), 101.
- Srinivasan, R., Selvam, G. G., Karthikeyan, K., Chandran, C., Kulothungan, S., & Govindasamy, C. (2012). In vitro propagation of shoot and callus culture of *Tectona grandis* (L.). *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 7(1), 26–29.
- Wahyuningtyas, L. (2014). Induksi kalus akasia (*Acacia mangium*) dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP pada media MS. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Widiyanto, S. N., Erytrina, D., & Rahmania, H. (2001, November). Adventitious shoot formation on Teak (*Tectona grandis* Lf) callus cultures derived from internodal segments. *In II International Symposium on Biotechnology of Tropical and Subtropical Species* 692 (pp. 153-158).
- Yasodha, R., Vasudeva, R., Balakrishnan, S., Sakthi, A. R., Abel, N., Binai, N., ... & Dev, S. A. (2018). Draft genome of a high value tropical timber tree, Teak (*Tectona grandis* L. f): insights into SSR diversity, phylogeny and conservation. *DNA Research*, 25(4), 409-419.
- Zanella, L. B., Franciscon, L., Grunennvaldt, R. L., Tomasi, J. D. C., & Degenhardt-Goldbach, J. (2018). Micropropagation of *Pinus tecunumanii*. *Ciencia Florestal*, 28(2), 651-660.