Murgayanti · F.N. Ramadhanti · Sumadi

Peningkatan pertumbuhan tunas kunyit putih pada perbanyakan in vitro melalui aplikasi berbagai jenis dan konsentrasi sitokinin

Sari Kunyit putih (Kaempferia rotunda L.) merupakan tanaman obat yang bermanfaat dan perlu dibudidayakan lebih luas, namun terkendala oleh penyediaan bibit bermutu yang terbatas sehingga menjadi langka. Perbanyakan tanaman dengan cara konvensional memerlukan bibit bermutu dalam jumlah dan waktu yang lama, sedangkan ketersediaan benih masih terbatas. Perbanyakan secara in vitro dapat mengatasi kelangkaan bibit kunyit putih yang bermutu tinggi dalam jumlah besar dan bebas patogen. Ketersediaan bibit unggul yang dihasilkan secara in vitro bergantung pada jenis dan konsentrasi sitokinin yang ditambahkan pada media kultur. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan jenis dan konsentrasi sitokinin yang paling baik pengaruhnya terhadap pertumbuhan tunas kunyit putih secara in vitro. Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran yang berlangsung pada bulan Agustus 2019 - April 2020. Bahan tanam berasal dari tunas rimpang yang berukuran ±0,5 - 1,0 cm. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap 10 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Media yang digunakan adalah Murashige and Skoog dengan 10 perlakuan yang diuji yaitu tanpa penambahan sitokinin, penambahan jenis sitokinin Benzil Amino Purine, 2-Isopenteniladenina konsentrasi 1,5; 3,0; dan 4,5 ppm dan Thidiazuron konsentrasi 0,15; 0,30; dan 0,45 ppm. Hasil percobaan menunjukkan terdapat pengaruh yang berbeda dalam memacu dan merangsang pemunculan jumlah tunas, tinggi tanaman, dan panjang akar pada tunas kunyit putih secara in vitro. Pemberian 0,45 ppm *Thidiazuron* memberikan pengaruh terbaik dalam menghasilkan jumlah tunas.

Kata kunci: Tunas rimpang · Perbanyakan · Kaempferia rotunda · Sitokinin

Growth increase of white turmeric shoots *in vitro* propagation by application different types and concentrations of cytokinin

Abstract. White turmeric (*Kaempferia rotunda* L.) is useful medicinal plant and need to be cultivated more widely, but is constrained by the supply of limited high quality seeds. *In vitro* propagation can overcome the scarcity of high quality white turmeric seeds in large quantities and pathogens free. Availability of superior seeds produced *in vitro* depends on the type and concentration of cytokinin added to the culture media. The aim of this research was to determine type and concentration of cytokinins that give the best effect on the growth of white turmeric shoots *in vitro* culture. The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory of Agriculture, Universitas Padjadjaran from August 2019 to April 2020. The planting material was derived from rhizome buds measuring ±0.5 - 1.0 cm. The experimental design was Completely Randomized Design by 10 treatments with 3 replications. Medium used Murashige and Skoog with 10 treatments: no cytokinin addition, the addition of cytokinin *Benzyl Amino Purine*, 2-*Isopenteniladenina* concentrations 1.5; 3.0; and 4.5 ppm and *Thidiazuron* concentrations 0.15; 0.30; and 0.45 ppm. The results showed that there were different effect in stimulating the appearance number of shoots, plant height, and root length in multiplication of white turmeric *in vitro*. The treatment of *Thidiazuron* 0.45 ppm was the best treatment on number of shoots.

 $\textbf{Keywords:} \ Rhizome \ buds \cdot Multiplication \cdot \textit{Kaempferia rotunda} \cdot Cytokinin$

Diterima: 17 September 2020, Disetujui: 22 Desember 2020, Dipublikasikan: 31 Desember 2020

doi: https://doi.org/10.24198/kultivasi.v19i3.29469

 $Murgayanti \cdot F.N.\ Ramadhanti \cdot Sumadi$

Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Korespondensi: murgayanti@unpad.ac.id

Pendahuluan

Kunyit putih (Kaempferia rotunda L.) merupakan salah satu jenis tanaman biofarmaka, sehingga dapat ditanam untuk keperluan apotek hidup. Kunyit putih belum begitu terkenal namun sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat alami yang dapat mengobati berbagai penyakit, seperti masyarakat di kabupaten Gowa memanfaatkan rimpang kunyit putih dengan cara diparut, diblender, dan diiris lalu dimasak untuk mengobati penyakit kanker gondok beracun, maag, payudara, tumor abdomen, dan kelenjar getah bening (Chaerunnisa, 2018). Potensi ini didukung oleh ketersediaan sumber daya flora, keadaan tanah dan iklim, serta perkembangan industri obat modern dan tradisional di Indonesia. Keadaan iklim dan tanah Indonesia yang beriklim tropis keunggulan untuk menjadi salah satu pengembangan berbagai jenis famili zingiberaceae termasuk kunyit putih (Sari et al., 2012). Kandungan utama dari Kaempferia rotunda L. adalah Benzyl benzoate dan crotepoxide sebagai antibakterial yang dapat melawan bakteri (Diastuti et al., 2018).

Badan Pusat Statistik (2017) mencatat target tersedianya benih sumber kunyit dan tanaman obat lainnya yang terus meningkat dari tahun 2015-2019 sebesar 2%. Kebutuhan simplisia cukup tinggi, namun tidak sebanding dengan produksi yang masih belum bisa mencukupi kebutuhan pasar terutama untuk industri obatobatan herbal. Hingga saat ini tanaman obat hasil budidaya untuk memenuhi kebutuhan pasar hanya 22% dan sisanya diambil langsung dari hutan sebanyak 78% (Salim dan Munadi, 2017). Rimpang kunyit putih dijual dengan harga yang cukup tinggi yaitu Rp.65.000/kg dan belum banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia.

Permalasahan dalam pengembangan kunyit putih yaitu bibit bermutu yang terbatas, ketersediaan bibit hanya sekali dalam setahun pada musim hujan atau akhir musim kemarau, dan masa dormansi rimpang yang cukup lama. *Kaempferia galanga* memiliki periode dormansi berkisar 2-3 bulan dan *K. parviflora* sekitar 1-2 bulan (Karim *et al.*, 2014). Pembibitan dilakukan dengan cara konvensional dari rimpang.

Bibit asal rimpang memiliki kelemahan diantaranya membutuhkan waktu yang lama minimal sembilan bulan sejak penanaman, dormansi rimpang saat musim kemarau, lahan membutuhkan yang luas, pemeliharaan yang mahal, sering kali membawa virus penyakit yang ditularkan dari tanaman yang sudah terserang asal sehingga produktivitasnya menurun (Yulizar et al., 2014; Mustafaanand, 2014). Patogen yang menginfeksi rimpang diantaranya Ralstonia solanacearum atau layu bakteri yang menyebabkan rimpang busuk dan tanaman mati. Selain itu, Sclerotium sp., Rhizoctonia sp., dan Fusarium oxysporum menyebabkan akar busuk dan tanaman mati (Wiratno, 2017).

Solusi untuk memecahkan masalah tersebut adalah dengan perbanyakan tanaman menggunakan kultur jaringan. Saat ini belum terdapat studi mengenai peningkatan pertumbuhan tunas dengan sitokinin tunggal yang mampu menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak, waktu yang relatif singkat, tidak memerlukan tempat yang luas, perbanyakan dapat dilakukan tanpa bergantung pada musim, dan menghasilkan bibit yang lebih sehat (Yunus et al., 2016). Selain itu, kebutuhan bibit akan selalu tersedia sepanjang musim dan dapat menghindari patogen virus, bakteri, dan jamur yang terbawa dari tanaman induk (Quiroz et al., 2017). Selain itu, perbanyakan K. rotunda secara in vitro bermanfaat untuk pengembangan teknologi budidaya tanaman dalam skala besar (Joy et al., 2016).

Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh penggunaan media dasar dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media kultur. Penambahan ZPT berfungsi untuk merangsang pertumbuhan eksplan yang dikulturkan dari sel, jaringan ataupun organ (Yunus et al., 2016). Pemilihan ZPT yang tepat bergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan. Jenis ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah sitokinin yang dapat merangsang pertumbuhan tunas.

Aktivitas ZPT pada pertumbuhan tanaman bergantung pada jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman, serta kondisi fisiologis tanaman (Davies 1995; Satyavathi et al., 2004). Jenis sitokinin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu Thidiazuron (TDZ), termasuk sitokinin tipe urea yang tidak dapat terdegradasi di dalam jaringan tanaman, sehingga lebih kuat daripada Benzil Amino Purine (BAP) dengan aktivitas sitokinin tipe purin atau 2-Isopenteniladenina (2-iP) tipe

adenin (Guo *et al.*, 2011). Sitokinin berperan dalam proses pembelahan sel dan morfogenesis, selain itu memacu inisiasi dan proliferasi tunas (Iliev *et al.*, 2010). Tujuan penelitian ini yaitu untuk memperoleh jenis dan konsentrasi sitokinin terbaik untuk multiplikasi tunas kunyit putih (*K. rotunda* L.) secara *in vitro*.

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Waktu penelitian yaitu pada bulan Agustus 2019 – April 2020.

Persiapan bahan tanaman. bertujuan untuk menumbuhkan tunas pada rimpang yang sudah dipanen. Persiapan menggunakan trial and error pada proses sterilisasi untuk mendapatkan eksplan yang streril meminimalisasi peluang kontaminasi, hingga menguji kemampuan tumbuh eksplan yang dihasilkan dari tunas rimpang pada media yang diberi penambahan jenis sitokinin yang berbeda. Rimpang (dari kebun Biofarmaka IPB) dicuci, kantung air pada rimpang dibuang, lalu rimpang disimpan di ruangan bersuhu sekitar 25° C. Selama penyimpanan rimpang dalam keadaan gelap dan lembab, apabila permukaan kering dilakukan rimpang penyemprotan dengan GA₃.

Pembuatan Media. Media yang digunakan adalah *Murashige & Skoog* (MS) dengan penambahan sitokinin BAP, 2-iP konsentrasi 1,5; 3,0; dan 4,5 ppm dan TDZ dengan konsentrasi 0,15; 0,30; dan 0,45 ppm.

Persiapan eksplan. Eksplan berupa tunas rimpang kunyit putih, dengan ukuran ±0.5-1.0 cm. Sterilisasi eksplan dicuci dengan air mengalir, lalu direndam dengan detergen 5', dengan aquadest hingga kemudian direndam dengan fungisida 0,6 g/100 mL aquades selama 60', dibilas dengan aquades hingga tidak berbau, selanjutnya direndam bakterisida 0.1 g/100 mL selama 60' dan kemudian dicuci dengan aquades hingga tidak berbau. Setelah itu, sterilisasi dilakukan didalam Laminar Air Flow (LAF), tunas rimpang dibilas aquades steril 2-3 kali, lalu direndam alkohol 70% selama 5', dibilas dengan aquades steril sampai bersih, kemudian direndam dengan clorox 20% selama 15', dibilas aquades steril 3-4

kali. Selanjutnya direndam dengan clorox 10% + 3 tetes tween 20 selama 15′, lalu dibilas aquades steril 3-4 kali. Terakhir, tunas rimpang direndam HgCl 0,2% selama 5′, lalu dibilas aquades steril sampai bersih. Setelah itu, tunas ditiriskan pada gelas ukur yang dialasi kertas saring.

Penanaman. Tunas yang telah disterilisasi ditanam didalam LAF. Setiap tunas di isolasi dan diambil bagian meristem terkecil yang bisa dijangkau dengan ukuran sekitar 0,5 – 1,0 cm. Setiap satu botol media perlakuan ditanam satu eksplan tunas kunyit putih. Setelah penanaman, botol kultur diberi label, dan disimpan didalam ruang kultur selama 12 minggu setelah tanam (MST).

Analisis data. Metode yang digunakan adalah metode eksperimental berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 10 perlakuan yaitu (a) kontrol; (b) 1,5 ppm BAP; (c) 3,0 ppm BAP; (d) 4,5 ppm BAP; (e) 0,15 ppm TDZ; (f) 0,3 ppm TDZ; (g) 0,45 ppm TDZ; (h) 1,5 ppm 2-iP; (i) 3,0 ppm 2-iP; (j) 4,5 ppm 2-iP. Semua perlakuan diulang tiga kali, masingmasing ulangan terdiri dari tiga unit. Peubah yang diamati yaitu waktu muncul tunas baru, jumlah tunas, jumlah daun, dan tinggi tanaman. Analisis data kuantitatif dengan menggunakan analisis ragam berdasarkan uji F pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan Uji Scott Knott pada taraf nyata 5% atau Uji T pada taraf nyata 5%.

Hasil dan Pembahasan

Waktu Muncul Tunas Baru. Berdasarkan hasil pengamatan, menunjukan bahwa eksplan yang ditanam pada media yang diperkaya 0,45 ppm TDZ merupakan waktu pertama kali eksplan bertunas yang tercepat, yaitu pada 5 hari setelah tanam (HST). Waktu eksplan bertunas yang paling lambat adalah eksplan yang ditanam pada media yang diperkaya 3,0 ppm 2-iP dan kontrol yaitu pada 26 hst (Gambar 1).

Eksplan yang bertunas merupakan tanda adanya pertumbuhan sel yang mampu menghasilkan organ baru dan tumbuh dengan baik. Salah satu indikator untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam budidaya *in vitro* adalah saat munculnya tunas (Yunus *et al.*, 2016). Hasil penelitian Pierik (Kasilingam *et al.*, 2018) menyatakan bahwa penambahan sitokinin tunggal terutama BAP

Jurnal Kultivasi Vol. 19 (3) Desember 2020 ISSN: 1412-4718, eISSN: 2581-138x

dalam kultur tunas jahe dapat mempercepat multiplikasi tunas aksilar yang optimal karena penambahan sitokinin menghasilkan jumlah tunas tertinggi dengan pertumbuhan yang cepat.

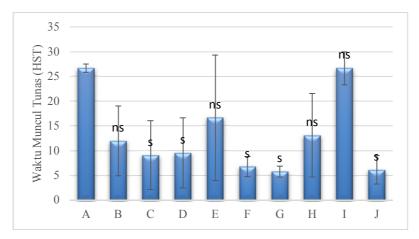
Jumlah tunas. Jumlah tunas menandakan keberhasilan dalam multiplikasi. Semakin banyak tunas yang tumbuh, tingkat multiplikasi semakin tinggi. Pada tabel 1 menunjukan bahwa jenis dan konsentrasi sitokinin yang berbeda secara *in vitro* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah tunas pada 4, 8, dan 12 MST.

Media yang diperkaya 0,45 ppm TDZ menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang lebih banyak daripada perlakuan yang lain. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Naz *et al.* (2012) bahwa frekuensi multiplikasi tunas dapat meningkat dengan peningkatan konsentrasi sitokinin tanpa tambahan auksin. Struktur kimia TDZ lebih stabil dan aktivitas biologi lebih tinggi daripada BAP sehingga mampu memacu pertumbuhan tunas yang lebih baik (Guo et al., 2011). Pertumbuhan tunas seragam, berukuran kecil, dan pertumbuhan tinggi planlet hanya sedikit. Hal ini didukung pada multiplikasi anis (Pimpinella anisum L.) yang pertumbuhan tunasnya banyak namun tinggi tunasnya terhambat seiring meningkatnya konsentrasi TDZ di dalam media (Rostiana, 2007). Hal yang sama terjadi pada kultur Gardenia jasminoides dengan penambahan 2-iP dan BA pada media menyebabkan pertumbuhan tunas baru semakin banyak, namun panjang tunas semakin pendek (Chuenboonngarm et al., 2001).

Tabel 1. Jumlah tunas, jumlah daun, dan tinggi tanaman kunyit putih pada jenis dan konsentrasi sitokinin secara in vitro.

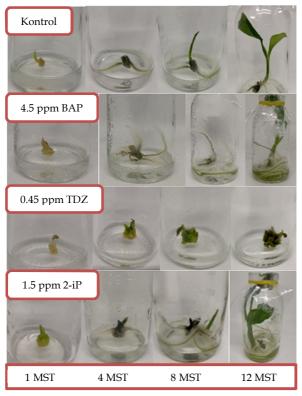
Perlakuan	Jumlah Tunas (buah)			Jumlah Daun (helai)	Tinggi Tanaman (cm)
	4 MST	8 MST	12 MST	12 MST	12 MST
A = Tanpa zat pengatur tumbuh	0,88 c	0,88 c	1,33 b	2,00 a	5,30 a
B = 1,5 ppm BAP	0,66 c	0,77 c	1,55 b	3,16 a	5,21 a
C = 3.0 ppm BAP	0,88 c	1,00 c	1,44 b	2,33 a	4,69 a
D = 4,5 ppm BAP	1,11 b	1,33 b	1,77 b	2,00 a	5,41 a
E = 0.15 ppm TDZ	1,21 b	1,21 b	1,66 b	2,98 a	1,12 b
F = 0.3 ppm TDZ	1,44 b	1,44 b	2,10 b	2,65 a	0,92 b
G = 0.45 ppm TDZ	1,88 a	2,11 a	3,75 a	2,66 a	1,81 b
H = 1,5 ppm 2-iP	1,22 b	1,33 b	1,66 b	2,82 a	3,04 b
I = 3.0 ppm 2-iP	0,44 c	0,44 c	0,66 b	2,16 a	3,77 a
J = 4.5 ppm 2-iP	1,11 b	1,11 c	1,33 b	2,00 a	3,80 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata menurut Uji Scott-Knott pada taraf nyata 5%



Gambar 1. Waktu muncul tunas baru kunyit putih pada jenis dan konsentrasi sitokinin secara in vitro. Hasil Uji T-test pada taraf nyata 5% (A); Tanpa ZPT (kontrol); (B) 1,5 ppm BAP; (C) 3,0 ppm BAP; (D) 4,5 ppm BAP; (E) 0,15 ppm TDZ; (F) 0,30 ppm TDZ; (G) 0,45 ppm TDZ; (H) 1,5 ppm 2-iP; (I) 3,0 ppm 2-iP; (J) 4,5 ppm 2-iP.

Eksplan yang menghasilkan sedikit tunas seperti perlakuan kontrol, media dengan pemberian 3,0 ppm 2-iP, dan media yang diperkaya 4,5 ppm 2-iP diduga disebabkan oleh eksplan yang dikulturkan sudah mengandung endogen yang cukup, sehingga penambahan sitokinin eksogen tidak dapat pertumbuhan tunas merangsang dengan optimal. Hal ini sejalan dengan penyataan Suharijanto (2011) bahwa jumlah tunas yang disebabkan oleh eksplan yang kandungan auksin endogen dan sitokinin eksogennya berjumlah seimbang.



Gambar 2. Penampilan eksplan kunyit putih pada berbagai konsentrasi sitokinin

Jumlah daun. Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 1 saat 12 MST belum terlihat perbedaan yang nyata pada semua perlakuan. Pertumbuhan daun tercepat yaitu pada 8 MST. Jumlah rata-rata daun yang tumbuh sebanyak 2 helai per botol dan jumlah daun terbanyak yaitu 3 helai diperoleh pada perlakuan B dengan pemberian 1,5 ppm BAP pada media MS sehingga perbedaan jenis sitokinin juga tidak mempengaruhi pembentukan daun.

Jumlah daun berkaitan dengan proses fotosintesis tanaman karena daun mengandung klorofil sebagai tempat berlangsungnya proses fotosintesis. Semakin banyak jumlah daun yang tumbuh, maka hasil fotosintesis semakin banyak pula. Jumlah daun dipengaruhi oleh jumlah tunas yang tumbuh, semakin sedikit jumlah tunas yang tumbuh, maka jumlah daun yang terbentuk semakin sedikit dan begitu pula sebaliknya (Demissie, 2013).

Tinggi Tanaman. Hasil pengamatan dan analisis statistika tinggi tanaman pada 12 MST pada Tabel 1 menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Tinggi tanaman tertinggi diperoleh pada media dengan penambahan 4.5 ppm BAP dengan rata-rata tinggi tanaman 5.41 cm (Gambar 1). Tinggi tanaman adalah salah satu variabel terpenting untuk menilai laju pertumbuhan eksplan yang dikulturkan. Menurut Mardiyah et al. (2017), pertumbuhan tinggi atau panjang suatu organ tanaman merupakan hasil aktivitas pembelahan, pemanjangan, dan pembesaran selsel yang terdapat pada jaringan meristem.

Media yang diperkaya dengan 1,5 ppm BAP; 3,0 ppm BAP; 4,5 ppm BAP; 3,0 ppm 2-iP; dan 4.5 ppm 2-iP menghasilkan tinggi tanaman yang tinggi karena jumlah tunas yang muncul lebih sedikit. Penyataaan ini didukung oleh hasil penelitian Ramesh & Ramassamy (2014), bahwa jumlah tunas yang muncul mempengaruhi tinggi tanaman, semakin sedikit tunas yang muncul maka tinggi tanaman semakin meningkat dan begitu pula sebaliknya. Hal ini disebabkan oleh energi yang dibutuhkan untuk pemanjangan tunas digunakan untuk pembentukan calon tunas lainnya, sehingga tinggi tunas dapat mengalami penghambatan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

- 1. Jenis dan konsentrasi sitokinin yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda dalam memacu dan merangsang pemunculan jumlah tunas, tinggi tanaman, dan panjang akar pada tunas kunyit putih (*K. rotunda*) secara *in vitro*.
- 2. Pemberian 0,45 ppm *Thidiazuron* memberikan pengaruh terbaik dalam hal menghasilkan jumlah tunas karena menghasilkan jumlah tunas terbanyak.

(diakses pada 13 Juli 2020)

Daftar Pustaka

- Badan Pusat Statistik. 2017. Statistik Tanaman Biofarmaka Indonesia. https://www.bps.go.id/publication/2018/ 10/05/fb684e53549e5fa3fc174c8d/statistiktanaman-biofarmaka-indonesia-2017.html
- Chaerunnisa. 2018. Kajian Etnobotani Tanaman Kunyit Putih (*Kaempferia rotunda* L.) sebagai Tanaman Obat Masyarakat Desa Palangga Kecamatan Palangga Kabupaten Gowa. Fak. Sains dan Teknol. UIN Alauddin Makassar.
- Chuenboonngarm, N., S. Charoonsote, dan S. Bhamarapravati. 2001. Effect of BA and 2-iP on Shoot Proliferation and Somaclonal Variation of *Gardenia jasminoides* Ellis in vitro Culture. 27: 137–141.
- Davies, P.J. 1995. The Plant Hormone Concept: Concentration, Sensitivity and Transport. in p.j. davies (ed.). Plant Hormone . Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Kluwer Academic Publisher. dordrecht/boston/london
- Demissie, A.G. 2013. Effect of Different Combinations of BAP (6-benzyl amino purine) and NAA (Napthalene Acetic Acid) on Multiple Shoot Proliferation of Plantain (Musa spp.) cv. Matoke from Meristem Derived Explant. Academia J. Biotech. 1(5): 2315-7747.
- Diastuti, H., M. Chasani, and Suwandri. 2018. Antibacterial Activity of Benzyl Benzoate and Crotepoxide from *Kaempferia rotunda* L. Rhizome. Indones. J. Chem. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.03.009.
- Guo, B., B.H. Abbasi, A. Zeb, L.. Xu, and Y.. Wei. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. African J. Biotechnol. 10(45): 8984–9000. doi: 10.5897/ajb11.636.
- Iliev, I., A. Gajdošová, G. Libiaková, and S.M. Jain. 2010. Plant Micropropagation. Plant Cell Cult. Essent. Methods III(March): 1–23. doi: 10.1002/9780470686522.ch1.
- Joy, P.P., S. Mathew, B.P. Skaria, and G. Mathew. 2016. Agronomic Practices for Quality Production of *Kaempferia rotunda* L. Aromat. Med. Plants Res. Stn. (March 2006).
- Karim, M.A., S.W. Ardie, dan N. Khumaida.

- 2014. Pematahan Dormansi Rimpang *Kaempferia parviflora*Wall. ExBaker. Bul. Agrohorti 2(1): 104. doi: 10.29244/agrob.2.1.104-114.
- Kasilingam, T., G. Raman, N.D. Sundramoorthy, G. Supramaniam, S.H. Mohtar, and F.A. Avin. 2018. A Review on In vitro Regeneration of Ginger: Tips and Highlights. European J. Med. Plants 23(3)(May): 1–8. doi: 10.9734/EJMP/2018/40181.
- Mardiyah, Z. Basri, R. Yusuf, dan Hawalina.
- 2017. Pertumbuhan Tunas Anggur Hitam (*Vitis vinivera* L.) pada Berbagai Konsentrasi *Bezylamino Purin* dan *Indolebutyric Acid. J. Agrland* 24 (3): 181-189, Desember 2017. ISSN: 0854-641X. E-ISSN: 2407-7607.
- Mustafaanand, P.H. 2014. In-vitro plant regeneration in *Kaempferia rotunda* Linn . through somatic embryogenesis a rare medicinal plant. 3(9): 409–414.
- Naz, S., F. Aslam, S. Ilyas, K. Shahzadi and A. Tariq. 2012. In Vitro Propagation of Tuberose (*Poliants tuberosa*). Journal of Medicinal Plants Research 6 (24): 4107-4112.
- Quiroz, K.A., M. Berríos, B. Carrasco, J.B. Retamales, P.D.S. Caligari, and R. García-Gonzáles. 2017. Meristem Culture and Subsequent Micropropagation of Chilean Strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). Biol. Res. 50(1): 1–11. doi: 10.1186/s40659-017-0125-8.
- Ramesh, Y. and V. Ramassamy. (2014). Effect of gelling Agents in In Vitro Multiplication of Banana var. Poovan. International Journal Advanced Biology Reasearch., 4(3), 308-311.
- Rostiana, O. 2007. Aplikasi Sitokinin Tipe Purin dan Urea Pada Multiplikasi Tunas Anis (*Pimpinellla anisum* L.) In Vitro. 13(1): 1–7.
- Salim, Z., dan E. Munadi. 2017. Info Komoditi Tanaman Obat. Pertama. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sari, H.M., S. Utami, E. Wiryani, dan L. Khotim. 2012. Distribusi Famili Zingiberaceae Pada Ketinggian Yang Berbeda Di Kabupaten Semarang Hanif Maya Sari, Sri Utami, Erry Wiryani, Murningsih dan Lilih Khotim Perwati. 14(1).
- Satyavathi, V. V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, and M.B. Rao. 2004. Effects of Growth Regulators on In Vitro Plant Regeneration

- in Durum Wheat. Crop Sci. 44(5): 1839–1846. doi: 10.2135/cropsci2004.1839.
- Suharijanto. 2011. Induksi Tunas Jeruk Pamelo (*Citrus maxima* Merr.) Kultivar Bageng Secara *In Vitro* dengan Pemberian Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. Mawas Juni 2011.
- Wiratno. 2017. Pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman Obat Berkelanjutan. Semin. Nas. Pertan. dan Tanam. Herb. Berkelanjutan di Indones. (3): 1–16.
- Yulizar, D.R., Z.A. Noli, dan M. Idris. 2014. Induksi Tunas Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) Pada Media MS Dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi BAP dan Sukrosa Secara In Vitro. 3(4): 310–316.
- Yunus, A., M. Rahayu, Samanhudi, B. Pujiasmanto, dan H.J. Riswanda. 2016. Respon Kunir Putih (*Kaempferia rotunda*) terhadap Pemberian IBA dan BAP pada Kultur In Vitro. Agrosains 18(2): 44–49.