

Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.) Secara *In Vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.)

Callus Induction from Kawista's Leaf (*Limonia acidissima* L.) Explant in vitro in the Medium of MS with Various Concentrations of Coconut Water (*Cocos nucifera* L.)

Eka Saptiani^{1*}, Hayatul Rahmi¹⁾, dan Muharam¹⁾

¹⁾ Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Singaperbangsa Karawang
Jl. HS Ronggowaluyo, Teluk Jambe Timur, Kab. Karawang 41361

*Penulis untuk korespondensi: saptianieka@gmail.com

Diterima 19 Oktober 2020 / Disetujui 26 Oktober 2020

ABSTRACT

*This research was conducted to find out the best effect from the concentration of coconut water to growth of kawista leaf explant (*Limonia acidissima* L.) with tissue culture methods. Research done in the laboratory of faculty of Agriculture of Singaperbangsa University. The method of research used experimental method, using a single Completely Randomized Design (CRD). Consisting of 12 treatments of coconut water, namely A control 0%, B 10%, C 20%, D 30%, E 40%, F 50%, G 60%, H 70%, I 80%, J 90%, K 100%, and L 10 ppm NAA+0,1 ppm BAP, each treatment with 3 replications. The results showed significant test done DMRT (Duncan Multiple Range Test) standard of 5%. The results showed that administration of coconut water significantly affected the percentage of callus growth, callus emergence and callus weight. The best treatment was with a treatment I (80%) with 100% growth percentage, and give callus weight of 1,22 gram. Treatment D (30%) give fastest callus growth time is 9 hsi.*

Keywords: coconut water, leaf's explant, callus induction, kawista, concentrations, tissue culture

ABSTRAK

*Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa terhadap pertumbuhan eksplan daun tanaman kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan metode kultur jaringan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal. Yang terdiri dari 12 perlakuan air kelapa yaitu A kontrol 0%, B 10%, C 20%, D 30%, E 40%, F 50%, G 60%, H 70%, I 80%, J 90%, K 100%, dan L 10 ppm NAA+0,1 ppm BAP, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga didapat 36 satuan percobaan. Hasil yang menunjukkan signifikansi dilakukan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa berpengaruh nyata terhadap persentase tumbuh kalus, waktu tumbuh dan bobot kalus. Perlakuan terbaik adalah pada perlakuan I 80% dengan persentase tumbuh 100%, dan memberikan bobot kalus terbesar 1,22 gram. Pada perlakuan D 30% memberikan waktu tumbuh tercepat 9 hsi.*

Keywords: air kelapa, eksplan daun, induksi kalus, kawista, konsentrasi, kultur jaringan

PENDAHULUAN

Kawista (*Limonia acidissima* L.) merupakan tanaman buah tropis yang termasuk dalam suku jejerukan (*Rutaceae*) yang memiliki aroma khas berbentuk bulat dengan kulit tebal dan keras (Apriyanto, 2004). Tanaman ini tumbuh alami di daerah kering di India, Sri Lanka, Myanmar, Indocina, Malaysia, dan Indonesia. Di Indonesia, tanaman ini tersebar di daerah Rembang, Pati, Tuban, Karawang, Situbondo, Jember, dan Bima, dan Aceh (Nurdiana *et al.*, 2016).

Kawista memiliki prospek yang sangat besar untuk dikembangkan, selain dapat diolah menjadi makanan, seperti dodol, jus dan sirup, tanaman kawista bisa dijadikan sebagai bahan obat. Menurut Dewi (2013) buah kawista mengandung flavonoid, glikosida, saponin, tanin kumarin, dan turunan tiramin yang dapat digunakan seperti menurunkan panas, sakit perut. Duri dan kulit kayunya digunakan untuk mengobati menstruasi yang berlebihan, gangguan hati, gigitan dan sengatan serta mabuk laut. Kayunya dapat dimanfaatkan sebagai bahan bangunan rumah dan peralatan pertanian.

Getah yang berasal dari kulit batangnya dapat digunakan sebagai pengganti gum arab.

Kultur jaringan tumbuhan adalah suatu teknik menumbuhkan sel, jaringan, ataupun irisan organ tanaman di laboratorium pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi aseptik (*steril*) untuk menjadi tanaman utuh. Kultur jaringan tanaman didasari oleh teori totipotensi sel (*Cellular totipotency*) yang menyebutkan bahwa setiap sel tanaman memiliki kapasitas untuk beregenerasi membentuk tanaman secara utuh serta tanaman yang dihasilkan bersifat identik dengan induknya. Keunggulan teknik jaringan yaitu penyediaan bibit dapat diprogram sesuai kebutuhan dan jumlah, sifat unggul tetap dimiliki, bibit yang dihasilkan lebih bebas hama dan penyakit (perbanyak aseptik), memiliki keseragaman bahan tanaman yang bagus (Dwiyani, 2015).

Salah satu faktor penentu keberhasilan kultur jaringan tumbuhan adalah pengaruh komposisi media. Pada penelitian ini peneliti menggunakan penambahan air kelapa sebagai alternative pengganti zat pengatur tumbuh pada media. Menurut Yunita (2011), air kelapa merupakan senyawa organik yang mengandung banyak nutrisi seperti 1,3 *diphenilurea*, *zeatin*, *zeatin gluoksida*, *zeatin ribosida*, kadar K dan Cl yang tinggi, sukrosa, fruktosa, glukosa, protein, karbohidrat, mineral, vitamin, sedikit lemak, Ca dan P. *Zeatin*, *zeatin gluoksida*, dan *zeatin ribosida* merupakan ZPT yang dapat meningkatkan pembelahan dan perpanjangan sel. Asam amino, gula dan vitamin digunakan untuk meningkatkan metabolisme sel yang berperan dalam sebagai energi, enzim dan co-faktor. Pemberian air kelapa dengan konsentrasi 45% mampu memberikan hasil kalus terbaik pada inisiasi eksplan daun tanaman kawista (Bahtiar, 2019), sedangkan berdasarkan penelitian Julianita (2019) pemberian air kelapa konsentrasi 15% mampu memberikan hasil pertumbuhan planlet terbaik untuk eksplan biji tanaman kawista. Berbekal penelitian tersebut peneliti melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa terhadap pertumbuhan eksplan daun kawista secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang. Waktu percobaan pada bulan Mei sampai Juli 2020. Bahan yang digunakan selama penelitian adalah eksplan daun kawista hasil *in vitro*, media MS (*Murashige and Skoog*), agar-agar, aquades, air kelapa, sukrosa, spirtus, alkohol 70%, NaOH 1 N, HCl 1 N dan aluminium foil. Alat yang digunakan selama penelitian adalah *autoclave*, *laminar air flow*, timbangan analitik, cawan petri, kompor, panci, *scapel*, *blade*, bunsen, pinset, gelas

ukur, labu ukur, spayer, sarung tangan karet, masker, suntikan, karet gelang, *tissue*, plastik *wrap*, botol kultur, kertas sampul, kertas label, korek api, alat tulis, PH meter, spatula dan kamera.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yang terdiri dari 12 perlakuan yaitu A kontrol 0%, B 10%, C 20%, D 30%, E 40%, F 50%, G 60%, H 70%, I 80%, J 90%, K 100%, L 10 ppm NAA+0,1 ppm BAP yang masing-masing perlakuan dengan 3 ulangan sehingga didapat 36 unit percobaan. Pengamatan peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah persentase tumbuh kalus, waktu tumbuh kalus, dan bobot kalus. Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis ragam uji F 5%, apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Tumbuh Kalus

Persentase tumbuh kalus merupakan salah satu parameter pengamatan yang menentukan keberhasilan pertumbuhan kalus. Penentuan persentase tumbuh kalus tanaman kawista diperoleh dengan cara menghitung eksplan kawista yang berkalus dibagi dengan banyaknya eksplan yang ditanam, kemudian dikalikan 100%. Hasil persentase tumbuh kalus pada eksplan daun tanaman kawista akibat penambahan air kelapa terdapat pada Tabel 1;

Tabel 1. Rata-rata persentase tumbuh kalus akibat pemberian air kelapa terhadap eksplan daun tanaman kawista (%)

Kode	Perlakuan (%)	Persentase Berkalus (%)
A	0 (Kontrol)	66.67 ab
B	10	100 a
C	20	100 a
D	30	33.33 ab
E	40	66.67 ab
F	50	66.67 ab
G	60	100 a
H	70	100 a
I	80	100 a
J	90	0 b
K	100	33.33 ab
L	10 ppm NAA + 0.1 ppm BAP (ZPT Sintesis)	100 a
KK (%)		7.44%

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji DMRT 5%

Berdasarkan pada Tabel 1, pemberian air kelapa menunjukkan adanya pengaruh nyata

terhadap persentase tumbuh kalus pada eksplan daun tanaman kawista secara *in vitro*. Perlakuan B, C, G, H, I dan L memberikan pengaruh yang paling tinggi, berbeda nyata dengan perlakuan J, tetapi tidak berbeda nyata pada perlakuan A, D, E, F, dan K. Hal ini sejalan dengan pernyataan Hendaryono dan Wijayani (1994) menyebutkan bahwa air kelapa mengandung diphenil urea yang mempunyai aktifitas seperti sitokinin sintetik sehingga mampu mendorong induksi kalus pada penelitian ini.

Pada perlakuan dengan penambahan air kelapa konsentrasi 90% (J) menunjukkan tidak terjadi pertumbuhan kalus, hal ini dikarenakan eksplan tersebut mengalami *browning* atau pencoklatan sehingga pertumbuhan kalus menjadi terhambat. *Browning* adalah proses terjadinya perubahan warna menjadi coklat dalam kultur jaringan karena akumulasi polifenol oksidase yang dilepas atau disintesis jaringan dalam kondisi teroksidasi ketika dilukai (Hutami, 2008). Tanaman kawista merupakan tanaman berkayu dan tahunan sehingga diduga penyebab itulah yang menyebabkan tanaman tersebut mengalami *browning*. Berdasarkan George dan Sherrington (1984) menyebutkan bahwa pencoklatan umumnya terjadi pada spesies tanaman berkayu, terutama bila eksplan diambil dari pohon dewasa hal ini dikarenakan penghambatan pertumbuhan biasanya sangat kuat pada beberapa spesies yang umumnya mengandung senyawa tanin atau hidroksifenol dengan konsentrasi tinggi. Pencoklatan pada jaringan muda lebih sedikit dibandingkan dengan jaringan tua.

Faktor lain yang mendukung keberhasilan persentase tumbuh kalus pada penelitian ini adalah karena penggunaan media MS yang mengandung komposisi seperti vitamin, unsur hara mikro dan makro, serta besi dan sukrosa sehingga cukup untuk memicu pertumbuhan kalus. Hal ini karena pertumbuhan organ vegetatif dipengaruhi oleh aktivitas auksin dan nitrogen dalam media dan sumber nitrogen organik paling tinggi terdapat pada media MS dibandingkan media lainnya (Ardiana, 2009).

Waktu Tumbuh Kalus

Munculnya kalus pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Kalus merupakan kumpulan materi atau zat-zat amorf terbentuk pada eksplan yang sel-selnya membelah terus-menerus. Khaniyah *et al.*, (2012) menyatakan bahwa munculnya kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan disertai munculnya bercak-bercak putih. Waktu tumbuh kalus diamati secara visual pada eksplan setiap hari, kemudian data hasil dilakukan analisis dengan analisis varian dan hasilnya menunjukkan nilai koefisien keragaman sebesar 15,06%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji DMRT taraf

5%. Berikut hasil waktu tumbuh kalus akibat pemberian air kelapa terhadap eksplan daun tanaman kawista pada Tabel 2;

Tabel 2. Rata-rata waktu tumbuh kalus (hsi) akibat pemberian konsentrasi air kelapa terhadap eksplan daun tanaman kawista

Kode	Perlakuan (%)	Waktu Tumbuh Kalus (hsi)
A	0 (Kontrol)	50 a
B	10	37 ab
C	20	19.33 abc
D	30	9 dc
E	40	11.50 bcd
F	50	12.50 abcd
G	60	12 abcd
H	70	18.67 abc
I	80	18.67 abc
J	90	0 c
K	100	29 bcd
L	10 ppm NAA + 0.1 ppm BAP (ZPT Sintesis)	5.67 bcd
	KK (%)	15,06%

Keterangan: Angka yang menunjukkan angka yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji DMRT 5%

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada Tabel 2, menunjukkan hasil waktu tumbuh kalus berbeda nyata terhadap penambahan air kelapa untuk media tumbuh eksplan daun tanaman kawista secara *in vitro*. Perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan J, D, E, K, dan L, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, C, F, G, H dan I. Pembentukan kalus pada eksplan daun tanaman kawista tercepat diperoleh pada perlakuan L yaitu 5,67 hsi. Perlakuan ini merupakan perlakuan ZPT sintesis 10 ppm NAA+0,1 ppm BAP sebagai variabel pembanding untuk penelitian ini. Sedangkan perlakuan pemberian air kelapa yang memperoleh hasil waktu tumbuh kalus tercepat yaitu perlakuan D (konsentrasi air kelapa 30%) dengan rata-rata waktu tumbuh kalus 9 hsi. Semakin tinggi konsentrasi air kelapa yang diberikan menunjukkan semakin lambat pertumbuhannya namun jika konsentrasi air kelapa kurang dari 30% juga menunjukkan semakin lambat juga pertumbuhan kalus sehingga diperlukan konsentrasi yang seimbang untuk memicu pertumbuhan kalus pada eksplan daun tanaman kawista.

Menurut Bey dan Sutisna (2006) air kelapa merupakan endosperm dalam bentuk cair yang mengandung unsur hara dan zat pengatur tumbuh. unsur hara dan ZPT yang terkandung didalam air kelapa terdiri dari ZPT golongan sitokinin seperti kinetin 273, 63 mg/l dan zeatin 290,47 mg/l serta ZPT auksin 198,55 mg/l, sedangkan unsur hara

yang terkandung yaitu N 43 mg/l, P 13,17 mg/l, K 14,11 mg/l, Fe 0,2 mg/l, Ca 24,67 mg/l, dan Zn 1,05 mg/l. Selain itu, air kelapa mengandung sukrosa 4,89 mg/l sebagai sumber karbon pertumbuhan tanaman *in vitro*, sehingga bermanfaat untuk menginduksi kalus serta menginduksi proses morfogenesis (Kristina, 2012).

Hormon sitokinin berperan penting dalam merangsang proses pembelahan sel tumbuhan sehingga mempercepat pertumbuhan tunas maupun kalus (Annisa, 2018). Unsur hara nitrogen beserta unsur hara lainnya dalam air kelapa berperan penting untuk pertumbuhan eksplan dan diferensiasi jaringan protokorm membentuk tunas (Setiawati, 2010). Ditambahkan oleh Sari *et al.*, (2011) bahwa air kelapa mengandung vitamin, mineral, asam amino, asam nukleat, fosfor, auksin dan giberilin yang berfungsi sebagai stimulator proliferasi jaringan, memperlancar metabolisme dan respirasi.

Kecepatan Tumbuh Kalus

Kecepatan tumbuh kalus merupakan data kecepatan pertumbuhan kalus yang diperoleh dari selisih diameter kalus dibagi dengan waktu pengamatan saat diameter kalus pada tiap pengamatan. Hasil kecepatan tumbuh kalus pada eksplan daun tanaman kawista akibat penambahan beberapa konsentrasi air kelapa terdapat pada Tabel 3;

Tabel 3 Rata-rata kecepatan tumbuh kalus (cm/msi) akibat pemberian air kelapa pada eksplan daun tanaman kawista

Kode	Perlakuan (%)	Kecepatan Tumbuh Kalus (cm/msi)
A	0 (Kontrol)	0.004 bc
B	10	0.015 abc
C	20	0.017 abc
D	30	0.007 bc
E	40	0.014 abc
F	50	0.013 abc
G	60	0.019 ab
H	70	0.016 abc
I	80	0.020 ab
J	90	0 c
K	100	0.006 bc
L	10 ppm NAA + 0.1 ppm BAP (ZPT Sintesis)	0.029 a
KK (%)		3.77%

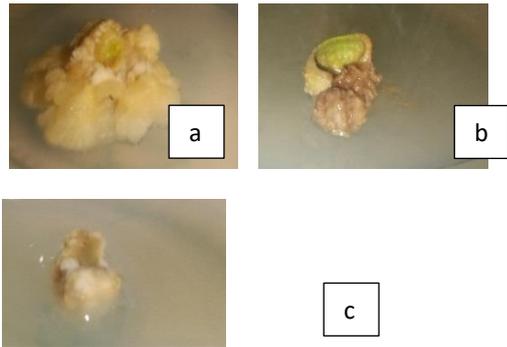
Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji DMRT 5%

Berdasarkan data Tabel 3 diatas, menunjukkan terdapat pengaruh nyata antara perlakuan L dengan A, D, J dan K, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, C, E, F, G, H, dan I. Perlakuan tertinggi terdapat pada perlakuan dengan menggunakan zat sintesis 10 ppm NAA+0,1 ppm BAP sebagai pembanding dalam penelitian ini. Perlakuan pemberian air kelapa pada eksplan daun kawista yang mampu menyamai tingginya kecepatan tumbuh kalus dari perlakuan ZPT sintesis yaitu perlakuan I dengan penambahan air kelapa sebesar 80%.

Hal ini diduga karena kandungan sitokinin yang ada pada air kelapa memiliki aktifitas yang sama dengan sitokinin sitokinin sintetis yang terkandung didalam BAP, sejalan dengan pernyataan Wattimena *et.al.* (1988) menyebutkan bahwa difenilurea yang terkandung dalam air kelapa memiliki aktifitas yang sama seperti sitokinin sintetis sehingga mampu merangsang pembentukan kalus dengan nilai yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan sitokinin sintetis. Air kelapa pada media kultur jaringan memperbaiki pertumbuhan tunas, mendorong pertumbuhan kalus dan morfogenesis sehingga efektifitas pembelahan sel semakin tinggi dan pertumbuhan serta perkembangan tanaman menjadi optimal (Tuhateru *et.al.*, 2012).

Pertumbuhan kalus diawali dari bagian pinggir eksplan dan dilanjutkan pada bagian luka eksplan yang bersentuhan langsung dengan media. Kalus yang tumbuh memiliki tekstur yang hamper sama (membulat dan keras). Auksin dan sitokinin merupakan jenis hormone yang dapat menyebabkan pembengkakan pada eksplan. Pembengkakan yang terjadi pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan awal akibat penyerapan air dan nutrisi dari media yang selanjutnya disertai dengan tahap amproliferasi (perbanyakan sel). Proses ini sesuai dengan pernyataan Salisbury dan Ross (1995), bahwa sel tumbuh memiliki kemampuan untuk menyerap air dan unsur hara sehingga menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran dan jumlah sel yang pada akhirnya menyebabkan pembengkakan jaringan.

Pada penelitian ini kecepatan tumbuh kalus pada eksplan daun tanaman kawista beragam yang diduga karena kemampuan dalam menyerap dan melakukan pembelahan sel yang berbeda pada setiap eksplan. Hal ini didukung dengan pernyataan Lakitan (1996) dalam Kartika *et.al* (2013) yang menyatakan bahwa setiap sel mempunyai kepekaan yang berbeda-beda terhadap ZPT yang diberikan sehingga mempengaruhi waktu pembelahan diri menjadi tidak sama karena siklus sel yang berbeda-beda.



Gambar 1. Hasil kalus akibat penambahan air kelapa a) perlakuan ZPT sintesis (L), b) perlakuan konsentrasi 80% air kelapa (I), c) perlakuan konsentrasi 30% (D)

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh nyata pemberian air kelapa terhadap persentase tumbuh kalus, waktu tumbuh kalus dan bobot kalus eksplan daun tanaman kawista (*Limonia acidissima* L.) secara in vitro. Perlakuan I (konsentrasi 80% air kelapa) memberikan hasil terbaik pada persentase tumbuh kalus dan kecepatan tumbuh yaitu 100 % dan 0,020 cm/msi, sedangkan perlakuan D (Konsentrasi 30% air kelapa) menunjukkan waktu tumbuh kalus tercepat yaitu 9 hsi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Hayatul Rahmi, S.Si.,M.Si Selaku Dosen Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian baik secara material maupun non-material.

DAFTAR PUSTAKA

- Annisa, T. 2018. Pengaruh Lama Perendaman Biji dan Konsentrasi BAP Terhadap Perkecambahan Biji Jeruk Manis Berastagi Lokal (*Citrus nobilis*) Brastapu secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian: Aceh Utara.
- Apriyanto, T. 2004. Identifikasi *Character Impact Odorants* Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.). *Jurnal Teknologi Industri Pangan*, Vol: 17(1): 35-46.
- Ardiana DW. 2009. Teknik Pemberian Benzyl Amino Purin untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo* L.). *Buletin Teknik Pertanian*, Vol: 14(2): 50-53.
- Bahtiar. 2019. Respon Eksplan Daun Tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.) Akibat Pemberian Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Kalus pada Pembibitan Tahap Awal dengan Teknik Kultur Jaringan. *Skripsi*. Agroteknologi Fakultas Pertanian UNSIKA: Karawang.
- Bey, Y. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Biogenesis*, Vol: 2(2): 41-46
- Dewi, R. 2013. Bioaktivitas Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Bima dan Penentuan Sidik Jarinya Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari: Bali.
- George, E. F., P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories* Exegetics Ltd: England.
- Hendaryono, D. 1994. *Teknik Kultur jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif Modern*. Kanisius: Yogyakarta.
- Hutami S. 2008. Ulasan Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agribiogen*, Vol: 4(2): 83-88.
- Julianita, JW. 2019. Respon Pertumbuhan Eksplan Kawista (*Limonia acidissima* L.) Akibat Penambahan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNSIKA: Karawang.
- Kartika, Lidya.,P. Kinanto Atmodjo dan L.M. Ekawati, P. 2013. Kecepatan Induksi Kalus dan Kandungan Eugenol Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz) yang Diperlakukan menggunakan variasi Jenis dan Konsentrasi Auksin. *Jurnal Litri*, Vol: 13: 142-145
- Khaniyah, N. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) dengan Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan Kinetin secara *In Vitro*. *Jurnal Biosaintifika*, Vol: 4(2): 112-115

- Kristina, N. 2012. Pengaruh Air Kelapa terhadap Multiplikasi Tunas *In Vitro*, Produksi Rimpang dan Kandungan Xanthorrhizol Temulawak Di Lapangan. *Jurnal Littri*, Vol: 18(3): 125-126.
- Nurdiana, dkk. 2016. Variasi Morfologi dan Pengelompokan Kawista (*Limonia acidissima* L.) di Jawa dan Kepulauan Sunda Kecil. *Jurnal Floribunda* Vol: 5(4): 144-156.
- Salisbury, F.B. dan Ross, C, W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. ITB: Bandung
- Sari, Y.P.,H. Manurung, Aspiyah. 2011. Pengaruh Pemberian Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Anggrek Kantong Semar (*Paphiopedilum supardii* Braem & Loeb) pada Media Knudson secara *In Vitro*. *Mulawarman Scientifie*, Vol: 10(2). ISSN 1412-498X.
- Setiawati, T.,S. Sanoesi., S. Muliati. 2010. Pupuk Daun dan Air Kelapa sebagai Medium Alternatif untuk Induksi Tunas Anggrek *Dendrobium Whom Leng In Vitro*. *Jurnal Biotika*, Vol: 8(1): 4-54.
- Tuhuteru, S., M.I. Hehanussa, S.H.T. Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia*, Vol: 1(1): 1-12
- Wattimena, G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB: Bogor
- Yunita, R. 2011. Pengaruh Pemberian Urine Sapi, Air Kelapa, Rootone-F terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Markisa (*Passiflora edulis var.flavicarva*). *Skripsi*. Pertanian Universitas Andalas: Padang.