

Induksi Kalus Sorgum Sorgum (*Sorghum bicolor* L.) Pada Kombinasi 2,4-D dan BAP Secara In Vitro

Faradillah Febri Dwi Yanti¹, Rudi Wardana²

¹Program Studi Teknologi Produksi Tanaman Pangan Politeknik Negeri Jember

E-mail: febrifaradillah@gmail.com

Informasi Artikel

Jurnal Javanica
<https://jurnal.poliwangi.ac.id/index.php/javanica>

E-ISSN 2963-8186

<https://doi.org/10.57203/javanica.v2i2.2023.72-80>

Draft awal 20 Juni 2023

Revisi 27 Desember 2023

Diterima 29 Desember

Diterbitkan oleh
Jurnal Javanica
Program Studi Agribisnis
Politeknik Negeri Banyuwangi

ABSTRAK

Sorghum merupakan tanaman pangan jenis sereal yang berpotensi untuk dikembangkan. Namun, terdapat permasalahan dalam keragaman genetik dan kurang tersedianya varietas unggul membuat proses pengembangannya menjadi terhambat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil induksi kalus tanaman sorgum pada pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP. Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan faktor pertama yaitu konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 1 mg/L (A₁) dan 2 mg/L (A₂), sedangkan faktor kedua yaitu konsentrasi BAP yang terdiri dari 1 mg/L (B₁), 1,5 mg/L (B₂), 2 mg/L (B₃), dan 2,5 mg/L (B₄). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan 2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP memberikan hasil terbaik pada kedinian muncul kalus (6 HSI) dan kualitas kalus. Sedangkan pada variabel diameter kalus, kombinasi 2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP menjadi perlakuan terbaik dengan diameter kalus sebesar 6,33 cm.

Kata kunci: 2,4 diklorofenoksiasetat, benzil adenin purin, kalus

Abstract

Sorghum is a cereal food crop that has the potential to be developed. However, there are problems in genetic diversity and the lack of availability of superior varieties hampers the development process. This study aims to determine the results of callus induction of sorghum plants on the administration of a combination of growth regulators 2,4-D and BAP. The experiment was carried out using a completely randomized factorial design with the first factor being the concentration of 2,4-D consisting of 1 mg/L (A₁) and 2 mg/L (A₂), while the second factor was the concentration of BAP consisting of 1 mg/L (B₁), 1.5 mg/L (B₂), 2 mg/L (B₃), and 2.5 mg/L (B₄). The results showed that the combination treatment of 2 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP gave the best results on early callus appearance (6 DSI) and callus quality. Whereas in the callus diameter variable, the combination of 2 mg/L 2,4-D + 2.5 mg/L BAP was the best treatment with a callus diameter of 6.33 cm.

Keywords: 2,4 diklorofenoksiasetat, benzil adenin purin, callus

I. PENDAHULUAN

Tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L.) merupakan jenis tanaman pangan serealia dengan keunggulan yang berlimpah serta memiliki potensi untuk dikembangkan. Althwab *et al.* (2015) menjelaskan bahwa produktivitas sorgum pada tahun 2017, sebesar 2,7 ton/Ha. Beberapa kegunaan sorgum dalam kehidupan diantaranya sebagai penyedia dan sumber pangan yang menyehatkan serta sebagai bahan baku industri dan pakan. Selain itu, kegunaan lain dari keseluruhan tanaman sorgum dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak, pati sorgum bisa diolah menjadi tepung. Bahkan getah tanaman ini mampu diproses menjadi produk gula.

Beragam manfaat yang diperoleh dari tanaman sorgum ini perlu mendapat perhatian khusus. Sayangnya, hal ini masih belum diimbangi dengan proses pengembangannya, terkhusus di Indonesia. Padahal, tanaman ini sangat potensial dari segi ekonomi dan prospek pengembangannya akan sangat menjanjikan. Minimnya pengembangan sorgum di Indonesia dengan potensi yang menjanjikan ini terjadi akibat rendahnya keragaman genetik dan kurangnya ketersediaan varietas unggul di masyarakat (Tarigan *et al.* 2013). Melihat permasalahan ini, salah satu langkah yang dapat dilakukan untuk memperoleh tanaman sorgum yang memiliki sifat unggul, salah satunya menggunakan teknik kultur jaringan/*in vitro*.

Teknik kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk memperbanyak tanaman dengan tujuan mengisolasi sel, protoplasma, jaringan, atau organ tanaman serta menumbuhkan bagian tersebut pada suatu nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman yang menjadi medianya. Teknik ini dilakukan dengan kondisi yang aseptik sehingga bagian tanaman yang dikultur dapat tumbuh, memperbanyak diri, serta melakukan regenerasi hingga menjadi tanaman secara utuh (Anitasari, 2018). Media yang digunakan dalam proses kultur jaringan umumnya ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh (ZPT) memiliki fungsi untuk mempengaruhi fungsi berbagai jaringan, organ, dan sistem organ tumbuhan. Pemberian ZPT ini berperan dalam pembelahan dan pemanjangan sel, pertumbuhan akar, batang dan daun (Septarini, 2009).

Salah satu jenis ZPT yang banyak digunakan dalam proses perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan berasal dari jenis auksin dan sitokinin. Jenis auksin yang cukup banyak digunakan adalah 2,4-D (*2,4-Diklorofenoksiasetat*), sedangkan untuk jenis sitokinin yaitu BAP (*Benzil Adenin Purin*). 2,4-D berperan dalam pertumbuhan kalus serta menghambat regenerasi pucuk tanaman eksplan. Maulana *et al.* (2019) menjelaskan bahwa konsentrasi 2 ppm ZPT 2,4-D memberikan hasil terbaik pada induksi kalus sorgum. Konsentrasi ini dinilai mampu mempercepat pertumbuhan kalus pada umur 13,2 hari setelah tanam. Selain itu, peran BAP yakni memacu dan menginduksi tunas, namun jenis dan konsentrasi pemberiannya didasarkan pada jenis tanaman yang diperbanyak (George and Sherington, 1984).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan (2017), konsentrasi 1,5 mg/L BAP memberikan hasil terbaik pada waktu dan presentase munculnya tunas, serta jumlah tunas. Dari hasil ini, maka perlu adanya pengembangan dalam perbanyakan

tanaman sorgum secara *in vitro* menggunakan benih dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil induksi kalus tanaman sorgum pada pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Politeknik Negeri Jember pada September 2022 hingga Januari 2023. Bahan yang digunakan meliputi benih sorgum varietas numbu, media MS, agar, gula, clorox 10%, bakterisida, fungisida, aquades steril, HCL 0,1 N, NaOH 0,1 N, alkohol 70 %, ZPT 2,4-D, ZPT BAP, deterjen, bayclin, label, tisu, kertas saring, spirtus, plastik wrap, dan aluminium foil. Adapun alat yang digunakan yaitu autoklaf, bunsen, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pisau steril, pinset, gunting, pipet ukur, neraca analitik, pH meter, plate stirer, dan laminar air flow.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL) dimana faktor pertama adalah konsentrasi ZPT 2,4-D yang terdiri dari 1 mg/L (A₁) dan 2 mg/L (A₂). Sedangkan faktor kedua yaitu konsentrasi BAP yang terdiri dari 1 mg/L (B₁), 1,5 mg/L (B₂), 2 mg/L (B₃), dan 2,5 mg/L (B₄). Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga diperoleh 40 unit percobaan.

Prosedur penelitian dimulai dari sterilisasi alat dan eksplan, pembuatan media kultur, penanaman, dan pemeliharaan. Eksplan atau bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih atau biji dari tanaman sorgum. Adapun variabel pengamatan dalam penelitian ini meliputi kedinian muncul kalus, kualitas kalus (tekstur), diameter kalus, awal muncul tunas, tinggi tunas, jumlah tunas, panjang akar, dan jumlah daun. Data yang diperoleh sesuai dengan variabel pengamatan kemudian dilakukan analisis menggunakan ANOVA (*Analysist of Variance*). Apabila hasil menunjukkan terdapat pengaruh, maka akan dilakukan uji lanjut menggunakan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5% jika data menunjukkan berbeda nyata dan 1% jika berbeda sangat nyata.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian dan data variabel pengamatan, diperoleh hasil sebagai berikut:

III.1 Kedinian Muncul Kalus

Pada variabel kedinian muncul kalus, interaksi antara kombinasi perlakuan pemberian ZPT 2,4-D dan BAP menunjukkan hasil berbeda sangat nyata. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Kedinian Muncul Kalus Sorgum Pada Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BAP

No	Perlakuan	Kedinian Muncul Kalus (HSI)
1	1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	7,67 c
2	1 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	8,67 f

3	1 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	8,00 d
4	1 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	7,67 c
5	2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	6,67 b
6	2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	6,00 a
7	2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	8,67 f
8	2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	8,33 e

Keterangan : Angka-angka yang diikuti dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT taraf 1%

Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian kombinasi 2,4-D dengan konsentrasi 2 mg/L dan BAP 1,5 mg/L memberikan hasil terbaik pada kediniian muncul kalus pada 6 hari setelah inisiasi (HSI). Zat pengatur tumbuh adalah salah satu faktor paling penting dalam mendorong keberhasilan pembentukan kalus dan regenerasi tanaman [8]. Auksin berperan dalam proses induksi kalus pada media sehingga pembentukan kalus akan lebih terangsang ketika konsentrasi auksin berada dalam kondisi yang tepat.

Beberapa fungsi auksin dalam proses pertumbuhan tanaman dilihat pula berdasarkan struktur kimia, konsentrasi, serta kondisi jaringan tanamannya. Pada kebanyakan tanaman secara *in vitro*, auksin umumnya digunakan untuk merangsang pembentukan kalus, kultur suspensi, dan proses pemanjangan serta pembelahan sel. Pada tujuan pembentukan kalus, konsentrasi auksin yang diberikan relatif lebih tinggi jika dibandingkan pula dengan sitokinannya. Hal ini dilakukan agar kalus embriogenik dan struktur embrio somatik bisa terangsang pembentukannya. Hal ini juga diperkuat dengan pernyataan *Robles-Martinez et al.* (2016) yang menyatakan bahwa penggunaan aluksin 2,4-D mampu mendorong pembentukan kalus karena ZPT ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan tekanan osmotik, tekanan dinding sel, dan sintesa protein.

Dalam kultur jaringan, auksin sudah banyak dikenal sebagai hormon penginduksi kalus. Selain ditentukan dengan zat pengatur tumbuh yang diberikan, pemilihan jenis eksplan dan kondisi media juga turut mempengaruhi proses pertumbuhan eksplan. Perbedaan konsentrasi yang diberikan pada media MS menunjukkan proporsi pertumbuhan eksplan yang baik salah satunya disebabkan cukupnya kandungan yang diperlukan tanaman untuk tumbuh pada media kultur sehingga merangsang pertumbuhan kalus menjadi lebih baik (Ardiana, 2009). Hasil kalus yang tumbuh pada umur 6 HSI dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 Kalus Pada Umur 6 Hari Setelah Inisiasi

Pembentukan kalus pada eksplan menunjukkan bahwa sel-sel yang terdapat di dalam eksplan memberikan respon sesuai kondisi media (interaksi eksplan dan media (Widiastoety, 2014). Hal ini sejalan dengan pernyataan Lestari (2011), auksin dan sitokinin yang ditambahkan dalam media kultur mampu menambah konsentrasi ZPT endogen dalam sel sehingga memacu pertumbuhan dan perkembangan jaringan.

III.1.2 Diameter Kalus

Pada variabel diameter kalus, pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan adanya interaksi yang nyata. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Diameter Kalus Sorgum Pada Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BAP

No	Perlakuan	Diameter Kalus
1	1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	5,33 bc
2	1 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	4,33 e
3	1 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	5,33 bc
4	1 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	4,67 de
5	2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	5,00 cd
6	2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	4,67 de
7	2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	5,77 b
8	2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	6,33 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Pada tabel 2 diperlihatkan bahwa pemberian kombinasi 2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP memberikan diameter kalus terbaik sebesar 6,33 cm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Hal ini diduga bahwa media yang digunakan bagi pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenesis berdampak positif terhadap perkembangan kalus yang diteliti. Diameter kalus akan bertambah bersamaan usia kalus yang turut bertambah umur kalus pada semua perlakuan. Dari hasil ini diketahui bahwa kombinasi

2,4-D dan BAP dengan konsentrasi tertinggi mampu menghasilkan diameter kalus terbesar. Selain dugaan tentang media, hal ini juga disebabkan perbedaan konsentrasi yang diberikan. Pernyataan ini diperkuat dengan pendapat Sujatmiko *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa keseimbangan hormon secara eksogen pada tanaman akan berubah akibat pemberian sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi sehingga berdampak pada ketidakteraturan terjadinya diferensiasi sel tanaman yang berdampak pada pembentukan kalus.

Gaba (2005) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh memiliki peran untuk mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Pada pertumbuhan tanaman, terdapat berbagai aktivitas ZPT berdasarkan jenis dan genotip tanaman, konsentrasi, struktur kimia, serta sifat fisiologi tanaman yang diperbanyak (Satyavanthi *et al.* 2004). Dalam penelitian ini, warna kalus menjadi warna hijau akibat pencahayaan yang cukup. Hal ini menunjukkan bahwa kalus mampu berfotosintesis sehingga kalus memiliki kandungan klorofil. Selain merangsang pembelahan dan pemanjangan sel, pemberian ZPT ini sebagai sumber karbon pada media MS berupa sukrosa (Ariani, 2016).

Karbon merupakan komponen esensial pada senyawa penyusun sel seperti asam nukleat, karbohidrat, lipid, serta protein. Jika sumber karbon berada dalam kondisi yang cukup bagi eksplan, pertumbuhan sel akan berlangsung secara cepat. Pembelahan sel yang optimal mendorong optimalnya pertumbuhan kalus. Dengan demikian, penggunaan ZPT atau hormon yang diberikan pada tanaman yang diperbanyak dengan teknik kultur jaringan mampu mempercepat peningkatan jumlah sel.

III.1.3 Kualitas Kalus

Penilaian kualitas suatu kalus dapat dilihat melalui tekstur kalus yang dihasilkan oleh eksplan. Hasil penilaian tekstur kalus selanjutnya diuji menggunakan uji *chi-square* K Sampel. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kualitas Kalus Sorgum Pada Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BAP

No	Perlakuan	Tekstur Kalus
1	1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	2,33
2	1 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	1,67
3	1 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	2,33
4	1 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	2,67
5	2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	2,33
6	2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP	3,00
7	2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP	2,67
8	2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP	1,33

Keterangan : Uji *chi-square* K sampel pada *alpha* 5%

Warna dan tekstur kalus menjadi salah satu indikator bahwa sel masih aktif untuk membelah ataupun mati. Kualitas kalus yang baik mampu menciptakan metabolit sekunder dengan karakteristik warna dan tekstur yang sesuai. Kalus dengan kualitas yang tinggi ditandai dengan tekstur yang remah. Kalus yang remah menandakan

kualitas kalus yang baik karena memiliki kemampuan pertumbuhan lebih banyak (Indah and Ermavitalini, 2013). 2,4-D mempunyai peran dalam meningkatkan induksi kalus, morfogenesis kalus, dan mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman.

Penambahan 2,4-D pada media kultur, dinilai efektif dalam meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan selaras dengan laju pertumbuhan kalus. Menurut Wardani *et al.* (2004), auksin mampu melepaskan ion H⁺ dari dinding sel sehingga pemberiannya mampu meningkatkan plastisitas dan perkembangan dinding sel serta menurunkan pH nya sehingga terjadilah relaksasi struktur dinding. Rendahnya pH pada dinding sel ini pada akhirnya mengaktifkan enzim yang memutuskan ikatan antara polisakarida yang melapisi dinding sel yang mengakibatkan relaksasi dinding sel dan pertumbuhan sel menjadi lebih cepat akibat terjadinya peningkatan tekanan turgor (Govinden-Soulange *et al.* 2009).

Perlakuan 1 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP menghasilkan tekstur kompak yang diduga akibat pemberian konsentrasi BAP yang terlalu tinggi. Hal ini selaras dengan Mahadi *et al.* (2016), penyebab tekstur kalus yang kompak terbentuk karena kalus mengalami pembentukan lignifikasi kemudian kalus mengeras sebagai dampak sitokinin. Tekstur kalus yang remah akan diikuti pembentukan nodul. Kalus yang bertekstur remah memiliki ciri mampu tumbuh dan berkembang secara terpisah menjadi fragmen kecil, lunak, serta disusun oleh banyak ruang sel-sel. Sementara itu, tekstur kalus kompak terlihat keras dan padat karena disusun oleh sel kecil yang sangat rapat (Lio *et al.* 2017). Sedangkan, tekstur yang remah biasanya digunakan pada tahapan embriogenesis, sedangkan pada kalus yang kompak dikhususkan untuk proses organogenesis.

Tekstur yang remah ini berpotensi tinggi untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi planlet atau tanaman secara utuh. Selain itu, hal tekstur ini dapat menjadi nilai tambah bagi proses pemuliaan tanaman secara *in vitro* dalam jangka panjang (Fauzy, 2016). Penambahan auksin dan sitokinin menunjukkan signifikansi pada proses pembentukan dan pertumbuhan kalus dan metabolit sekunder. Bienaime *et al.* (2015) menjelaskan bahwa pemberian kombinasi auksin dan sitokinin menghasilkan kalus embriogenik dan mempengaruhi produksi metabolit sekunder. Adanya perbedaan laju pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh faktor laju pembelahan sel akibat adanya efek aditif. Struktur kalus yang remah dan mudah pecah dinilai sebagai kualitas kalus yang baik karena kalus bisa dipisah menjadi sel individual (Harnelly *et al.* 2006). Selain itu, kalus yang remah juga mampu menambah aerasi oksigen antar sel. Ketidakseimbangan pemberian auksin dan sitokinin pada media perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan turut menjadi salah satu penyebab terbentuknya kalus.

IV KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP pada proses induksi kalus menghasilkan interaksi pada semua variabel yang diamati. Kombinasi perlakuan 2 mg/L 2,4-D + 1,5

mg/L BAP memberikan hasil terbaik pada kedindian muncul kalus (6 HSI) dan kualitas atau tekstur kalus. Sedangkan, untuk variabel diameter kalus, kombinasi 2 mg/L 2,4-D + 2,5 mg/L BAP menjadi perlakuan terbaik dengan diameter kalus sebesar 6,33 cm. Pemberian auksin dengan konsentrasi yang tinggi dinilai mampu untuk membentuk kalus yang lebih baik sesuai dengan tujuan untuk melakukan induksi kalus tanaman sorgum.

DAFTAR PUSTAKA

- Althwab; Sami Carr, Timothy P. Weller; Curtis L. Dweikat, Ismail M. Schlegel, Vicki S. 2015. 'Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system', *Food Research International*, 77, pp. 349–359.
- Anitasari, S.D. 2018. *Dasar Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Deepublish.
- Ardiana, D.W. 2009. 'Teknik Pemberian Benzyl Amino Purin untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo L.*)', *Buletin Teknik Pertanian*, 14(2), pp. 50–53.
- Ariani, R., Anggraito, Y.U. and Rahayu, E.S. 2016. 'Respon pembentukan kalus koro bengkok (*Mucuna pruriens L.*) pada berbagai konsentrasi 2, 4-D dan BAP', *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 39(1), pp. 20–28.
- Bienaimé; Christophe Melin, Aurélie Bensaddek; Lamine Attoumbré, Jacques NavaSaucedo; Edmundo Baltora-Rosset, Sylvie. C. 2015 'Effects of plant growth regulators on cell growth and alkaloids production by cell cultures of *Lycopodiella inundata*', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 123, pp. 523–533
- Fauzy, E. 2016. 'Pengaruh penggunaan media murashige dan skoog (MS) dan vitamin terhadap tekstur, warna dan berat kalus rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii pasca radiasi sinar gamma pada dosis LD50 (in vitro)', *Students eJournal*, 5(4).
- Gaba, V.P. 2005. 'Plant growth regulators in plant tissue culture and development', in *Plant development and biotechnology*. CRC Press Boca Raton, FL, pp. 87–99.
- George, E.F. and Sherrington, P.D. 1984. 'Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd', *Reading, England* [Preprint].
- Govinden-Soulange, J.; Boodia N., Dussoo C.; Gunowa R., Deensah S.; Facknath S., Rajkomar B.; 2009. 'Vegetative propagation and tissue culture regeneration of *Hibiscus sabdariffa L.*(Roselle)', *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(5), pp. 651–661.
- Harnelly, E., Tomy, Z. and Hallaby, S.F. 2006. 'Pengaruh NAA, 2-4-D dan Pencahayaan Terhadap Pembentukan Kalus pada Kultur Jaringan Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth.*)', *Jurnal Agrista*, 10(3), pp. 129–135.
- Indah, P.N. and 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)', *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), pp. E1–E6.
- Kurniawan, H. 2017. 'Evaluasi Pertumbuhan Eksplan dan Multiplikasi Tanaman Sorgum (*Sorghum Bicolor L. Moench*) dalam Kultur In Vitro'. Universitas Muhammadiyah Jember.
- Lestari, E.G. 2011. 'Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui

- kultur jaringan’.
- LIO, G.A.O.; LIHUA Liu, Yanlong, Li; Yanyang Yang, Xiaocui, Zhan; Qiuwen Zheng, Jiachen, Li, Jieqin. 2017. ‘Construction of an Efficient Tissue Culture System for Sorghum Using Mature Embryos’, *Pak. J. Bot*, 49(3), pp. 995–1000.
- Mahadi, I., Syafi’i, W. and Sari, Y. 2016. ‘Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2, 4-D dan BAP dengan metode in vitro’, *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), pp. 84–89.
- Maulana, R., Restanto, D.P. and Slameto, S. 2019. ‘Pengaruh Konsentrasi 2, 4–Dichlorophenoxyacetic Acid (2, 4-D) Terhadap Induksi Kalus Tanaman Sorgum’, *Jurnal Bioindustri (Journal of Bioindustry)*, 1(2), pp. 138–148.
- Maulidia, Z.R.A. and Fanata, W.I.D. 2019. ‘Pengaruh Jenis Auksin Terhadap Pembentukan Kalus dan Daya Regenerasi Tiga Varietas Padi Lokal’, *Berkala Ilmiah Pertanian*, 2(2), pp. 77–81.
- M. Robles-Martínez, A. P. Barba-de La Rosa, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, M. Rossignol, and M. del S. Santos-Díaz, “Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated *Opuntia* species: study on their potential as a source of metabolite production,” *Plant Cell, Tissue Organ Cult.*, vol. 124, pp. 181–189, 2016.
- Saptarini, N.; Widayati, Eti, Sari, Lila; Sarwono, B. 2009. *Agar Tanaman Cepat dan Rajin Berbuah*. Penebar Swadaya Grup.
- Satyavathi, V. V; Jauhar, P P, Elias, E M; Rao, M B. 2004. ‘Effects of growth regulators on in vitro plant regeneration in durum wheat’, *Crop science*, 44(5), pp. 1839–1846.
- Sujatmiko, B., Sulistyaningsih, E. and Murti, R.H. 2012. ‘Studi ketahanan melon (*Cucumis melo* L) terhadap layu *Fusarium* secara in vitro dan kaitannya dengan asam salisilat’, *Ilmu Pertanian (Agricultural Science)*, 15(2), pp. 1–18.
- Tarigan, D.H., Irmansyah, T. and Purba, E. 2013. ‘Pengaruh Waktu Penyiangan terhadap Pertumbuhan dan Produksi Beberapa Varietas Sorgum (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench)’, *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 2(1), p. 96594.
- Wardani, D.P., Solichatun, S. and Setyawan, A.D.W.I. 2004. ‘Growth and saponin production of *Talinum paniculatum* Gaertn. callus culture on various addition with 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid (2, 4-D) and kinetin’, *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 2(1), pp.
- Widiastoety, D. 2014. ‘Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan planlet anggrek Mokara’, *Jurnal Hortikultura*, 24(3), pp. 230–238.