

Pengaruh penambahan auxin terhadap pertunasan dan perakaran kopi arabika perbanyak Somatik Embriogenesis

The effects of shooting and rooting of arabica coffee propagation through embryogenesis somatic auxin uses

Rina Arimarsetiowati^{1*)} dan Fitria Ardiyani¹⁾

Ringkasan

Planlet hasil perbanyak somatik embriogenesis yang sudah bertunas dan berakar akan memiliki tingkat adaptasi yang tinggi di lapang. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan bertunas dan berakar planlet sehingga lebih siap diaklimatisasikan di lapangan. Hal ini dilakukan dengan menambahkan berbagai jenis auksin pada media tanam. Embrio kopi Arabika klon AS 2K yang telah memasuki fase kotiledon di subkultur dalam media perlakuan yang mengandung setengah media Murashige & Skoog (MS) baik makro dan mikro, vitamin B5, 30 gr/L gula, 100 ml/L air kelapa, 50 mg/L AgNO₃ ditambah komposisi IAA, IBA dan NAA. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan rancangan acak lengkap dengan tujuh kombinasi perlakuan yaitu 0,1 mg/L IBA; 0,1 mg/L NAA; 0,1 mg/L IAA; 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L NAA; 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L IAA; 0,1 mg/L NAA + 0,1 mg/L IAA; dan sebagai kontrol tanpa penambahan auksin IAA, IBA, NAA. Terdapat 12 ulangan dalam setiap perlakuan dan setiap ulangan terdiri dari lima embrio berkotiledon. Parameter pengamatan adalah panjang akar, jumlah daun, luas permukaan daun, diameter batang, dan tinggi planlet. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-8 setelah embrio berkotiledon bertunas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada parameter jumlah daun dan tinggi planlet, perlakuan tanpa penambahan auksin memiliki hasil terbaik daripada planlet dengan penambahan auksin. Penambahan berbagai auksin dan kombinasinya pada parameter luas permukaan daun, panjang akar dan diameter batang tidak memiliki pengaruh yang nyata. Media yang diuji sudah optimum untuk pertumbuhan tunas dan akar kopi Arabika AS 2K.

Kata kunci : Coffea arabica (L.), somatik embriogenesis, zat pengatur tumbuh, auksin, NAA, IAA, IBA

Summary

Plantlets that has the shoots and the roots will have a high level adaptation in the field. The objective of this experiment was to improve the ability of planlet in shooting and rooting so that it's more ready for acclimatization in the field. The increased ability in shooting and rooting of the planlet were conducted by adding various types of auxin in the media. The clone AS 2K of Arabica coffee embryo which has entered the phase of the cotyledons was transferred in the treatment media containing half-MS (Murashige & Skoog)

Naskah diterima (*received*) 06 juli 2012, disetujui (*accepted*) 23 Agustus 2012.

1) Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman No. 90, Jember, Indonesia.

*) Alamat penulis (*Corresponding Author*) : arimarsetiowati@gmail.com

macro and micro, vitamin B5, 30 g/L glucose, 100 ml/L coconut water, 50 mg/L AgNO₃ was added the composition of IAA, IBA and NAA. The research was conducted by using completely randomized design with seven combined treatment i.e. 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L NAA, 0.1 mg/L IAA; 0, 1 mg/L IBA + 0.1 mg/L NAA, 0.1 mg/L IBA + 0.1 mg/L IAA, 0.1 mg/L NAA + 0.1 mg/L IAA; without auxin. There were 12 replication in every treatments and each replication consisted of five cotyledonary embryos. The parameters of observation were the root length, leaf number, leaf area meter, stem diameter, and height of plantlets. The observations were conducted in eighth week after cotyledonary embryo had shoots. The results showed that in the number of leaves and hight of planlet parameters, the treatment without auxin was the best result compared with planlet with auxin addition. The addition of auxin varians and their combination on leaf area, root length and stem diameter parameters were not significantly different. The medium tested were an optimum for the growth of shoots and roots of AS 2K Arabica coffee.

Key words : *Coffea arabica (L.), somatic embryogenesis, plant growth regulator, auxin, NAA, IAA, IBA*

PENDAHULUAN

Produksi kopi yang tinggi dapat dicapai dengan ketersediaan bahan tanam yang unggul. Bahan tanam unggul dapat diperoleh dengan berbagai macam metode perbanyakan. Secara umum, kopi dapat diperbanyak secara generatif ataupun vegetatif. Perbanyakan secara generatif dapat dilakukan dengan menggunakan biji dan akan menghasilkan keturunan yang memiliki sifat bervariasi. Sedangkan perbanyakan secara vegetatif adalah perbanyakan tanaman yang berasal dari bagian vegetatif tanaman dan tidak didahului dengan proses peleburan gamet jantan dan betina. Perbanyakan ini akan menghasilkan keturunan yang seragam sama seperti induknya (Mangoendidjojo, 2003). Oktaviana *et al.* (2003) mengatakan bahwa kedua cara pembiakan tersebut masih terdapat beberapa kelemahan. Kelemahan tersebut antara lain keterbatasan jumlah bahan tanam yang dihasilkan dan waktu yang lama (Tahardi *et al.*, 1997). Guna mengatasi masalah tersebut dapat dilakukan dengan teknik kultur *in vitro* secara embriogenesis somatik.

Somatik embriogenesis adalah proses dimana sel-sel somatik berkembang menjadi embrio melalui tahap-tahap morfologi yang khas tanpa melalui fusi gamet (Toonen & Vries, 1996). Kesuksesan teknik embriogenesis somatik dalam perbanyakan tanaman kopi Arabika tidak hanya tergantung dari jumlah planlet yang dihasilkan tetapi juga tergantung dari tingkat kelangsungan hidup planlet pada saat transfer ke pembibitan dan kondisi lapang. Tunas berakar hasil perbanyakan embriogenesis somatik, tingkat adaptasinya di lapangan pada saat aklimatisasi lebih tinggi dari pada tunas tidak berakar (Rostiana & Sewita, 2007).

Beberapa faktor seperti konsentrasi hara makro dan mikro dalam media perakaran, jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan sangat mempengaruhi dalam tahap perakaran dan pertunasan. Selain itu, konsentrasi mineral dalam media kultur mempengaruhi karakteristik perakaran. Pengerangan setengah konsentrasi unsur hara makro dan mikro dalam media perakaran dapat meningkatkan laju perakaran (Fotopoulos & Sotiropoulos, 2005).

Zat Pengatur Tumbuh (*plant growth regulator*) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah (< 1 mM) mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Dewi, 2008). Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur. Selain auksin dan sitokinin, giberelin dan persenyawaan lain juga dapat ditambahkan dalam media tanam kultur jaringan (Gunawan, 1992). Hal ini diperkuat oleh Hidayat (2007) yang menyatakan bahwa auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media kultur jaringan dan diberikan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan.

Dewi (2008) menyebutkan bahwa fungsi auksin antara lain mempengaruhi pertambahan panjang batang, pertumbuhan, diferensiasi dan percabangan akar, perkembangan buah, dominansi apikal, fototropisme dan geotropisme. Auksin terbagi menjadi beberapa jenis antara lain : *Indole Acetic Acid* (IAA) , *Indole Butyric Acid* (IBA), α *Naphthaleneacetic Acid* (NAA), dan 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D). Di alam IAA diidentifikasi sebagai auksin yang aktif di dalam tumbuhan (endogenous) yang diproduksi dalam jaringan meristematis yang aktif seperti contohnya tunas, sedangkan IBA dan NAA merupakan auksin sintetis (Hoesen *et al.*, 2000).

Hu & Wang (1983) dalam Dodds & Roberts (1995) mengatakan bahwa kemampuan jaringan untuk membentuk akar bergantung pada zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan ke dalam media, antara lain auksin. Selain jenis auksin, konsentrasi auksin juga berpengaruh pada pertumbuhan tanaman dalam kultur jaringan. Auksin sintetis yang sering digunakan untuk meng-

induksi perakaran *in vitro* adalah NAA dan IBA dalam konsentrasi rendah (Dodds & Roberts, 1995).

Berbagai jenis auksin dapat diaplikasikan bersama-sama atau dikombinasikan dengan golongan sitokinin dan giberelin (Jenes *et al.*, 1977 dalam Ahmed *et al.*, 2002), tetapi untuk menginduksi perakaran akan lebih baik hanya dengan penambahan satu jenis auksin saja (George & Sherrington, 1984).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember. Eksplan yang digunakan berupa embrio berkotiledon kopi Arabika klon AS 2K yang dihasilkan dari perbanyakan tanaman secara embriogenesis somatik. Eksplan tersebut ditanam dalam media perlakuan yang mengandung setengah MS (Murashige & Skoog) baik makro dan mikro, vitamin B5, 30 g/L gula, 100 ml/L air kelapa, 50 mg/L AgNO₃. Media tersebut diberikan perlakuan penambahan auksin (IAA, IBA dan NAA).

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap, dengan tujuh kombinasi perlakuan yaitu 0,1 mg/L IBA; 0,1 mg/L NAA; 0,1 mg/L IAA; 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L NAA; 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L IAA; 0,1 mg/L NAA + 0,1 mg/L IAA; tanpa auksin (sebagai kontrol). Menurut Rostiana & Seswita (2007), IAA digunakan pada kisaran konsentrasi 0,1-10 mg/L, NAA 0,05-1 mg/L, dan IBA 0,5-3 mg/L. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang 12 kali dengan setiap ulangan terdiri dari lima eksplan. Pengamatan dilakukan pada umur delapan minggu setelah embrio berkotiledon bertunas selanjutnya nilai rata-rata parameter dianalisa dengan uji statistik ANOVA. Apabila ada perbedaan pengujian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

Parameter yang diamati adalah panjang akar, jumlah daun, luas permukaan daun, tinggi tanaman dan diameter batang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambahan zat pengatur tumbuh diduga akan berpengaruh pada pertumbuhan kopi Arabika. Salah satu zat pengatur tumbuh, yaitu auksin dapat memberikan pengaruh pada pertumbuhan panjang akar kopi arabika klon AS 2K. Himanen *et al.* (2002) dan Husniati (2010) menyatakan bahwa auksin memicu terjadinya pembelahan sel, sehingga diperlukan untuk pembentukan akar. Akan tetapi pada kondisi tertentu auksin juga dapat bersifat meracuni tanaman.

Berdasarkan data pada Tabel 1, terdapat perbedaan angka pada perlakuan yang cukup besar tetapi tidak berbeda nyata yaitu pada panjang akar, luas daun, dan diameter batang. Hal ini disebabkan oleh kemampuan endogen dari setiap embrio berbeda-beda untuk tumbuh dan berkembang. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Rina

Arimarsetiowati *et al.* (2010) yang mendapatkan bahwa kopi arabika memiliki keragaman yang tinggi yang ditunjukkan oleh nilai koefisien keragaman (CV) yang tinggi yaitu sebesar 37%. Hal ini juga terjadi pada somatik embriogenesis tanaman sagu dengan nilai koefisien keragaman (CV) yang juga tinggi pada awal kultur yaitu sebesar 40,9% (Kasi & Sumaryono, 2006).

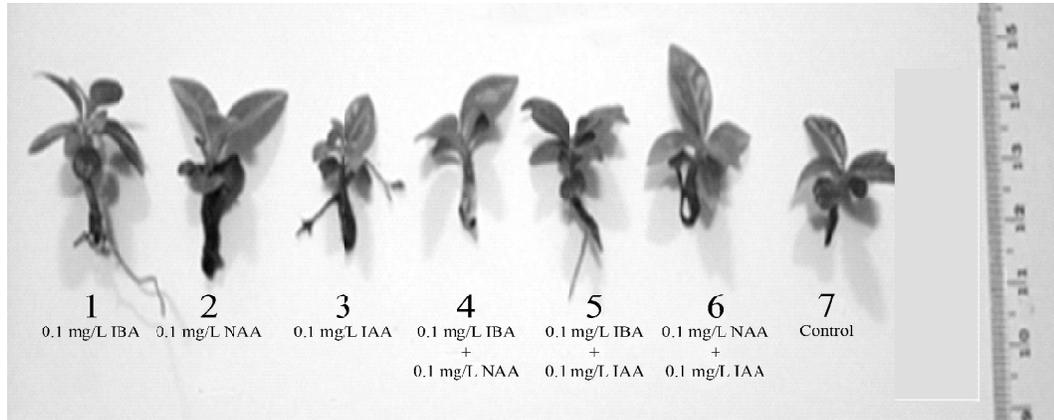
Penambahan ketiga jenis auksin (IBA, NAA dan IAA) serta kombinasinya tidak memberikan respon yang berbeda nyata terhadap panjang akar kopi Arabika klon AS 2K jika dibandingkan perlakuan tanpa penambahan auksin (Tabel 1). Bahkan dari hasil analisis juga diketahui bahwa penambahan beberapa jenis auksin justru menghasilkan akar yang lebih pendek dari pada pertumbuhan akar tanpa penambahan auksin. Auksin jenis IAA pada konsentrasi 0,1 mg/L menghasilkan akar terpanjang sedangkan kombinasi perlakuan auksin 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L NAA menghasilkan akar terpendek. Pada konsentrasi rendah, IAA menyebabkan pemanjangan baik pada pucuk maupun pada akar.

Tabel 1. Pengaruh jenis auksin terhadap panjang akar, jumlah daun, luas permukaan daun, diameter batang dan tinggi planlet kopi klon AS 2K

Table 1. The effect of auxin varians on the root length, the number of leaves, leaf area, the stem diameter and high of planlets of AS 2K coffee clone

Media	Panjang Akar (mm)	Jumlah Daun Number	Luas Daun (mm)	Diameter Batang (mm)	Tinggi Planlet (mm)
Medium	The root length (mm)	of Leaves	Leaf Area (mm)	Stem Diameter (mm)	High of Plantlets (mm)
0,1 mg/L IBA	3.10 a	2.22 ab	13.499 a	1.42 a	8.73 cb
0,1 mg/L NAA	2.11 a	2.27 ab	20.363 a	1.57 a	9.68 b
0,1 mg/L IAA	4.31 a	2.65 ab	14.473 a	1.10 a	6.46 c
0,1 mg/L IBA+ 0,1 mg/L NAA	1.31 a	2.62 ab	9.353 a	2.19 a	7.17 cb
0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L IAA	3.29 a	1.86 b	12.241 a	0.82 a	7.29 cb
0,1 mg/L NAA +0,1 mg/L IAA	3.09 a	2.42 ab	10.236 a	0.86 a	9.18 cb
Tanpa auksin (Witout auxin)	3.032 a	3.37 a	16.951 a	0.96 a	12.91 a

Catatan (Notes): Data pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan 5% (Numbers in the same colomn followed by the same letter are not significantly different according to Duncan test 5%).



Gambar 1. Planlet kopi Arabika Klon AS2K pada berbagai macam auksin dan kombinasinya.

Figure 1. Planlets of AS 2K coffee clone in auxin varians and the combinations.

Jika konsentrasi IAA lebih tinggi, efeknya menjadi berlawanan sehingga pemanjangan pucuk dan akar menjadi terhambat (Moore 1989 *cit.* Aryantha 2004). Sedangkan menurut Weaver (1972), IBA memiliki aktivitas auksin yang lemah, tetap berada pada daerah pemberian perlakuan dan translokasinya lemah, sehingga bahan aktifnya akan tertahan di dekat tempat aplikasinya. NAA memiliki sifat lebih beracun dari IBA. Penggunaan konsentrasi yang tinggi harus dihindari karena dapat menyebabkan pelukaan pada tanaman. Dengan demikian beberapa jenis auksin yang digunakan dapat juga menghambat pertumbuhan panjang akar.

Fuchs (1986) mengatakan bahwa penambahan auksin dengan konsentrasi tertentu tidak selalu meningkatkan pertumbuhan akar tetapi justru dapat menurunkan pertumbuhan akar. Hal tersebut berhubungan dengan kadar nitrogen yang ada pada masing-masing media tumbuh yang telah dikombinasikan dengan berbagai jenis auksin. Kaneda & Harada (1979) *cit.* Kaneda *et al.* (1997) mengatakan bahwa jumlah nitrogen yang melimpah pada media kurang baik untuk pertumbuhan akar karena asam amino yang terbentuk dapat menghambat pembentukan akar.

Penambahan konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan akar berbeda pada masing-masing tanaman. Hasil penelitian yang telah dilakukan pada tanaman *Pelargonium x hortorum* Bailey menunjukkan bahwa penambahan NAA pada konsentrasi rendah ($<1\mu\text{M}$) menghasilkan perakaran yang kurang baik, meskipun sudah dikombinasikan dengan benzyladenine. Jika konsentrasi NAA yang ditambahkan semakin tinggi ($>1\mu\text{M}$), pertumbuhan akar semakin banyak (Sanago *et al.*, 1995). Sedangkan pada tanaman *Pelargonium tomentosum*, penambahan IBA 0,8-1,0 mg/L menghasilkan akar yang pendek, gemuk serta cenderung membentuk kalus. Penambahan IBA pada konsentrasi lebih rendah dari 0,8 mg/L menghasilkan akar yang normal, sedangkan perakaran terbaik didapatkan pada perlakuan IBA 0,5 mg/L (Gandadikusumah, 2002).

Selain pertumbuhan panjang akar, auksin juga dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan daun. Daun merupakan salah satu organ tanaman yang sangat penting terutama untuk fotosintesis supaya tanaman dapat menghasilkan makanan dan mengalami pertumbuhan yang optimum. Semakin

bertambah jumlah daun, ukuran panjang serta lebar daun maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman (Sylvia, 2009).

Salah satu fungsi auxin pada pertumbuhan daun adalah membantu perkembangan jaringan meristem calon daun. Respon kopi Arabika klon AS 2K pada parameter jumlah daun menunjukkan adanya pengaruh penambahan berbagai jenis auxin (Tabel 1). Penambahan auxin pada eksplan kopi Arabika klon AS 2K akan menghambat munculnya daun. Hal tersebut ditunjukkan dengan jumlah daun yang muncul pada eksplan tanpa perlakuan auxin lebih banyak daripada jumlah daun yang muncul pada eksplan dengan perlakuan auxin. Auxin dengan konsentrasi 0,1 mg/L akan menghambat pembentukan daun, terutama untuk kombinasi auxin 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L IAA.

Pada parameter luas permukaan daun, penambahan berbagai jenis auxin tidak memberikan respon yang berbeda terhadap eksplan tanpa penambahan auxin. Hanya saja penambahan NAA 0,1 mg/L dapat menyebabkan penambahan luas daun tertinggi pada eksplan kopi Arabika. Menurut Windasari (2004), pada tanaman Krisan konsentrasi NAA 0,1mg/L merupakan konsentrasi optimum untuk pertumbuhan daun dan tinggi planlet. Sedangkan kombinasi auxin pada perlakuan 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L NAA memberikan luas permukaan daun paling kecil.

Selain berpengaruh pada perakaran dan pertumbuhan daun, penambahan auxin juga mempengaruhi pertumbuhan planlet kopi Arabika klon AS 2K. Salah satu fungsi auxin yang lain adalah mempengaruhi pertambahan panjang dan pertumbuhan batang (Dewi, 2008). Penambahan berbagai jenis auxin dan kombinasinya tidak memberikan respon yang berbeda terhadap eksplan tanpa penambahan

auxin pada parameter diameter batang (Tabel 1). Penambahan kombinasi auxin 0,1 mg/L IBA + 0,1 mg/L NAA dapat menyebabkan diameter batang tertinggi pada eksplan kopi Arabika.

Jika auxin IAA diterapkan pada apikal akhir pada stek batang, akan meningkatkan sel divisi dalam kambium dan pengembangan proses xilem sebagai batang utuh. Penerapan auxin pada basal akhir pada stek dapat memiliki efek minimal terhadap diameter batang pada semua spesies (Wareing *et al.*, 1964; Reinders-Gouwentak, 1965; Savidge & Wareing, 1981b; Little & Savidge, 1987). Auxin dapat memacu perkembangan jaringan pembuluh dan mendorong pembelahan sel pada kambium pembuluh sehingga mendukung pertumbuhan diameter batang. Studi dengan IAA menunjukkan adanya transportasi IAA melalui sel-sel kambium (Little & Savidge, 1987) dan dapat terjadi selama dormansi untuk pemeliharaan konifer (Savidge & Wareing, 1982). Pengangkutan IAA sangat penting dalam pemeliharaan radial sempit, pemanjangan bentuk sel kambium dan diferensiasi ke parenkim aksial (Savidge, 1983).

Pada parameter tinggi planlet, penambahan auxin dan kombinasi auxin menyebabkan adanya respon yang berbeda nyata dengan planlet tanpa penambahan auxin (Tabel 1). Planlet yang tumbuh pada media tanpa penambahan auxin akan lebih tinggi daripada planlet yang tumbuh pada media dengan penambahan auxin 0,1 mg/L. Konsentrasi berbagai jenis auxin 0,1 mg/L justru akan menghambat pertumbuhan tinggi planlet. Penambahan 0,1 mg/L NAA memberikan hasil yang cukup bagus dibandingkan penambahan auxin lainnya

Pemberian auxin dapat dikombinasikan dengan hormon lain untuk mendapatkan pertumbuhan planlet yang optimal. Seperti pada tanaman gaharu, perlakuan zat pengatur

tumbuh BAP 1.0 ppm dan IAA 0.5 ppm merupakan konsentrasi yang optimum dan terbaik dalam menghasilkan jumlah planlet dan panjang planlet (Anggraeni, 2011). Sedangkan pada tanaman tembakau, keseimbangan antara auksin dan sitokinin dapat mengatur pertumbuhan tunas dan kalus pada kultur *in vitro*. Auksin dan sitokinin berperan dalam pertumbuhan tunas. Oleh karena itu untuk mendapatkan hasil kultur jaringan tembakau yang optimal diperlukan kombinasi komposisi ZPT berupa hormon auksin dan sitokinin yang tepat (Ali, 2007).

KESIMPULAN

Media yang diuji sudah optimum untuk pertumbuhan tunas dan akar kopi Arabika AS 2K. Penambahan berbagai jenis auksin sintetik 0,1 mg/L dan kombinasi tidak memperbaiki kinerja pertumbuhan planlet.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, E. E; G.Y.D. Bisztray & I. Velich (2002). Plant regeneration from seedling explants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology*. Szent Istvan University of Budapest. Budapest, Hungary, 115-123.
- Ali, G. (2007). Callus Induction and in vitro Complete Plant Regeneation of iffereent Cultivars of Tobacco (*Nicotiana Tabaccum* L.) on media of Different Hormonal Consentration. *Biotechnology*, 6, 561-566.
- Anggraeni, F. (2011). *Induksi Tunas Tanaman Gaharu (Aquilaria malaccencis Lamk) dengan Menggunakan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan IAA secara In Vitro*. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. Sumatra Utara.
- Aryantha, I.N.P.; D.P. Lestari & N.P.D. Pangesti (2004). Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Hijau pada Kondisi Hidroponik. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 9, 43-46.
- Arimarsetiowati, R.; C. Ismayadi & Priyono (2010). Heterogeneous characteristics during the development of *Coffea arabica* somatic embryos. *Proceeding of the 23th International Conference on Coffee Science*. Association for Science and Information on Coffee (ASIC), 785-788.
- Dewi, I.R. (2008). *Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Dodds, H.J. & L.W. Roberts (1995). *Experiments in Plant Tissue Culture*. Cambridge University Press. 255.
- Fotopoulos, S. & T.E. Sotiropoulos (2005). In vitro rooting of PR 204/84 rootstock (*Prunus persica* x *P. Amygdalus*) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. *Agronomy Research*, 3, 3-8.
- Fuchs. H.W.M. (1986). *Root regeneration of rose plants as influenced by applied auxins*. *Acta Horticulture 189*. Agricultural University. Department of Horticulture. Netherlands.
- Gandadikusumah, V.G. (2002). *Induksi Perakaran Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) Hasil Persilangan Pepaya Bangkok dengan Pepaya Hawaii Secara in vitro dengan Media Perlakuan MS dan IBA*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. 58.

- George, E.F. & P.D. Sherrington (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited. England. 284 - 330.
- Gunawan, L.W. (1992). Teknik Kultur Jaringan. Bogor, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. 245p.
- Hidayat (2007). Induksi Pertumbuhan Eksplan Endosperm Ulin dengan IAA dan Kinetin. *Agritop*, 26, 147-152.
- Himanan, K.; E. Boucheron; S. Vannesse; J. de Almeida-Engler; D. Inze & T. Beeckman (2002). Auxin-mediated cell cycle activation during early root initiation. *Plant Cell*, 14, 2339-2352.
- Hoesen; D.; S. Hazar; Priyono & H. Sumarnie (2000). Peranan zat pengatur tumbuh IBA, NAA, dan IAA pada perbanyak Amarilis Merah (*Amaryllidaceae*). *Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional. Lab Treub Balitbang Botani Puslitbang Biologi*, LIPI Bogor.
- Husniati, K. (2010). *Pengaruh Media Tanam dan Konsentrasi Auksin terhadap Pertumbuhan Stek Basal Daun Mahkota Tanaman Nanas (Ananas comosus L. Merr) cv. Queen*. Sripsi. Program Studi Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Kaneda, Y.; Y. Tabei; S. Nishimura; K. Harada; T. Akihama & K. Kitamura (1997) Combination of thiazuron and basal media with low salt concentration increases the frequency of shoot organogenesis in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant Cell Report*, 17, 8-12.
- KasiASI, P. D & Sumaryono (2006). Keragaman morfologi selama perkembangan embrio somatik sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). *Menara Perkebunan*, 74, 44-52.
- Little, C.H.A. & R.A. Savidge (1987). The role of plant growth regulators in forest tree cambial growth. *Plant Growth Regulation*, 6, 137-169.
- Mangoendidjojo, W. (2003). *Dasar-dasar Pemuliaan Tanaman*. Kanisius. Yogyakarta. 184.
- Oktaviana, F.; Siswanto; A. Budiani & Sudarsono (2003). Embriogenesis somatik langsung dan regenerasi planlet kopi arabika (*Coffea arabica*) dari berbagai eksplan. *Menara Perkebunan*, 71, 44-55.
- Reinders-Gouwentak, C. (1965). Physiology of the cambium and other secondary meristems of the shoot. *In: W. Ruhland (ed) Encyclopedia of Plant Physiology*. Springer-Verlag, Berlin, 15, 1076-1105.
- Rostiana, O. & D. Seswita (2007). Pengaruh Indole Butyric Acid dan Naphtaleine Acetic Acid Terhadap Induksi Perakaran Tunas Piretrum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis.) Klon Prau 6 Secara In Vitro. *Buletin Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*, 17, 39-48.
- Sanago, H.M.M; S. J. Murch; T.Y. Slimmon; S. K. Raj & P. K. Saxena (1995). Morphoregulatory role of thiazuron : Morphogenesis of root outgrowths in thiazuron-treated geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey). *Plant Cell Reports*, 2, 205-211.
- Savidge, R.A. & P.F. Wareing (1981b). Plant growth regulators and the differentiation of vascular elements. *In: J.R. Bamett (ed) Xylem Cell Development*.

- Castle House Publications. Tunbridge Wells, England, 192-235.
- Savidge, R.A. & P.F. Wareing (1982). Apparent auxin production and transport during winter in the non-growing pine tree. *Canadian Journal of Botany*, 60, 68-691.
- Savidge, R.A. (1983). The role of plant hormones in higher plant cellular differentiation. II Experiments with the vascular cambium, and sclereid and tracheid differentiation in the pine, *Pinus conrorta*. *Histochemical Journal*, 15, 447-466.
- Sylvia, I. (2009). *Pengaruh IBA dan NAA terhadap stek Aglonema Var. Donna Carmen dengan perendaman*. Skripsi. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Tahardi; J.S. Sumaryono & N. Mardiana (1997). Initiation and maintenance of embryogenic suspension culture of tea (*Camellia sinensis* L.). *Menara Perkebunan*, 65, 1-8.
- Thimann, K.V. (1969). The Auxins. p. 20-22. *In: M. B. Wilkins (ed). The Physiology of Plant Growth and Development*. Tata Mc. Graw-Hill Publ. Co. Ltd. New Delhi.
- Toonen, M.A.J. & S.C. de Vries (1996). Initiation of Somatic Embryos from Single Cells. p. 173-177. *In: Wang, T.L. & A. Cuming (ed.). Embryogenesis the generation of plant*. Bios Scientific Publishers Limited. Oxford.
- Wareing, P.F.; C.E.A. Hanney & J. Digby (1964). The role of endogenous hormones in cambial activity and xylem differentiation. p. 323-345. *In: M.H. Zimmerman (ed) The Formation of Wood in Forest Trees*. Academic Press, New York.
- Weaver, J.R. (1972). *Plant Growth in Agriculture*. University of California. San Frasisco. 594 p.
- Windsari, A. (2004). *Pengaruh Kombinasi Auksin dan Sitokinin pada Perbanyakan Tanaman Krisan Pot (Chrysanthemum morifolium) varietas Delano red secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.
- *****.