

PEMANFAATAN BAHAN TEKNIS KNO_3 , $CaCl_2$, $MgSO_4$, KH_2PO_4 SEBAGAI HARA MAKRO DAN *Benzil Adenin* DALAM PERBANYAKAN JATI (*Tectona grandis* L) SECARA *IN VITRO*

Karyanti, Juwartina Ida Royani
Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT
Kawasan Puspiptek, Serpong, Tangerang, Propinsi Banten
kusdarsono@yahoo.com

Abstract

Indonesia is a major producer of teak after India and will gradually decrease if not followed by replanting. In general, teak plants propagated through seeds but have many disadvantages. Teak plant propagation using *in vitro* technique being an alternative to get the mass production of teak clones. *In vitro* technique, to some extent, needs a high cost particularly in using pure chemical substance. As an alternative solution, pure chemical substance can be substituted by using a few technique chemical substances such as KNO_3 , $CaCl_2$, $MgSO_4$, and KH_2PO_4 . The aim of this research was to evaluated induction of shoot teaks, planted on different media with macro element substituted by different chemicals such as KNO_3 , $CaCl_2$, $MgSO_4$, and KH_2PO_4 . The result showed that using the same concentration between 2 different chemical substances on teak shoot induction, there was no different shoot growing in teak propagated between 2 media.

Kata kunci : *tectona grandis*, bahan kimia teknis, *in vitro*, *benzil adenin*, kinetin

1. PENDAHULUAN

Jati (*Tectona grandis* L) merupakan tanaman asli (endemik) yang tersebar disebagian besar jazirah India, Myanmar, Laos, Thailand bagian barat (Goh dan Monteuis. 2005). Penyebaran jati meluas memasuki wilayah Indonesia, Malaysia, Sri langka, Afrika, Amerika Selatan, Amerika Tengah dan Australia (Palanisamy *et al.* 2009). Jati menyebar di Indonesia secara alami dan banyak ditemukan di wilayah Jawa, Muna dan beberapa pulau kecil di dekat Jawa (Widiyanto *et al.* 2005). Luas penanaman jati diseluruh dunia diperkirakan sebanyak 2.5 juta hektar. Negara penghasil jati terbesar di dunia yaitu India sekitar 44% dan Indonesia sekitar 31% (Ball *et al.* 1999; Kollert dan Celubini. 2012).

Peningkatan jumlah penduduk dunia menyebabkan meningkatnya akan kebutuhan tempat tinggal dan produk industri berbahan baku kayu jati. Pasokan jati dari hutan alam lambat laun akan menurun jika tidak diikuti dengan penanaman kembali. Rehabilitasi hutan dan perluasan perkebunan jati menyebabkan meningkatnya permintaan akan bibit jati (Kollert dan Celubini. 2012). Hal ini menjadi terkendala saat bibit tidak tersedia.

Salah satu jati yang banyak ditanam oleh masyarakat adalah jati Myanmar. Jati Myanmar dapat tumbuh dengan baik di Indonesia dan saat ini banyak digunakan sebagai sumber bibit. Jati Myanmar memiliki keunggulan mudah beradaptasi, memiliki pertumbuhan yang tegak dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan jati lokal.

Tanaman jati pada umumnya diperbanyak melalui biji, tetapi germinasi biji sering mengalami kendala disebabkan karena biji jati yang keras, kualitas, kemampuan germinasi yang rendah, banyaknya buah yang kosong dan dibutuhkan waktu yang lama untuk memproduksi biji secara masal (Bonat dan Monteuis, 1997; Tiwari *et al.* 2002; Yasodha *et al.* 2005). Kendala di atas menjadi penghambat untuk memenuhi kebutuhan bibit dalam penanaman skala luas.

Perbanyakan tanaman jati secara vegetatif menjadi alternatif untuk penyediaan bibit jati dengan klon yang unggul dalam jumlah yang besar. Perbanyakan secara vegetatif tanaman jati dapat diperbanyak dengan menggunakan stump (Palanisamy *et al.* 2009), *grafting*, *budding*, pengakaran *ex vitro* juga perbanyakan secara *in vitro*. Perbanyakan tanaman jati secara *in vitro*

telah banyak dilakukan (Gupta *et al.* 1980; Royani *et al.* 2001; Tiwari *et al.* 2002; Widiyanto *et al.* 2005, DeGyves *et al.* 2007; Goh *et al.* 2010; Srinivasan *et al.* 2012). Aplikasi teknologi *in vitro* memerlukan investasi yang besar, salah satunya pada media tanam yang digunakan.

Penggunaan bahan kimia murni memerlukan biaya media yang tinggi, maka perlu dicari alternatif untuk mengurangi biaya media. Penggunaan bahan kimia teknis dapat menjadi alternatif yang tepat. Bahan kimia teknis umumnya digunakan untuk memenuhi kebutuhan unsur hara tanaman dalam budidaya di lapang seperti bertanam hidroponik. Kandungan logam yang dikandung bahan kimia teknis pada dasarnya sama dengan bahan kimia murni. Perbedaan antara kedua bahan kimia tersebut yaitu keberadaan logam pengotor. Konsentrasi logam pengotor dalam bahan kimia teknis tidak sama dan dalam aplikasinya tidak menghambat pertumbuhan tanaman.

Penelitian perlu dilakukan untuk dapat menekan biaya produksi khususnya dalam penggunaan bahan kimia makro sebagai sumber hara media tanam. Penelitian ini memanfaatkan beberapa bahan kimia teknis sumber hara makro seperti KNO_3 , CaCl_2 , MgSO_4 dan KH_2PO_4 sebagai sumber nitrat, kalsium, magnesium dan fosfat yang dikombinasikan dengan beberapa dosis zat pengatur tumbuh *Benzil Adenin* (BA) untuk menginduksi tunas jati melalui teknik *in vitro*.

Hipotesis penelitian yang dilakukan yaitu bahan kimia teknis dapat dimanfaatkan dan digunakan sebagai pengganti hara makro bahan kimia murni. Media yang mengandung hara makro bahan kimia teknis dengan penambahan *Benzil Adenin* (BA) dengan konsentrasi yang tepat dapat memperbanyak tunas jati melalui teknik *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan media perbanyak tunas jati yang mengandung unsur hara makro asal bahan kimia murni dan bahan kimia teknis dengan beberapa konsentrasi *Benzil Adenin* sehingga diperoleh media alternatif untuk skala produksi.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Mikropropagasi, Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT, Serpong, Tangerang, Banten.

Bahan eksplan yang digunakan dalam penelitian adalah planlet steril jati Myanmar. Eksplan dipilih yang mempunyai penampilan secara visual seragam baik bentuk daun, ukuran batang dan pertumbuhannya. Dalam setiap perlakuan eksplan yang digunakan mempunyai

satu buku dan ditanam satu eksplan dalam setiap tabung.

Media yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962), dengan pemakain komponen makro seperti KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan KH_2PO_4 diganti dengan bahan kimia teknis, sedangkan unsur yang lain selain yang disebut digunakan bahan kimia murni (dosis sesuai konsentrasi dalam media MS), dan ditambahkan *Benzil Adenin* dengan konsentrasi sesuai perlakuan. Volume media yang digunakan 8 ml per tabung.

Peralatan yang digunakan yaitu perlengkapan gelas untuk pembuatan media dan perlengkapan tanam seperti piset, gunting, scalpel, *laminar air flow*, alat timbang untuk penimbangan berat kalus, termometer ruangan, lux meter.

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan dua faktor, faktor pertama yaitu penggunaan bahan kimia yang terdiri dari bahan kimia murni sebagai kontrol dengan dosis 1 kali konsentrasi normal dan beberapa konsentrasi senyawa bahan kimia teknis dengan konsentrasi 0,5, 1, 1,5, 3 kali konsentrasi normal. Faktor ke dua yaitu konsentrasi zat pengatur tumbuh *Benzil Adenin* (0,1, 0,25, 0,5, 1 mgL^{-1}). Data yang diperoleh dianalisis dengan uji sidik ragam dan jika hasilnya nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil pada taraf 5 % (Gomez dan Gomes 1995).

Setiap perlakuan masing-masing diulang sebanyak 12 kali dan pengamatan dilakukan pada minggu ke-7. Pengamatan dilakukan pada karakter tinggi planlet, lebar daun, jumlah buku dan berat kalus. Semua perlakuan diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu ruangan 28 °C dengan kelembaban 40 – 45 % dan intensitas cahaya 1500 – 2000 lux.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengaruh kombinasi bahan kimia teknis dan zat pengatur tumbuh *Benzil Adenin* (BA)

Perlakuan bahan kimia mulai dari 0,5 sampai 3 kali konsentrasi normal bertujuan untuk melihat konsentrasi dan respon bahan kimia teknis dalam mempengaruhi pertumbuhan eksplan jati secara *in vitro*. Hasil pengamatan pada minggu ke-7 diperoleh bahwa penambahan *Benzil Adenin* pada konsentrasi 0,5 mgL^{-1} yang dikombinasikan dengan bahan kimia murni memberikan hasil tertinggi pada semua karakter yang diamati.

Perlakuan kombinasi bahan kimia teknis 1,5 kali konsentrasi normal dengan penambahan

Benzil Adenin 0.1 mgL⁻¹ pada minggu ke-7 setelah tanam menghasilkan tinggi tanaman tertinggi (4.5 cm) (Gambar 3). Berbeda dengan pengamatan terhadap karakter lebar daun, diperoleh lebar daun tertinggi (2.9 cm) pada kombinasi perlakuan bahan kimia teknis 0.5 kali konsentrasi normal dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.5 mgL⁻¹. Perlakuan kombinasi bahan kimia teknis 1.5 kali dan 1 kali konsentrasi normal dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.5 mgL⁻¹ menghasilkan jumlah buku terbanyak (7.3 dan 6.3 buku) begitu pula pada kontrol (6.5 buku) (Tabel 1). Eksplan jati memiliki respon dalam memperbanyak diri yaitu dengan meningkatnya jumlah buku dan akan menjadi eksplan selanjutnya dalam memperbanyak jumlah planlet jati. Kombinasi media yang tepat dalam menghasilkan jumlah buku yang optimal sangat berpengaruh dalam perbanyakannya selanjutnya.

Perkembangan eksplan jati dalam media perbanyakannya, diawali dengan munculnya kalus di bagian bawah eksplan. Kalus muncul karena adanya hormon endogen dalam eksplan jati. Hormon endogen itu diduga adalah sejenis auksin dimana dengan adanya sitokinin yang rendah mampu menginduksi kalus yang berfungsi mendukung pertumbuhan eksplan jati. Semua kombinasi perlakuan menghasilkan kalus pada awal sampai akhir pengamatan kecuali pada kombinasi bahan kimia teknis dosis 3 kali

konsentrasi normal dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.1, 0.25, dan 1 mgL⁻¹. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan bahan kimia teknis di atas 1.5 kali konsentrasi normal tidak dapat menginduksi pertumbuhan eksplan jati. Peningkatan konsentrasi unsur hara yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya keracunan yang menghambat atau mematikan tanaman. Perkembangan eksplan jati selain pengaruh media tanam juga dipengaruhi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Konsentrasi *Benzil Adenin* yang ditambahkan dalam media sangat mempengaruhi pertumbuhan eksplan jati. Konsentrasi *Benzil Adenin* 0.5 mgL⁻¹ mampu menginduksi kalus yang mendukung perkembangan eksplan jati pada semua konsentrasi bahan kimia teknis. *Benzil Adenin* adalah zat pengatur tumbuh kelompok sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel, memperbanyak tunas baru, induksi tunas, kombinasi dengan auksin dapat menginduksi kalus (Zulkarnain 2009)

Penggunaan bahan kimia teknis 1 kali dan 1.5 kali konsentrasi normal dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.1 mgL⁻¹ mampu menyeimbangi hasil perkembangan dari media kontrol pada konsentrasi normal dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.1 mgL⁻¹ (Gambar 1, 2 dan 3).

Tabel 1. Hasil pengamatan tinggi planlet, lebar daun, jumlah buku dan berat kalus pada minggu ke tujuh

Auksin BA (mgL ⁻¹)	Bahan Kimia (mgL ⁻¹)	Tinggi Planlet	Parameter pertumbuhan		
			Lebar daun	Jumlah Buku	Berat Kalus
0.1	Kontrol	3.8 abcd	2.3 abcde	5 cdefg	139.5 bcd
	Teknis 0.5 x	3.7 abcd	2.7 abc	5.7 bcd	179.7 abcd
	Teknis 1 x	3.9 abc	2.4 abcd	5.9 abc	198.5 abc
	Teknis 1.5 x	4.5 a	2.3 abcde	5.4 bcde	269.5 a
	Teknis 3 x	0.4 h	1 h	1.2 h	0 e
0.25	Kontrol	4.1 ab	2.5 abc	6.1 abc	230.7 ab
	Teknis 0.5 x	2.4 defg	1.8 defg	4.3 efg	99.5 cde
	Teknis 1 x	2.6 cdefg	2.1 cdef	5 cdefg	153.1 bcd
	Teknis 1.5 x	3.6 abcd	2.3 bcde	6.3 abc	226.6 ab
	Teknis 3 x	1.4 gh	1.5 fgh	4 g	0 e
0.5	Kontrol	4.5 a	2.9 a	6.5 ab	205.2 abc
	Teknis 0.5 x	3.4 abcde	2.9 a	5.6 abcd	188.4 abcd
	Teknis 1 x	4.4 a	2.6 abc	6.3 abc	153.2 bcd
	Teknis 1.5 x	3.6 abcd	2.8 ab	7.3 a	132.5 bcd
	Teknis 3 x	1.8 fg	1.3 gh	4.4 defg	12.3 e
1	Kontrol	3 abcdef	1.8 efg	4.8 cdefg	194.1 abc
	Teknis 0.5 x	3.1 abcdef	2.4 abcd	5.2 bcdefg	168.4 abcd
	Teknis 1 x	2.1 efg	1.5 fgh	4.1 fg	73.9 de
	Teknis 1.5 x	4.1 ab	2.4 abcd	5.6 bcde	76.5 de
	Teknis 3 x	2.8 bcdef	1.3 gh	4.1 fg	0 e

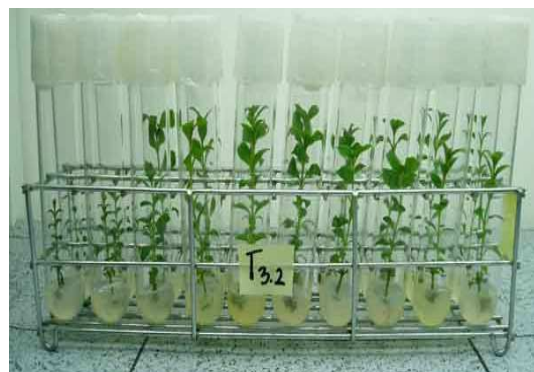
Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji lanjut BNT taraf 5%



Gambar 1. Planlet hasil perlakuan media perbanyak jati yang mengandung hara makro bahan kimia murni dengan penambahan BA 0.5 mgL^{-1} (kontrol)



Gambar 2. Planlet hasil perlakuan media perbanyak jati yang mengandung bahan kimia teknis 1 kali konsentrasi normal dengan penambahan BA $0,1 \text{ mgL}^{-1}$



Gambar 3. Planlet hasil perlakuan media perbanyak jati yang mengandung bahan kimia teknis 1.5 kali konsentrasi normal dengan penambahan BA $0,1 \text{ mgL}^{-1}$

Pertumbuhan eksplan jati selain dipengaruhi oleh kombinasi media tanam juga tentunya dipengaruhi lingkungan tumbuh yang optimal. Pertumbuhan jati sangat sensitif terhadap suhu ruangan. Eksplan jati khususnya jenis Myanmar dari hasil pengamatan sehari-hari kurang baik pertumbuhannya pada suhu di bawah 28°C , tetapi terlihat optimal pada suhu ruangan yang dikondisikan antara 28°C – 30°C . Kebutuhan suhu yang hangat ini ternyata dapat memacu zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media untuk bekerja lebih efektif pada semua bagian eksplan terutama dalam memacu pertambahan tinggi eksplan.

Selain suhu yang berpengaruh dan terlihat secara visual adalah penggunaan intensitas cahaya. Intensitas cahaya yang dibutuhkan dalam pertumbuhan eksplan jati adalah 2000 – 2500 lux. Pemberian intensitas cahaya yang kurang dapat menyebabkan pertumbuhan tinggi yang terjadi dikarenakan etiolasi. Tanaman yang tumbuh dalam kondisi etiolasi mempunyai warna batang yang pucat dengan kondisi batang yang lemah, begitu pula daun yang dihasilkan warnanya pun lebih muda dengan kondisi daun yang lebih lebar dari kondisi daun normal (Kyte dan Kylan, 1983).

Pengamatan terhadap pertumbuhan eksplan jati pada media dengan konsentrasi bahan kimia teknis dan sitokinin (*Benzil Adenin*) yang tinggi terlihat adanya dampak terjadinya vitrifikasi. Beberapa ciri-ciri tanaman jati yang mengalami kondisi vitrifikasi adalah pertumbuhannya tidak normal, jarak antar nodus pendek, daun menebal dengan terlihat mengembak, kehilangan kutikula, menghasilkan etilen yang berlebihan dan mati (Pasqualetto *et al.*, 1986). Penyebab dasar terjadinya vitrifikasi terletak pada potensial air di dalam jaringan tanaman, juga dapat disebabkan oleh konsentrasi agar ataupun sitokinin yang digunakan (Phan *et al.*, 1986). Menurut Pasqualetto *et al.* (1986), vitrifikasi dapat dicegah dengan memaksimalkan dalam penggunaan agar dan meminimumkan konsentrasi penggunaan sitokinin.

3.2. Aplikasi Beberapa Bahan Kimia Teknis Terhadap Biaya Produksi Bibit Jati

Bahan kimia teknis dibidang pertanian sudah banyak dimanfaatkan sebagai pupuk untuk menyediakan unsur hara dalam tanah dan dalam pertanian hidroponik. Aplikasi bahan kimia teknis dalam media kultur jaringan masih jarang digunakan. Teknik kultur jaringan umumnya lebih mengarah untuk penelitian. Tetapi saat ini teknik

kultur jaringan sudah dimanfaatkan untuk memproduksi tanaman dalam skala besar khususnya tanaman bernilai ekonomis. Aplikasi dengan memanfaatkan bahan kimia teknis tentunya dapat mengurangi biaya produksi khususnya dalam media tanam.

Penggunaan bahan kimia teknis dalam media kultur jaringan jika dilihat dari segi ekonomi memang memberikan perbedaan biaya. Perbedaan harga bahan kimia antara yang murni dan teknis untuk per kilogram terlihat sangat jauh (Tabel 2). Perbedaan harga dalam skala produksi akan sangat berpengaruh pada biaya produksi dan harga bibit.

Tabel 2 Harga bahan kimia murni dan teknis berdasarkan data harga tahun 2011

Bahan kimia yang di ganti	Harga bahan kimia murni dalam 1 Kg (Rp)	Harga bahan kimia teknis dalam 1 Kg (Rp)
KNO ₃	1.500.000	22.000
CaCl ₂	850.000	15.000
MgSO ₄	770.000	10.000
KH ₂ PO ₄	900.000	35.000
Total harga	4.020.000	82.000

Konversi harga bahan kimia dalam setiap kilonya ke dalam berat bahan kimia yang kita butuhkan dalam pembuatan 1 liter media seperti pada Tabel 3, menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kebutuhan biaya untuk 1 liter media tanam dengan bahan kimia teknis sekitar 58.09 rupiah sedangkan dengan menggunakan bahan kimia murni memerlukan biaya 3661.9 rupiah (Tabel 3).

Tabel 3 Harga satu liter media dengan bahan kimia murni dan bahan kimia teknis

Bahan kimia	Kebutuhan bahan kimia dalam 1 Liter media	Bahan kimia murni dlm 1 Liter media (Rp)	Bahan kimia teknis dlm 1 Liter media (Rp)
KNO ₃	1900 mg	2850	41.8
CaCl ₂ .2H ₂ O	440 mg	374	6.6
MgSO ₄ .7H ₂ O	370 mg	284.9	3.7
KH ₂ PO ₄	170 mg	153	5.95
Total		3661.9	58.05

Berdasarkan perbedaan harga antara kedua bahan kimia meskipun yang diganti hanya empat komponen hara makro, terlihat perbedaan harga yang signifikan dan dapat menekan biaya produksi. Hal ini menunjukkan bahwa bahan kimia

teknis dapat dimanfaatkan dalam perbanyakan melalui kultur jaringan khususnya untuk skala masal.

4. KESIMPULAN

Pertumbuhan eksplan jati berdasarkan pengamatan tinggi planlet, lebar daun dan jumlah buku dihasilkan tidak berbeda nyata yang menunjukkan bahwa bahan kimia murni (hara makro KNO₃, CaCl₂, MgSO₄ dan KH₂PO₄) dalam media kultur jaringan dapat diganti dengan bahan kimia teknis.

Bahan kimia teknis pada 1 dan 1.5 kali konsentrasi normal (bahan kimia murni) dengan penambahan *Benzil Adenin* 0.1 dan 0.5 mgL⁻¹ dapat meningkatkan karakter tinggi planlet dan jumlah buku.

Secara ekonomi pemanfaatan keempat komponen hara makro bahan kimia teknis dapat digunakan sebagai alternatif sumber unsur hara dalam media kultur jaringan sehingga dapat menekan biaya produksi pada perbanyakan bibit jati secara masal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ball J.B., D. Pandey, and S. Hirai. 1999. Global Overview of Teak Plantations. Paper presented to the Regional Seminar *Site, Technology and Productivity of Teak Plantations*. Chiang Mai, Thailand 26-29 January 1999.
- Bonal D. and O. Monteuis. 1997. *Ex vitro* survival, rooting and initial development of *in vitro* rooted vs. unrooted microshoots from juvenile and mature *Tectona grandis* genotypes. *Silvae Genet.* 46:301–306.
- DeGyves, E. M., I.R Juwartina and R. Eddo, 2007. Efficient method of micropropagation And *In vitro* Rooting of Teak. *J. Ann. For. Sci.* 64: 73-78.
- Goh, D.K.S and O. Monteuis. 2005. Rationale for developing intensive teak clonal plantations with spesial reference to Sabah. *Bois et Forets Des Tropiques.*285(3): 5-15.
- Goh, D.K.S., F. Chang, M. Jilimin and Y. Japarudin. 2010. Tissue Culture Propagation and Dispatch of Quality Teak Clones. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.* 18 (1): 147-149.

- Gomez, K.A dan Gomez, A. A. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian*. Edisi ke 2. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Gupta, P.K., A.L.Nadgir, A.F. Mascarenhas, and V. Jagannathan, 1980. Tissue culture of forest trees: Clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (teak) by tissue culture. *Plant Sci. Lett.* 17:259-268.
- Kollert, W. and Cherubini, L. 2012. Teak resources and market assessment 2010. FAO Planted Forests and Trees Working Paper FP/47/E, Rome.
- Kyte, L., and John Kylen. 1983. *Plant From Test Tubes*. 3th ed. Timber Press. Portland, Oregon.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Palanisamy K, K Gireesan, V Nagarajan & M Hegde. 2009. Selection and clonal multiplication of superior trees of teak (*Tectona grandis*) and preliminary evaluation of clones. *Journal of Tropical Forest Science.* 21(2): 168–174.
- Pasqualetto, P.L, R.H. Zimmerman and L. Fordham. 1986. Gelling Agent and Growth Regulation Effect on Shoot Vitrification of 'Gala' Apple In Vitro. *Journal of American Society for Horticultural Science.* 3: 976-980.
- Phan, C.T., and P. Hadagus. 1986. Possible Metabolic Basis for The Developmental Anomaly Observed in In Vitro Culture, Called "Viteous Plant". *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 6: 83 – 94.
- Royani, J., A. Riyadi and L. Novita, 2001. Micropropagation of Teak (*Tectona grandis* L. buds of teak (*Tectona grandis*L.) *In vitro*, Proceedings of National Conference: Technol Country. 26-28.
- Srinivasan, R., G. G. Selvam, K. Karthikeyan, C. Chandran, S. Kulothungan and C. Govindasamy. 2012. In vitro Propagation of Shoot and Callus Culture of *Tectona grandis* (L.). *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry.* 7(1): 26-29.
- Tiwari S.K., K.P. Tiwari, and E.A. Siril 2002. An improved micropropagation protocol for teak, *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 71: 1–6.
- Widiyanto, S. N., Dwi Erytrina and Heni Rahmania. 2005. Adventitious Shoot Formation on Teak (*Tectona grandis* L.f.) Callus Cultures Derived from Internodal Segments. Proc. IInd IS on Biotech. of Trop & Subtrop. Species Eds: W.-C. Chang and R. Drew. *Acta Hort* 692, ISHS. 153-157.
- Yasodha, R., R. Sumathi and K. Gurumurthi, 2005. Improved Micropropagation Methods for Teak. *J. Trop. For. Sci.* 17: 63-75.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta.