

Pengaruh variasi konsentrasi asam naftalen asetat (NAA) terhadap pertumbuhan dan kandungan minyak atsiri kalus melati (*Jasminum sambac* (L.) Ait.)

The effect of naphthalene acetic acid (NAA) on growth and essential oil contents of jasmine callus (*Jasminum sambac* (L.) Ait.)

GENINGSIH WIDYAWATI¹, SOLICHTUN^{1,*}, SOERYA DEWI MARLIYANA²

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126. Tel./Fax. +62-271-663375, *email: olich@mipa.uns.ac.id.

² Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126. Tel./Fax. +62-271-663375.

Diterima: 13 Desember 2005. Ditetapkan: 11 Mei 2006.

Abstract. The objectives of the research were to determine the effect of naphthalene acetic acid (NAA) in variation concentration on the growth and essential oil contents in *Jasminum sambac* (L.) Ait. callus. The research used a completely randomized design with one treatment due to NAA concentration, with five replications. The treatment was the application of NAA (0 mg/L; 0.5 mg/L; 1.0 mg/L; 1.5 mg/L; and 2.0 mg/L) on the MS media. The growth of *J. sambac* callus was examined after 5 weeks of incubation. Essential oil contents of *J. sambac* callus were tested by Gas Chromatography (GC). The research results indicated that NAA did not significantly influence the growth and the essential oil contents of *J. sambac* callus.

Keywords: Callus, essential oil, growth, *Jasminum sambac* (L.) Ait., NAA

PENDAHULUAN

Indonesia terkenal sebagai salah satu negara penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan salah satu produk agroindustri yang memiliki prospek cerah untuk dikembangkan. Hingga saat ini, terdapat 70 jenis minyak atsiri yang diperdagangkan di pasar dunia. Dari 70 jenis minyak atsiri tersebut, baru 25 jenis yang diproduksi dan diekspor Indonesia (Satuhu, 2004).

Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan. Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan suatu sel atau organ suatu organisme, tetapi tidak dimanfaatkan secara langsung sebagai sumber energi oleh sel atau organ yang membuatnya. Senyawa ini mempunyai peranan penting dalam kehidupan tanaman yang bersangkutan. Namun, kebutuhan tumbuhan akan metabolit sekunder tidak terlalu esensial dibandingkan dengan metabolit primer seperti protein, karbohidrat, dan lemak. Oleh karena itu, sintesis metabolit sekunder sering dijumpai dalam jumlah sedikit dalam tubuh tumbuhan (Sumarno, 1992).

Bunga melati (*Jasminum sambac* (L.) Ait.) memiliki nilai ekonomi yang tinggi sebagai bahan baku industri minyak wangi, kosmetik, pewangi, penyedap teh, cat, tinta, pestisida, dan industri tekstil. Meskipun peluang pasar bunga melati di dalam dan di luar negeri cukup besar, produksi bunga melati di Indonesia baru mampu memenuhi

sekitar 20% dari kebutuhan bunga melati di pasaran dunia (Rukmana, 1997).

Komponen penyusun minyak bunga melati adalah golongan ester (*benzyl benzoat*, *indole*, *methyl anhranilate*, *methyl jasmonat*), alkohol (*benzyl acetate benzyl alcohol*), keton (*cis-jasmone*), dan fenol (*eugenol*). Jika dianalisis, kandungan komponen minyak melati asli berbeda dengan minyak melati sintetis. Ciri-ciri minyak melati alami adalah adanya komponen *cis-jasmone*. Komponen ini terdapat dalam jumlah sekitar 34,13% dari seluruh komponen yang ada dan dapat dideteksi dengan analisis kimia (Satuhu, 2004).

Pemanfaatan teknologi kultur in vitro yang sebelumnya digunakan untuk pemuliaan dan perbanyakan tanaman, dewasa ini mulai diarahkan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat. Pemanfaatan teknologi ini sekaligus dapat menjawab permasalahan keterbatasan lahan untuk penanaman tumbuhan sumber metabolit sekunder, dan menjaga kestabilan biodiversitas, karena sering dijumpai adanya eksploitasi plasma nutfah sumber obat dari alam (Heble, 1996).

Aplikasi teknik kultur in vitro untuk menghasilkan metabolit sekunder dari kalus mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya menghemat waktu dan tenaga (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Keuntungan lainnya adalah tidak tergantung musim, dapat diproduksi dalam jumlah cukup banyak

dengan kondisi terkontrol, dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan (Suryowinoto, 1996).

Menurut Kyte dan Kleyn (1996), salah satu metode yang sering digunakan dalam berbagai penelitian untuk merancang suatu reaksi metabolisme dalam sel, termasuk untuk memacu produksi metabolisme sekunder, adalah melalui kultur kalus. Beberapa penelitian telah berhasil meningkatkan produksi metabolit sekunder dalam kultur kalus dengan pemberian zat pengatur tumbuh. Auksin dapat diberikan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan sitokinin untuk menginduksi kalus. Menurut Chang et al. dalam Suryowinoto (1996), penggunaan asam naftalenasetat atau *naftalene acetic acid* (NAA) untuk menginduksi kalus pada eksplan yang selanjutnya akan dianalisis kandungan metabolit sekundernya, memberikan efek yang lebih baik dibanding dengan auksin sintetik jenis lain. Hal ini disebabkan karena NAA tidak menimbulkan mutasi genetik yang dapat menyebabkan tidak stabilnya produksi metabolit sekunder. Menurut Hrazdina (1992), NAA yang ditambahkan ke dalam media dapat merangsang pembelahan sel dan sintesis protein, sehingga akan memacu pertumbuhan kalus yang nantinya akan mempengaruhi produksi minyak atsiri. Hingga saat ini, belum banyak dilakukan penelitian tentang produksi metabolit sekunder pada tanaman melati. Dari penelitian tersebut diharapkan akan diperoleh tanaman melati yang mempunyai kandungan minyak melati yang semakin meningkat (Gunawan, 1990; Nurmaeli, 1997).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), pemberian auksin pada jaringan akan menimbulkan pengaruh yang berbeda-beda. Pada umumnya, penambahan auksin pada konsentrasi yang semakin tinggi justru bersifat menghambat pertumbuhan. Berdasarkan permasalahan tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh NAA terhadap pertumbuhan kalus dan produksi minyak atsiri melati (*J. sambac*) yang ditanam pada media MS dengan metode kultur kalus.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah daun *J. sambac* pada urutan ketiga dari pucuk, bahan kimia untuk sterilisasi (akuades, etanol 70%, klorok 50%), bahan perlakuan (NAA), bahan ekstraksi kalus (etanol), dan media induksi kalus (media MS dengan 0,5 mg/L NAA dan 0,5 mg/L kinetin).

Cara kerja

Penelitian ini disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi NAA dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 0 mg/L; 0,5 mg/L; 1 mg/L; 1,5 mg/L; dan 2,0 mg/L, masing-masing perlakuan dengan 3 ulangan.

Peralatan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 20 menit. Media inisiasi kalus yang digunakan berupa media dasar MS ditambah dengan zat pengatur tumbuh

0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L kinetin, sedangkan media perlakuan berupa media dasar MS ditambah dengan NAA pada konsentrasi 0 mg/L; 0,5 mg/L; 1 mg/L; 1,5 mg/L; dan 2 mg/L.

Eksplan disterilisasi secara kimiawi dengan menggunakan akuades, etanol 70%, klorok 50%, dan akuades 3 kali (masing-masing selama 5 menit). Eksplan kemudian ditanam pada media inisiasi kalus selama 4 minggu untuk mendapatkan kalus, selanjutnya kalus dipindah ke media perlakuan hingga kalus berumur 5 minggu.

Pengamatan terhadap tekstur dan warna kalus dilakukan pada saat pembentukan kalus dan akhir perlakuan. Pengukuran terhadap berat basah kalus, berat kering kalus, dan laju pertumbuhan relatif kalus dilakukan pada akhir perlakuan. Kadar minyak atsiri melati diketahui dengan cara: sampel kalus yang sudah dikeringkan diekstraksi dengan 1 ml etanol, kemudian kandungan minyak atsirinya diuji dengan kromatografi gas Hitachi 263-50 GC Japan pada temperatur kolom 120-210°C, temperatur blok injektor dan temperatur blok detektor *Flame Ionization Detector* (FID) 235°C, kecepatan alir gas pembawa (N₂) 30 ml/menit, dan *Stationary Phase* Carbowax 20 M.

Analisis data

Analisis kuantitatif meliputi berat basah kalus, laju pertumbuhan relatif kalus, berat kering kalus, dan kandungan minyak atsiri melati pada setiap perlakuan. Data tersebut dianalisis dengan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf uji 5%, selanjutnya dilakukan analisis korelasi. Sementara itu, warna dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif. Data kromatogram dari kromatografi gas (GC) digunakan untuk menentukan konsentrasi relatif dari minyak atsiri melati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kalus pada media inisiasi

Pada media inisiasi kalus, penggunaan kombinasi ZPT berupa auksin (NAA) dan sitokinin (kinetin) dengan konsentrasi yang seimbang sebanyak 0,5 mg/L mampu menginduksi pembentukan kalus yang berasal dari eksplan berupa potongan daun *J. sambac*. Eksplan yang telah ditanam pada media inisiasi mulai tumbuh membentuk kalus rata-rata pada hari ke-9 setelah penanaman.

Kalus yang muncul pertama kali dalam media inisiasi berwarna putih bening dengan tekstur remah. Perubahan warna dari eksplan yang awalnya berwarna hijau menjadi putih bening disebabkan oleh adanya proses degradasi klorofil (Santoso dan Nursandi, 2002). Hal ini sesuai dengan penelitian Lestari dan Purnamaningsih (2001) tentang mikropropagasi daun dewa, bahwa terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kecokelatan atau putih kekuningan. Menurut Giulano et al. dalam Santosa dan Nursandi (2002), proses degradasi klorofil dapat terjadi melalui hilangnya rantai fitol oleh enzim klorofilase, sehingga

terbentuk klorofilin/klorofilid dan dapat juga terjadi akibat fotooksidasi, sehingga Mg^{2+} hilang dan terbentuk phaeophytin. Kemudian setelah kalus mengalami pertumbuhan membesar, warnanya menjadi putih kekuningan dengan tekstur remah.

Kalus pada media perlakuan

Tekstur dan warna kalus pada media perlakuan di akhir pengamatan disajikan pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa pasca perlakuan setelah disubkultur dalam media perlakuan selama 5 minggu, kenampakan visual yang langsung dapat diamati pada kalus adalah warna dan tekstur kalus. Warna dan tekstur kalus mengalami perubahan dari putih kekuningan dengan tekstur remah menjadi kuning kecokelatan dengan tekstur kompak. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh semakin dewasanya umur sel atau jaringan kalus dan menandakan terjadinya reaksi enzimatik yang mengarah pada sintesis senyawa fenol yang disebut *browning* (pencokelatan) (Santosa dan Nursandi, 2002). Terbentuknya kalus yang bertekstur remah ini juga dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut.

Berat basah kalus

Untuk mengetahui pertambahan volume dan massa sel dapat ditentukan dengan mengukur berat segar (berat basah) tanaman (Salisbury dan Ross, 1995). Data berat basah kalus *J. sambac* disajikan pada Tabel 2. Peningkatan berat basah kalus menunjukkan telah berlangsungnya proses pertumbuhan sel dalam kalus. Menurut Wattimena (1991), peningkatan berat basah terjadi akibat meningkatnya proses pengambilan air oleh sel. Pengukuran berat basah kalus pada akhir pengamatan dilakukan segera setelah dipanen sebelum layu akibat kehilangan air (Lakitan, 1995).

Tabel 1. Warna dan tekstur kalus *J. sambac* pada media perlakuan.

Media perlakuan	Morfologi kalus	
	Warna	Tekstur
A ₁	Kuning kecokelatan	Kompak
A ₂	Kuning kecokelatan	Kompak
A ₃	Kuning kecokelatan	Kompak
B ₁	Putih kecokelatan	Remah
B ₂	Putih kecokelatan	Remah
B ₃	Putih kecokelatan	Remah
C ₁	Putih kecokelatan	Agak remah
C ₂	Putih kecokelatan	Agak remah
C ₃	Putih kecokelatan	Agak remah
D ₁	Kuning kecokelatan	Kompak
D ₂	Kuning kecokelatan	Kompak
D ₃	Kuning kecokelatan	Kompak
E ₁	Kuning kecokelatan	Kompak
E ₂	Kuning kecokelatan	Kompak
E ₃	Kuning kecokelatan	Kompak

Keterangan: Penambahan NAA pada konsentrasi: A = 0 mg/L, B = 0,5 mg/L, C = 1 mg/L, D = 1,5 mg/L, E = 2 mg/L. Angka 1, 2, dan 3 yang mengikuti huruf merupakan ulangan.

Tabel 2. Berat basah kalus, laju pertumbuhan relatif, berat kering kalus, dan kadar minyak atsiri kalus *J. sambac* setelah diinkubasi selama 5 minggu pada media perlakuan.

Parameter	Penambahan NAA (mg/L)				
	0	0,5	1	1,5	2
Berat basah kalus (g)	3,95 ^a	2,33 ^a	3,65 ^a	3,53 ^a	3,31 ^a
Laju pertumbuhan relatif kalus (g/hari)	0,08 ^a	0,03 ^a	0,08 ^a	0,07 ^a	0,07 ^a
Berat kering kalus (g)	0,21 ^a	0,15 ^a	0,23 ^a	0,18 ^a	0,20 ^a
Minyak atsiri kalus (%)	53,40 ^a	59,61 ^a	64,08 ^a	67,45 ^a	75,30 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Tabel 2 menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak berpengaruh terhadap berat basah kalus *J. sambac*. Tidak adanya pengaruh pemberian NAA terhadap berat basah kalus diduga disebabkan kandungan hormon endogen pada sel-sel kalus sudah cukup untuk memicu pembentukan kalus. Hal ini seperti yang dikemukakan oleh Katuuk (1989) bahwa tanaman yang mampu memproduksi auksin endogen tidak memerlukan penambahan auksin sintetik dalam media. Dalam kondisi yang berlebih, auksin justru dapat menghambat pertumbuhan kalus. Hendaryono dan Wijayani (1994) juga mengemukakan bahwa pada kadar tinggi, auksin justru lebih bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan.

Laju pertumbuhan relatif kalus

Laju pertumbuhan relatif kalus dihitung dari selisih berat basah kalus pasca perlakuan dengan berat basah kalus awal perlakuan selama waktu perlakuan (Sitompul dan Guritno, 1995). Tabel 2 menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak berpengaruh terhadap laju pertumbuhan relatif kalus *J. sambac*, hal ini terbukti dari hasil analisis ANAVA yang menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji DMRT 5%. Menurut Lakitan (1995), pengaruh zat pengatur tumbuh tergantung pada kondisi anatomi dan fisiologi dari sel yang dipengaruhi dan tidak semua sel menjadi target hormon tertentu. Menurut Sriyanti dan Wijayani (1994), jenis dan kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media kultur jaringan sangat tergantung pada jenis tanaman.

Berat kering kalus

Pertumbuhan kalus selain ditentukan oleh peningkatan berat basah kalus juga ditentukan oleh berat kering kalus. Menurut Gardner *et al.* (1991), pengukuran terhadap berat basah kalus kurang mewakili parameter pertumbuhan karena angkanya berfluktuasi, bergantung pada kondisi kelembapan tanaman, sedangkan angka pengukuran terhadap berat kering kalus tidak berfluktuasi, karena berat kering kalus bersifat konstan. Menurut Tanimoto dan Harada (1985), berat kering kalus merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang bersifat *plastic extension*, artinya pertumbuhan yang tidak dapat balik. Tabel 2 menunjukkan bahwa berat kering kalus ternyata tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Umumnya berat kering kalus akan meningkat dengan banyaknya senyawa metabolit yang terkandung dalam sel-sel kalus tersebut, sedangkan berat basah kalus akan meningkat karena banyaknya air dan metabolit yang terkandung dalam sel kalus (Wattimena *et al.*, 1992).

Kandungan minyak atsiri kalus

Pengukuran kandungan minyak atsiri kalus *J. sambac* dilakukan terhadap komponen dominan yang merupakan komponen utama minyak atsiri melati tersebut, analisis yang dilakukan yaitu dengan membandingkan waktu retensi dan analisis kuantitatif dengan penghitungan luas area puncak tertinggi (Sastrohamidjojo, 1996). kandungan minyak atsiri kalus daun *J. sambac* disajikan pada Tabel 2. Data yang diperoleh menunjukkan tidak adanya beda nyata kandungan minyak atsiri kalus *J. sambac* pada tiap perlakuan, hal ini berarti pemberian NAA tidak berpengaruh terhadap kandungan minyak atsiri kalus. Dari data pada Tabel 2, terlihat bahwa kandungan minyak atsiri semakin meningkat dengan semakin meningkatnya penambahan NAA. Hal tersebut diduga terjadi karena NAA yang ditambahkan pada media oleh sel kalus tidak hanya digunakan untuk mengaktifkan enzim-enzim yang bekerja dalam pertumbuhan kalus, tetapi juga digunakan untuk mengaktifkan enzim-enzim yang bekerja dalam metabolisme minyak atsiri melati.

Kandungan minyak atsiri *J. sambac* memiliki nilai korelasi yang rendah terhadap laju pertumbuhan serta berat kering dan berat basah kalus yaitu kurang dari 0,5. Nilai positif pada hasil analisis uji korelasi terhadap laju pertumbuhan dan berat kering kalus menunjukkan bahwa jika laju pertumbuhan dan berat kering kalus mengalami peningkatan maka kandungan minyak atsiri kalus juga akan meningkat. Namun, berat basah kalus bernilai negatif, sehingga dapat disimpulkan bahwa jika berat basah kalus menurun maka kandungan minyak atsiri meningkat. Hal ini menunjukkan adanya kompetisi antara mekanisme pembentukan metabolit primer dan metabolit sekunder. Menurut Manuhara (1995), pada kondisi pertumbuhan kalus yang terhambat akan lebih banyak diproduksi metabolit sekunder sebagai manifestasi untuk pertahanan diri.

KESIMPULAN

Pemberian NAA pada berbagai konsentrasi (0 mg/L; 0,5 mg/L; 1 mg/L; 1,5 mg/L; 2 mg/L) memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap pertumbuhan dan kandungan minyak atsiri pada kalus *J. sambac*. Disarankan agar masa inkubasi kalus diperpanjang, sehingga pengaruh penambahan NAA dalam media dapat lebih terlihat. Selain itu juga disarankan untuk dilakukan induksi pembentukan organ (organogenesis), sehingga

dapat diketahui pengaruh diferensiasi sel terhadap kandungan minyak atsiri melati.

DAFTAR PUSTAKA

- Gardner, F.P., R.B. Pearce, and R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. dan Subiyanto. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Gunawan, S.A. 1990. *Melati*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Heble, M.R. 1996. Production of secondary metabolites through tissue cultures and its prospect for commercial use. In: Islam, A.S. (ed). *Plant Tissue Culture*. New York: Timber Press Inc.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hrazdina, G. 1992. Compartmentation in aromatic metabolism. In: Stafford, A.H. and K.R. Ibrahim (eds.). *Phenolic Metabolism in Plant*. New York: Plenum Press.
- Katuuk, J. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan.
- Kyte, L. and J. Kleyn. 1996. *Plant from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation*. 3rd edition. Washington: Timber Press Inc.
- Lakitan, B. 1995. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: Raja Grafindo.
- Lestari, E.G. dan R. Purnamaningsih. 2001. Mikropropagasi daun dewa (*Gynura pseudochina*) melalui tunas adventif. *BioSMART* 3(2): 18-22.
- Manuhara, Y.S.W. 1995. Pengaruh manipulasi media terhadap kandungan alkaloid vinkristin kalus daun *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Berkala Penelitian Hayati PBI Komisariat Surabaya* 1: 1-7.
- Nurmaeli, R.E. 1997. *Mikrostek Tanaman Melati (Jasminum sambac (L.) W. Ait.)*. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Rukmana, R. 1997. *Usaha Tani Melati*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Santosa, U. dan F. Nursandi. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Penerbit UMM.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Satuhu, S. 2004. *Melati: Penanganan Segar dan Pembuatan Minyak Bunga Melati*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sitompul, M.S. dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sriyanti, D.P. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sumarno. 1992. *Petunjuk Laboratorium: Analisis Metabolit Sekunder dengan HPLC*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tanimoto and H. Harada. 1985. Hormon Regulation of Flowering. In: Purohit, S.S. (ed.). *Hormonal Regulation of Plants Growth and Development*. The Haag: Martinus Nijhoff Publisher.
- Wattimena, G.A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, M.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M.A. Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.