

**MIKROPROPAGASI RAMIN (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) DARI EKSPLAN
BATANG SATU BUKU SECARA *IN VITRO***

*Micropropagation of Ramin (Gonystylus bancanus (Miq.) Kurz) From Single Node
Stem Explant Through In Vitro*

Yelnititis¹ dan T.E Komar²

¹Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam
Jl. Gunung Batu no. 5 Bogor

Naskah masuk : 8 Agustus 2011 ; Naskah diterima : 30 Nopember 2011

ABSTRACT

Ramin (Gonystylus spp.) is one of the genus wood producing that interested to trade. This plant growth in peat swamp forest areas. This genus consist more than 20 species and only Gonystylus bancanus (Miq.) Kurz) has been explored. From 2004 this species has been listed in CITES APPENDIX II. Propagation of this plant can conducted through generative but difficult to get of materials seed. Plant propagation through in vitro culture was conducted. Stem with single node were used as explants. Murashige and Skoog (MS) medium used as growth medium. The treatment of BA, kinetin and thidiazuron (0.5 - 3.0 mg/l) used for single node stem explant. The observation was made on shoot induction period, shoot number, heigh of shoot and visual performance of culture produced. The results showed that shoot can induced from stem with single node. The treatment of 2.0 mg/l thidiazuron is the best treatment to shoot induction. The average of shoot find was 5.1 days after cultured and faster than other treatment. The treatment of 0.5 mg/l BA is the best to shoot growth and visual performance. Average of shoot heigh from this treatment is 0.7 cm. The treatment of 0.5 mg/l BA on modified MS medium is the best to shoot elongation than MS medium.

Key Words : Ramin, thidiazuron, peat swamp forest, single node stem

ABSTRAK

Ramin (*Gonystylus* spp.) merupakan salah satu genus penghasil kayu yang banyak diminati untuk diperdagangkan. Tanaman ini tumbuh di daerah hutan rawa gambut. Terdapat lebih dari 20 jenis yang termasuk ke dalam genus ini dan *Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) merupakan jenis yang paling banyak dieksploitasi. Sejak tahun 2004 jenis ini sudah dimasukkan ke dalam APPENDIX II CITES. Perbanyakan tanaman ramin dapat dilakukan secara generatif dengan menggunakan biji namun benihnya sulit ditemukan. Perbanyakan tanaman secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta dari bulan April-Desember 2008. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan

adalah batang satu buku. Media dasar Murashige dan Skoog (MS) digunakan sebagai media tumbuh. Perlakuan yang diberikan adalah penggunaan BA, kinetin dan thidiazuron dengan konsentrasi (0,5-3,0 mg/l). Pengamatan dilakukan terhadap waktu induksi tunas, jumlah tunas, tinggi tunas dan penampakan biakan secara visual. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas dapat diinduksi dari eksplan batang satu buku. Penggunaan thidiazuron 2,0 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk induksi tunas. Rata-rata induksi tunas terjadi 5,1 hari setelah dikulturkan dan paling cepat dibandingkan dengan perlakuan lain. Penggunaan BA 0,5 mg/l merupakan perlakuan paling baik terhadap tinggi dan penampakan visual tunas. Rata-rata tinggi tunas dari perlakuan ini adalah 0,7 cm. Penggunaan BA 0,5 mg/l pada modifikasi media MS lebih baik terhadap pemanjangan tunas dibandingkan dengan penggunaan medium MS.

Kata kunci : Ramin, thidiazuron, hutan rawa gambut, batang nodus tunggal

I. PENDAHULUAN

Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) termasuk ke dalam famili Thymelaceae dan mempunyai daerah sebaran yang luas mulai dari Indonesia sampai Fiji. Genus ini terdiri dari lebih dari 20 jenis dan tumbuh terutama di hutan rawa gambut. *G. bancanus* merupakan salah satu jenis pohon penghasil kayu yang paling banyak dieksploitasi dan paling diminati untuk diperdagangkan dari 10 jenis yang ada di Indonesia. Kayunya bertekstur halus, rata dan berserat halus sehingga digolongkan bahan yang bernilai tinggi. Kayunya dapat digunakan untuk konstruksi ringan atau untuk keperluan lainnya seperti untuk furnitur dan hiasan interior. Eksploitasi kayu ramin di alam tidak diikuti dengan upaya budidaya atau tanpa memperhitungkan kelestariannya menyebabkan jenis ini semakin sulit ditemukan sehingga terancam kepunahan. Selain itu juga

disebabkan karena kebakaran hutan yang terjadi secara periodik setiap tahun. Menurut CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) *G. bancanus* termasuk ke dalam Appendix III pada tahun 2001, meningkat menjadi Appendix II pada tahun 2004.

Ramin dapat diperbanyak secara generatif dengan menggunakan biji tetapi benihnya sulit ditemukan, selain itu ramin berbuah sekali dalam 2-4 tahun. Menurut Mukjizat dan Hermansyah (2005) ramin tidak berbunga dan berbuah setiap tahun. Salah satu bahan yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan bibit adalah dengan mengambil anakan di bawah tegakan induknya di alam. Penelitian perbanyakan vegetatif ramin secara *in vitro* belum banyak dilaporkan. Berdasarkan hal di atas maka dilakukan upaya

perbanyak tanaman dengan rentang waktu yang lebih singkat.

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk perbanyak tanaman secara vegetatif. Pemilihan bagian tanaman yang dijadikan sebagai eksplan akan sangat menentukan keberhasilan dari suatu kultur. Kemajuan yang telah diperoleh pada jenis tanaman hutan adalah dengan menggunakan eksplan embrio, anakan dan tanaman juvenil, sementara daya regenerasi yang paling banyak diperoleh melalui pembentukan tunas adventif.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metoda perbanyak klonal yang terbaik secara *in vitro* untuk jenis ramin melalui pembentukan tunas adventif.

II. BAHAN DAN METODE

A. Lokasi dan bahan penelitian

1. Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta.

2. Bahan

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah potongan batang satu buku dengan ukuran 2,0 cm (Gambar 1) dari anakan yang berasal dari area hutan PT. Putra Duta Indah Wood, Propinsi Jambi, Sumatera.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah hara makro dan mikro dari komposisi media Murashige dan Skoog (MS) yang dimodifikasi ditambah dengan vitamin grup B dan diperkaya dengan sukrosa dan agar sebagai

pemadat. Perlakuan yang diuji adalah penambahan zat pengatur tumbuh BA, kinetin dan thidiazuron.

B. Metode dan Analisis

1. Metode penelitian

Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor. Zat pengatur tumbuh dengan berbagai konsentrasi sejumlah 12 perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdiri atas 10 tabung (sebagai ulangan). Setiap botol dikulturkan satu eksplan sehingga jumlah yang diamati pada setiap perlakuan berjumlah 10 biakan.

2. Prosedur penelitian

a. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media dasar MS, dibuat sesuai dengan perlakuan yang diuji. pH media dijadikan 5,8 dengan menambahkan NaOH atau HCl. Media dibagi dan dituang ke dalam tabung berdiameter 2,5 cm dan tinggi 10 cm dan masing-masing tabung diisi sebanyak 20 ml. Kemudian media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada temperatur 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 20 menit.

b. Eksplan

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan diambil dari pesemaian. Bagian yang diambil adalah batang yang masih muda, dipotong dengan ukuran 2 cm dan masing-masing mempunyai satu buku. Kemudian eksplan dicuci dengan menggunakan deterjen cair dan larutan fungisida terakhir dibilas dengan air. Eksplan yang sudah bersih lalu disterilisasi secara bertingkat di dalam *laminar air flow* dengan meng-

gunakan alkohol, HgCl_2 dan bayclin dan terakhir dibilas dengan menggunakan air steril.

c. Penanaman

Eksplan yang sudah disterilisasi ditanam pada perlakuan media yang sudah disiapkan. Perlakuan yang diuji adalah penggunaan BA, kinetin dan thidiazuron dengan konsentrasi masing-masing (0,5 mg/l-3,0 mg/l). Masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol dan setiap botol terdiri atas 1 eksplan. Kemudian kultur ditempatkan secara acak pada rak di dalam ruang dengan temperatur $18^{\circ}\text{-}26^{\circ}\text{C}$ dan penyinaran selama 16 jam/hari.

3. Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap waktu induksi tunas, jumlah tunas, tinggi tunas dan penampakan biakan secara visual. Pengambilan gambar dilakukan dengan menggunakan kamera merk Sony model DCR-TRV75E.

4. Analisis data

Data yang dihasilkan berupa data kuantitatif dan kualitatif (visual). Data kuantitatif dirata-rata dan dihitung standar deviasinya secara statistik, selanjutnya dibandingkan antar perlakuan (disajikan pada gambar dan tabel hasil).

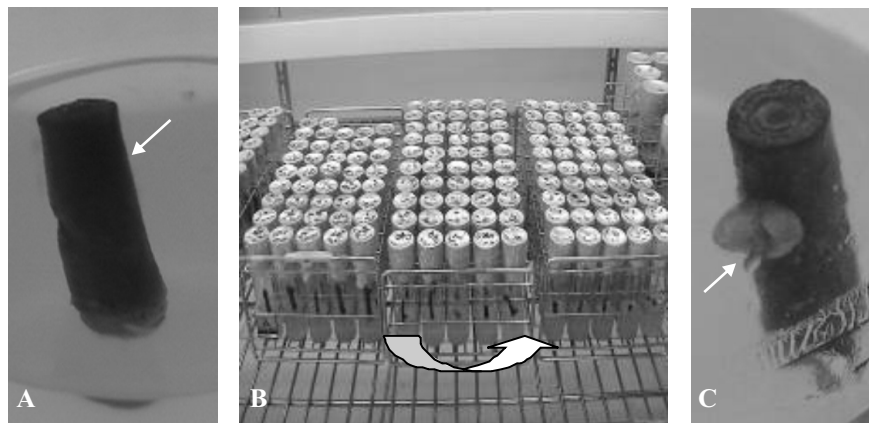
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penggunaan eksplan dari potongan batang yang masih sangat muda (Gambar 1A) menyebabkan eksplan mengalami kematian setelah dilakukan sterilisasi karena larutan sterilan mudah masuk ke dalam jaringan. Adapun penggunaan eksplan yang lebih dewasa (Gambar 1B) dengan jaringan batang yang lebih kuat dapat dihasilkan eksplan yang steril dan memberikan respon terhadap perlakuan yang diberikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas dapat diinduksi dari eksplan batang satu buku (Gambar 2A-C) pada semua perlakuan yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa untuk induksi tunas dibutuhkan zat pengatur tumbuh eksogen sehingga terjadi perubahan kandungan hormon yang ada dalam jaringan yang dikulturkan yang merangsang terbentuknya tunas. Menurut Singh *et al.*, (2002) kandungan hormon endogen pada masing-masing eksplan yang digunakan berbeda. Selanjutnya Wattimena (1983) menyatakan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan berfungsi sebagai faktor pencetus (*trigerring factor*).



Gambar 1. Sumber eksplan (tanda panah) A. Tunas muda dan B. Tunas dewasa



Gambar 2. A. Eksplan batang satu buku, B. Biakan umur 7 hari dan C. Tunas dari perlakuan kinetin 1.5 mg/l

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa waktu induksi tunas dari masing-masing eksplan tidak sama. Induksi tunas terjadi rata-rata antara 5,1 sampai 19 hari setelah dikulturkan. Hal ini diduga disebabkan oleh jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Menurut Gunawan (1987) jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan memberikan respon tumbuh yang berbeda terhadap eksplan yang dikulturkan. Dari ketiga jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan, thidiazuron merupakan sitokinin yang paling aktif dan umumnya digunakan dalam konsentrasi yang sangat rendah.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa penggunaan thidiazuron 2,0 mg/l merupakan perlakuan yang paling baik untuk induksi tunas. Rata-rata induksi tunas pada perlakuan ini adalah 5,1 hari setelah dikulturkan. Hal ini menunjukkan bahwa untuk induksi tunas dibutuhkan zat pengatur tumbuh thidiazuron dengan konsentrasi yang relatif tinggi sehingga tercapai nisbah antara sitokinin dan auksin yang merangsang terbentuknya tunas. Heutteman dan Preece, (1993) menyatakan bahwa thidiazuron merupakan zat pengatur tumbuh yang termasuk ke dalam kelompok sitokinin yang banyak digunakan untuk induksi tunas

Tabel 1. Waktu induksi tunas dan penampakan visual biakan dari beberapa konsentrasi thidiazuron, BA dan kinetin

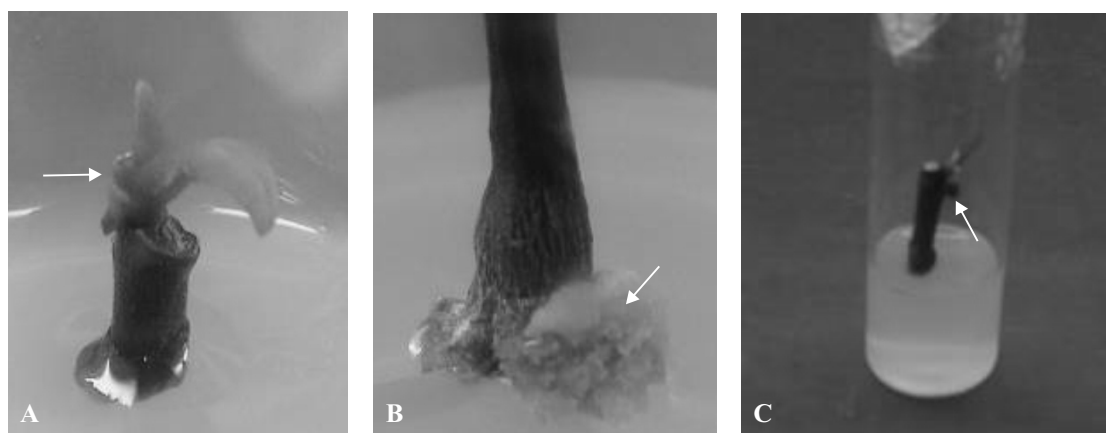
Perlakuan (mg/l)	Rata-rata waktu induksi tunas (hari ke)	Penampakan visual biakan
Thi 0.5	12.6 ± 8.74	Hijau, segar, pendek
Thi 1.0	5.3 ± 2.77	Hijau, segar, pendek
Thi 2.0	5.1 ± 1.55	Hijau, segar, pendek, berkalus
Thi 3.0	12.3 ± 5.47	Hijau, segar, pendek, berkalus
BA 0.5	10.0 ± 5.58	Hijau, segar
BA 1.0	19.0 ± 4.66	Hijau, segar
BA 2.0	7.8 ± 3.88	Hijau, segar, membesar, berkalus
BA 3.0	7.3 ± 2.82	Hijau, segar, berkalus
Kin 0.5	7.4 ± 2.32	Hijau, segar
Kin 1.0	8.3 ± 1.28	Hijau, segar
Kin 2.0	6.6 ± 2.26	Hijau, segar, berkalus
Kin 3.0	8.6 ± 3.38	Hijau, segar, berkalus

tanaman berkayu. Hasil yang berbeda dari penelitian Jordan *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa tunas dari eksplan yang berasal dari pohon induk dewasa *Saphoro toromiro* diperoleh dengan penggunaan thidiazuron konsentrasi rendah. Sedangkan Neves *et al.*, (2001) mendapatkan tunas pada tanaman *Medicago truncatula* dengan penggunaan thidiazuron dengan konsentrasi 1,0 mg/l. Walaupun induksi tunas dari perlakuan ini terjadi paling cepat dibandingkan dengan perlakuan yang lain tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan thidiazuron 1,0 mg/l dan kinetin 2,0 mg/l dengan rata-rata waktu induksi tunas 5,3 dan 6,6 hari setelah dikulturkan. Setiap eksplan mempunyai kandungan hormon endogen yang berbeda, sehingga penggunaan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda walaupun secara statistik tidak memberikan pengaruh nyata.

Walaupun perlakuan thidiazuron 2,0 mg/l merupakan perlakuan paling cepat untuk induksi tunas tetapi penggunaan BA 0,5 mg/l menghasilkan tunas dengan penampilan visual paling baik dibanding semua tunas yang diperoleh dari

perlakuan lain. Tunas yang dihasilkan dari perlakuan ini berwarna hijau segar (Gambar 3A) dengan pertumbuhan yang lebih cepat. Hal ini diduga disebabkan karena untuk pertumbuhan dibutuhkan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang lebih rendah. Hasil yang berbeda dengan penelitian Singh *et al.*, (2002) yang menyatakan bahwa tunas diperoleh dari perlakuan BA dengan konsentrasi yang tinggi yaitu 5,0 mg/l.

Penggunaan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi 2,0 mg/l sampai 3,0 mg/l mengakibatkan terbentuknya kalus pada bagian pangkal biakan yang menyentuh media (Gambar 3B). Hal ini diduga disebabkan karena pada konsentrasi tersebut nisbah antara kandungan auksin lebih tinggi dibanding sitokinin. Tingginya kandungan auksin dalam jaringan akan merangsang terbentuknya kalus pada jaringan yang dikulturkan terutama pada bagian yang menyentuh media tumbuh. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa dalam konsentrasi rendah sitokinin merangsang pembentukan tunas tetapi dalam konsentrasi tinggi dapat meningkatkan konsentrasi auksin dalam



Gambar 3. A. Tunas dari perlakuan BA 0.5 mg/l, B. Kalus dari perlakuan thidiazuron 3.0 mg/l dan C. Tunas pada media MS modifikasi + BA 0.5 mg/l.

jaringan sehingga kandungan auksin dalam jaringan lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi sitokinin yang mengakibatkan terbentuknya kalus.

Hasil yang sama dengan penelitian Jordan *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa penggunaan thidiazuron dengan konsentrasi 2,27 μM atau 11,35 μM merangsang induksi kalus pada bagian pangkal eksplan pada tanaman *Saphora toromiro*. Terbentuknya kalus pada bagian pangkal tunas tersebut akan mempengaruhi translokasi nutrisi dari media yang dapat menghambat pertumbuhan sehingga dilakukan pemotongan kalus yang terbentuk.

Hampir semua tunas yang dihasilkan memperlihatkan laju pertumbuhan yang lambat kecuali tunas dari perlakuan BA 0,5 mg/l. Hal ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor antara lain jenis tanaman yang termasuk *slow growing* (lambat tumbuh). Hasil yang sama dengan penelitian Guohua (1998) menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas yang lambat pada tanaman *Manihot esculenta*. Sedangkan Jordan *et al.*, (2001) menyatakan bahwa penggunaan thidi-

azuron merangsang pemanjangan tunas yang dihasilkan. Untuk mendapatkan pertumbuhan tunas yang maksimal perlu dicari perlakuan yang cocok sehingga dilakukan subkultur tunas pada perlakuan dengan konsentrasi rendah dan berbeda.

Tabel 2 menunjukkan bahwa tunas yang terbentuk dari semua perlakuan yang diuji adalah antara 10-50%. Penggunaan thidiazuron 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l merupakan perlakuan yang memberikan persentase tunas terbentuk paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu 50%. Hal ini diduga disebabkan karena pengaruh dari eksplan serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Dari Tabel 2 juga dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan tidak diikuti oleh peningkatan jumlah tunas yang terbentuk. Rata-rata jumlah tunas yang diperoleh dari perlakuan yang memberikan respon adalah sebanyak 1 tunas. Hal ini disebabkan karena umumnya tunas yang diperoleh pada tahap induksi adalah 1, dan akan meningkat apabila dilakukan subkultur. Hasil

Tabel 2. Persentase tunas terbentuk dan rata-rata jumlah tunas pada eksplan yang berespon dari beberapa perlakuan kinetin, BA dan thidiazuron

Perlakuan (mg/l)	Persentase eksplan membentuk tunas	Rata-rata jumlah tunas (buah)	Rata-rata tinggi tunas (cm)
Kin 0.5	40	1.0	0.3
Kin 1.0	20	1.0	0.3
Kin 2.0	20	1.0	0.2
Kin 3.0	20	1.0	0.2
BA 0.5	30	1.0	0.7
BA 1.0	10	1.0	0.3
BA 2.0	40	1.0	0.2
BA 3.0	20	1.0	0.1
Thi 0.5	50	1.0	0.2
Thi 1.0	50	1.0	0.2
Thi 2.0	20	1.0	0.1
Thi 3.0	10	1.0	0.1

yang berbeda dari penelitian Hossain *et al.*, (1992) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan sampai 2,5 mg/l diikuti oleh peningkatan jumlah tunas yang terbentuk.

Dari semua perlakuan yang diuji diperoleh tunas dengan tinggi antara 0,1-0,7 cm. Tunas paling tinggi dihasilkan dari perlakuan BA 0,5 mg/l dengan rata-rata tinggi tunas 0,7 cm (Tabel 2) dalam waktu 19 minggu. Hasil yang berbeda dari penelitian Roussos *et al.*, (1999) yang mendapatkan tinggi tunas antara 1,2-1,5 cm dari penggunaan BA dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain jenis dan tipe eksplan yang berbeda. Sehubungan dengan lambatnya pertumbuhan tunas yang dihasilkan maka dilakukan penelitian dengan menggunakan media dasar MS yang dimodifikasi dan penambahan zat pengatur tumbuh BA dengan konsentrasi rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penggunaan modifikasi media MS yang ditambah dengan BA 0,5 mg/l dihasilkan tunas dengan pertumbuhan ke arah pemanjangan yang lebih cepat dibandingkan dengan penggunaan media MS penuh. Hal ini dapat dilihat dari penampakan visual tunas yang diperoleh. Tunas yang dihasilkan berukuran sedang dengan tinggi 1,1 cm dalam waktu 9 minggu (Gambar 3C). Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dengan penggunaan media MS yang hanya menghasilkan tunas dengan tinggi 0,7 cm dalam waktu 19 minggu.

IV. KESIMPULAN

Perlakuan terbaik untuk induksi tunas adalah thidiazuron 2,0 mg/l sedangkan pertumbuhan paling cepat dan penampakan visual terbaik dihasilkan dari perlakuan BA 0,5 mg/l dengan tinggi tunas 0,7 cm. Persentase pembentukan tunas paling tinggi diperoleh dari perlakuan thidiazuron 0,5 dan 1,0 mg/l yaitu 50 %. Rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dari setiap eksplan yang memberikan respon adalah 1 tunas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ITTO yang telah memberikan dukungan dana dalam pelaksanaan penelitian ini melalui proyek : ITTO PD 426/06 Rev. 1 (F); The prevention of further loss and the promotion of rehabilitation and plantation of *Gonystylus* spp. (ramin) in Sumatra and Kalimantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan, L. 1987. *Teknik kultur jaringan*. PAU IPB, Bogor. 187 hal.
- Guohua, M. 1998. Effects of cytokinins and auxins on cassava shoot organogenesis and somatic embryogenesis from somatic embryos explants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **54** : 1 - 7.
- George, E.F and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Handbook and directory of commercial laboratories. Excegetics Lim. England.
- Heutteman, CA and JE. Preece (1993). Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **33** : 105 - 119.

- Hossain, M; SM. Rahman; A. Zaman; OI. Joarder and R. Islam. 1992. Micropropagation of *Morus laviegata* Wall. From mature strees. *Plant Cell Reports* **11** : 522 - 524.
- Jordan, M; M. Larrain; A. Tapia and C. Roveraro. 2001. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **66** : 89 - 95.
- Mukjizat, A. dan Hermansyah. 2005. Praktek pengelolaan dan pelestarian ramin (*Gonystylus bancanus*, (Miq) Kurz.) di PT. Diamond Raya Timber. Prosiding Semiloka Nasional Konservasi dan Pembangunan Hutan Ramin di Indonesia. Bogor, 28 September.
- Neves, LO; L. Tomaz and MPS. Fevereiro. 2001. Micropropagation of *Medicago truncatula* Gaertn. Cv. Jemalong and *Medicago truncatula* ssp. narbonensis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **67** : 81 - 84.
- Roussous, PA; A. Tolia-Morioli; CA. Pontikis and D. Kotsias. 1999. Rapid multiplication of Jojoba seedling by in vitro culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **57** : 133 - 137.
- Singh, AK; S.Chand; S. Pattnaik and PK. Cahand. 2002. Adventitious shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of *Dalbergia sissoo* Roxb., a timber yielding tree legume. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **68** : 203 - 209.
- Wattimena, GA. 1983. *Zat pengatur tumbuh tanaman*. PAU. IPB. Bogor.

