

## Perbanyak *Castanopsis argentea* secara *in vitro*

### A study on *in vitro* propagation of *Castanopsis argentea*

MUHAMMAD IMAM SURYA<sup>1</sup>, NENENG INE KURNITA<sup>1,2,\*</sup>, LULUK SETYANINGSIH<sup>2</sup>, LILY ISMAINI<sup>1</sup>,  
ZAINAL MUTTAQIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jl. Kebun Raya Cibodas, PO Box 19 Sindanglaya, Cipanas-Cianjur 43253, Jawa Barat, Indonesia. Tel./Fax. +62-263-512233, \*email: nene005@lipi.go.id

<sup>2</sup>Fakultas Kehutanan, Universitas Nusa Bangsa. Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km 4, Tanah Sereal, Bogor 16166, Jawa Barat, Indonesia

Manuskrip diterima: 31 Agustus 2016. Revisi disetujui: 19 Januari 2017.

**Abstrak.** Surya MI, Kurnita NI, Setyaningsih L, Ismaini L, Muttaqin Z. 2016. Perbanyak *Castanopsis argentea* secara *in vitro*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 2: 10-15*. Saninten (*Castanopsis argentea*) merupakan spesies kunci yang memiliki potensi cukup tinggi sebagai bahan pangan. Buah *C. argentea* yang banyak digemari hewan mengakibatkan sulit ditemukannya peremudaan secara alami. Perbanyak secara *in vitro* merupakan salah satu upaya untuk memperoleh bibit dalam jumlah yang cukup banyak. Namun, informasi terkait perbanyak *C. argentea* secara *in vitro* masih sangat terbatas. Penelitian ini merupakan langkah awal dalam konservasi saninten yang ditujukan untuk mengetahui metode inisiasi awal perbanyak *C. argentea* secara *in vitro*. Dua metode sterilisasi digunakan pada eksplan biji dan tunas, serta ditanam pada media MS dan WPM yang telah dimodifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase hidup, jumlah tunas dan waktu berkecambah terbaik ditemukan pada eksplan biji yang telah di sterilisasi menggunakan metode sterilisasi I. Untuk jumlah kalus terbanyak ditemukan pada eksplan tunas dengan menggunakan metode sterilisasi II. Media tanam tidak berpengaruh terhadap perkecambahan eksplan biji, namun berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan tunas.

**Kata kunci:** *Castanopsis argentea*, perbanyak, sterilisasi, *in vitro*

**Abstract.** Surya MI, Kurnita NI, Setyaningsih L, Ismaini L, Muttaqin Z. 2016. A study on *in vitro* propagation of *Castanopsis argentea*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 2: 10-15*. Saninten (*Castanopsis argentea*) is a keystone species that has highly potential as a food material. Mostly, the fruits of *C. argentea* are eaten by animals. It made us difficult to get the natural regeneration. *In vitro* propagation is an effort to produce considerable amounts of *C. argentea*. However, the information about *in vitro* propagation of *C. argentea* is still very limited. This study was aimed to determine the initiation methods to propagate *C. argentea* by *in vitro* propagation. Two methods of sterilization were used to sterilize the explant of seed and buds. Moreover, the explant was planted on modified MS and WPM. The results show that percentage of survival, number of buds and time of germination were found on seed explants sterilized by the first method. The number of callus were found on bud explants sterilized by the second method. Furthermore, planting media were not affected to the germination of seed explants, but affected to growth of bud explants.

**Keywords:** *Castanopsis argentea*, propagation, sterilization, *in vitro*

## PENDAHULUAN

Saninten atau *Castanopsis argentea* (Gambar 1) merupakan salah satu tumbuhan berkayu yang memiliki potensi yang cukup tinggi. Peningkatan populasi penduduk mendorong terjadinya peningkatan kebutuhan di masyarakat. Salah satu komponen yang dibutuhkan oleh masyarakat berasal dari alam. Hutan sebagai bagian dari sumber keanekaragaman hayati merupakan salah satu tempat yang menghasilkan produk kebutuhan masyarakat berupa hasil hutan kayu dan hasil hutan bukan kayu. Dua produk tersebut secara langsung dan tidak langsung mengalami peningkatan permintaan di masyarakat. Peningkatan permintaan di masyarakat terhadap dua produk hutan tersebut, telah mendorong pemerintah untuk melakukan upaya pengembangan yang bersifat tetap menjaga kelestarian hutan. Bentuk upaya yang dilakukan pemerintah ialah dengan diterbitkannya peraturan Menteri

Kehutanan Nomor: P.57/Menhut-II/2008 tentang Arahan Strategis Konservasi Spesies Nasional 2008-2018. Melalui peraturan tersebut pemerintah berupaya memperkenalkan potensi dari *Castanopsis argentea* (Blume) A.DC atau Saninten dan menjadikannya sebagai *keystone species* yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan dan dibudidayakan.

Distribusi keberadaan saninten menurut Whitmore dan Tantra (1986) terdapat di Pulau Jawa dan Sumatra. Secara alami pohon saninten lebih banyak tumbuh di hutan lindung. Namun saat ini jumlahnya semakin sedikit karena pertumbuhannya yang lambat, pembalakan untuk diambil kayunya dan sedikit peremudaan alami (P.57/Menhut). Saninten merupakan salah satu pohon yang peremudaan alaminya sulit ditemukan karena populasinya sangat sedikit, sementara itu buahnya disukai satwa liar dan masyarakat lokal untuk dikonsumsi (Heriyanto et al. 2007).



**Gambar 1.** Pohon, bunga dan buah Saninten

Perbanyakan tanaman secara generatif pada umumnya memerlukan waktu yang tidak singkat dan terkadang beberapa tanaman sulit untuk dikembangbiakan secara generatif (Sulistiani et al. 2012). Saat ini perbanyakan secara generatif untuk Saninten masih bersifat konvensional menggunakan biji dan stek tunas (Fitria 2015), namun perbanyakan dengan metode ini memerlukan waktu yang cukup lama.

*In vitro* merupakan salah satu metode perbanyakan secara vegetatif yang memungkinkan digunakan dalam pengembangan dan pembudidayaan *C. argentea*. Berdasarkan penelusuran pustaka upaya perbanyakan *C. argentea* dengan menggunakan teknik konvensional menggunakan biji dan melalui teknik kultur jaringan masih belum dilakukan. Kegiatan ini merupakan upaya awal konservasi *C. argentea* melalui perbanyak secara *in vitro*. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui metode inisiasi awal perbanyakan *C. argentea* secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya

Cibodas, Cianjur, Jawa Barat pada Bulan Februari-Juli 2016. Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi Laminar Air Flow Cabinet (LAF), autoklaf, oven, pisau, pinset, scalpel, gunting stek, timbangan digital, botol kaca, cawan petri, erlenmeyer, bunsen, kompor, gelas ukur. Bahan yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian yaitu biji dan tunas muda *C. argentea* yang berasal dari tanaman koleksi Kebun Raya Cibodas, media MS (*Murashige & Skoog*), media WPM (*Lloyd & McCown's Woody Plant Medium*), larutan stok hormon GA, larutan stok hormon BAP (*6-benzyl amino purine*), larutan stok hormon NAA, gula, agar, kertas aluminium foil untuk pembungkus, kertas tisu, arang aktif, alkohol 70%, clorox/pemutih, anti bakterisida dan fungisida, tween 80, larutan PPM 30 mL, vitamin C 1 mg/L, detergen dan akuades serta spirtus. Proses sterilisasi dibagi menjadi 2 kelompok dengan menggunakan alkohol 70%, clorox/pemutih, anti bakterisida dan fungisida, tween 80, larutan PPM, detergen dan akuades. Lebih lanjut, penanaman dilakukan pada media MS dan WPM yang telah diberikan hormon GA (*Giberelin acid*), BA (*6-benzyl amino purine*) serta NAA (*naphthalene acetic acid*) sesuai dengan perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Komposisi media tanam dan perlakuan secara *in vitro*

Hormon		(M1) Murashige and Skoog Medium / MS	(M2) Lloyd & McCown's Woody Plant Medium / WPM
GA (Giberelin acid)	G0 (tanpa GA)	M1G0	M2G0
	G1 (GA 10%)	M1G1	M2G1
	G2 (GA 20%)	M1G2	M2G2
BA (6-benzylaminopurine) + NAA (naphthalene acetic acid) 0,1 mg/L	B1 (BA 1 mg/L)	M1B0	M2B0
	B2 (BA 2 mg/L)	M1B1	M2B1
	B3 (BA 3 mg/L)	M1B2	M2B2

### Sterilisasi I

Sumber eksplan berupa biji dan tunas muda yang telah diperoleh dari Kebun Raya Cibodas. Proses sterilisasi I untuk biji diawali dengan biji dibersihkan dari cangkang/kulit bagian luar, tanah dan debu. Sedangkan untuk tunas dibersihkan terlebih dahulu dari daun dan kotoran yang melekat pada tunas dan batang yang terpotong. Biji dan tunas kemudian direndam dengan menggunakan detergen sebanyak 0,2 g/50 mL untuk 10 biji/ 20 tunas selama kurang lebih 10 menit, bilas dengan akuades. Setelah itu, rendam kedua eksplan tersebut menggunakan larutan tween 80 sebanyak 0,2 g (1-2 tetes) /50 mL selama kurang lebih 10 menit, bilas dengan akuades. Kemudian rendam biji dan tunas tersebut menggunakan bakterisida sebanyak 0,1 g/50 mL selama kurang lebih 10 menit, setelah direndam bilas menggunakan akuades. Kemudian rendam biji dan tunas tersebut menggunakan fungisida sebanyak 0,1 g/ 50 mL selama kurang lebih 10 menit, setelah direndam bilas kembali menggunakan akuades. Rendam biji dan tunas tersebut menggunakan larutan Clorox/ pemutih sebanyak 1 kali dengan komposisi 20 mL Clorox dan 80 mL akuades selama 20 menit setelah direndam bilas kembali menggunakan akuades. Setelah itu biji dan tunas kemudian direndam alkohol 70% sebanyak 50 mL selama 2-3 menit, setelah direndam bilas dengan akuades sebanyak 2x. Kemudian rendam biji dan tunas dengan larutan ppm 30 mL selama 20 menit, buang larutan rendaman kemudian tutup dengan rapat menggunakan tutup botol/ cawan petri. Eksplan selesai disterilisasi dan siap untuk ditanam pada LAFC.

### Sterilisasi II

Sumber eksplan berupa biji dan tunas muda yang telah diperoleh dari Kebun Raya Cibodas. Proses sterilisasi II untuk biji diawali dengan biji dibersihkan dari cangkang/kulit bagian luar, tanah dan debu. Sedangkan untuk tunas dibersihkan terlebih dahulu dari daun dan kotoran yang melekat pada tunas dan batang yang terpotong. Biji dan tunas tersebut kemudian direndam dengan menggunakan detergen sebanyak 0,2 g/50 mL untuk 10 biji/ 20 tunas selama kurang lebih 10 menit, bilas dengan akuades. Setelah itu rendam kembali biji dan tunas dengan menggunakan larutan tween 80 sebanyak 0,2 g/50 mL untuk 10 biji/ 20 tunas selama kurang lebih 10 menit, bilas kembali dengan akuades. Kemudian rendam biji dan tunas tersebut menggunakan bakterisida sebanyak 0,1 g/50 mL selama kurang lebih 10 menit, setelah direndam bilas

kembali menggunakan akuades. Kemudian rendam biji dan tunas tersebut menggunakan fungisida sebanyak 0,1 g/ 50 mL selama kurang lebih 10 menit, setelah direndam bilas kembali menggunakan akuades.

Tahapan sterilisasi berikutnya ialah perendaman menggunakan larutan Clorox/ pemutih dan akuades yang dilakukan secara bertingkat. Apabila eksplan mengandung tingkat kontaminasi yang tinggi dapat dilakukan sterilisasi bertingkat (Surya 2004). Sterilisasi Clorox bertingkat diawali dengan komposisi awal 20 mL Clorox dan 80 mL akuades, rendam selama 20 menit dan komposisi kedua 10 mL Clorox dan 90 mL akuades, rendam selama 10 menit setelah direndam bilas kembali menggunakan akuades. Setelah itu biji dan tunas kemudian direndam alkohol 70% sebanyak 50 mL selama 2-3 menit, setelah direndam bilas kembali menggunakan akuades sebanyak dua kali, rendam biji dan tunas dengan larutan ppm 30 mL selama 20 menit buang larutan rendaman. Biji dan tunas kemudian direndam pada larutan vitamin C 1 mg/L selama 20 menit buang larutan rendaman kemudian tutup dengan rapat menggunakan tutup botol/ cawan petri. Kemudian sumber eksplan selesai disterilisasi dan siap untuk ditanam pada LAFC.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap parameter perkecambahan saninten secara *in vitro* dengan dua metode sterilisasi terdiri atas persentase hidup, awal berkecambah, muncul akar, tunas dan kalus dari eksplan biji dan tunas. Hasil penelitian awal untuk tahap inisiasi jenis saninten tidak tampak signifikan pada parameter pertumbuhan akar, kalus dan tunas. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini belum dilakukan proses subkultur. Menurut Pennel *dalam* Hutami dan Purnamaningsih (2003) beberapa faktor yang berpengaruh dari satu eksplan pada kultur jaringan sangat ditentukan oleh media kultur, jenis tanaman dan frekuensi subkultur. Persentase hidup didasarkan pada jumlah eksplan saninten yang tidak mengalami kematian pada umur 8 minggu setelah ditanam. Berdasarkan Gambar 2, diperoleh informasi bahwa persentase hidup terbesar ditemukan pada eksplan yang berasal dari biji saninten dengan metode sterilisasi I. Sedangkan untuk eksplan tunas pada metode sterilisasi I tidak diperoleh data karena terjadi kematian pada seluruh eksplan tunas yang ditanam yang dikarenakan munculnya jamur atau *browning*.

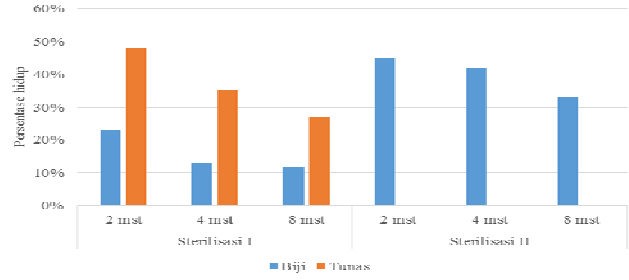
Pada eksplan biji saninten umur 8 minggu setelah tanam, parameter yang teramati meliputi: awal berkecambah (Gambar 3) dan muncul akar (Gambar 4). Sedangkan parameter muncul kalus pada eksplan biji hingga minggu ke-8 pengamatan belum diperoleh data. Waktu awal berkecambah didasari oleh waktu munculnya akar radikula pada lembaga biji saninten. Muncul akar didasari pada pertumbuhan akar yang diikuti pemanjangan radikula (akar lembaga) yang menandai bahwa perbanyakan yang dilakukan secara *in vitro* mulai berjalan dengan baik.

Pada eksplan tunas, parameter pertumbuhan yang diperoleh ialah muncul kalus (Gambar 5). Parameter muncul kalus pada eksplan tunas saninten didasarkan pada munculnya pertumbuhan organ tubuh tumbuhan yang tidak terorganisir pada umumnya dengan ciri berbentuk seperti gumpalan yang melekat pada eksplan dan tidak beraturan.

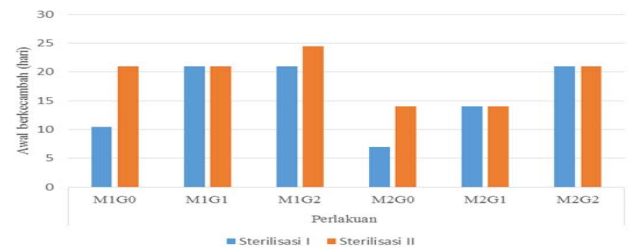
**Pembahasan**

Sterilisasi I memberikan pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan eksplan biji dibandingkan tunas. Tingkat kontaminasi pada eksplan tunas yang mencapai 100% mengindikasikan bahwa metode sterilisasi I belum sesuai untuk kondisi eksplan tunas. Indikasi pengaruh penggunaan tahapan sterilisasi Clorox yang tidak bertingkat pada metode sterilisasi I kemungkinan menjadi salah satu faktor penyebab tingginya kontaminasi yang dialami eksplan tunas. Eksplan tunas saninten secara fisik memiliki karakteristik berbulu pada bagian luar dan cenderung lebih lunak dan rapuh dibandingkan dengan eksplan biji. Selain itu, kondisi *browning* pada kedua jenis eksplan selama pengamatan ditemukan, namun kelemahan pada pengamatan tersebut yaitu terlewatkannya pencatatan data *browning*. Menurut Sulistiani et al. (2012) karakteristik tanaman dikotil seperti jati memerlukan sterilisasi yang jauh berbeda karena memiliki tingkat *browning* yang tinggi.

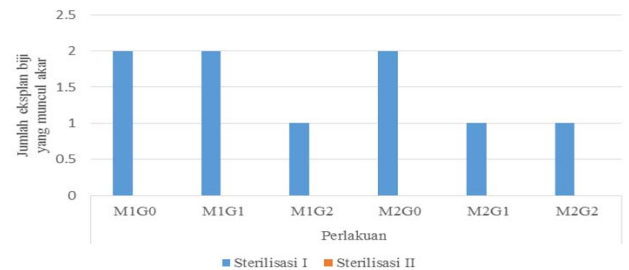
Pada eksplan biji dengan metode sterilisasi I tampak parameter perkecambahan yang muncul ialah awal berkecambah dan muncul akar pada umur 8 minggu setelah ditanam (Gambar 6). Hal tersebut menunjukkan bahwa pengaruh sterilisasi Clorox yang sama dengan eksplan tunas memberikan respon berbeda pada eksplan biji yaitu munculnya parameter tersebut. Persentase berbeda tampak pada hasil metode sterilisasi II untuk kedua jenis eksplan. Dimana untuk eksplan biji mengalami kontaminasi yang lebih tinggi dibandingkan eksplan tunas. Eksplan biji yang digunakan pada penelitian ini berupa daging biji yang berasal dari buah saninten yang telah dikuliti yang berusia 2 minggu pasca panen dari pohon yang merupakan koleksi Kebun Raya Cibodas dan biji saninten rentan akan kerusakan dan serangan hama. Biji saninten termasuk ke dalam jenis biji rekalsitran, dimana biji lebih resisten terhadap kerusakan dan tekanan (Schmidt 2002). Sedangkan eksplan tunas yang digunakan untuk jenis saninten memiliki ciri berbulu tipis pada permukaan kulit tunas yang kemungkinan menjadi salah satu faktor pembawa kontaminan.



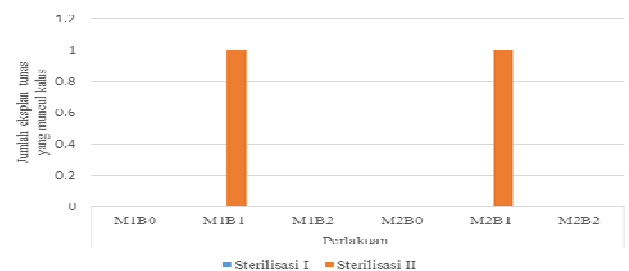
**Gambar 2.** Persentase hidup eksplan saninten secara kultur jaringan pasca proses sterilisasi I dan II setelah 8 minggu ditanam



**Gambar 3.** Rerata waktu awal berkecambah eksplan biji saninten secara *in vitro* pasca proses sterilisasi I dan II saat 8 minggu setelah tanam



**Gambar 4.** Rerata jumlah eksplan biji saninten yang telah muncul akar setelah 8 minggu ditanam secara *in vitro*



**Gambar 5.** Rerata jumlah eksplan tunas yang muncul kalus saat 8 minggu setelah tanam

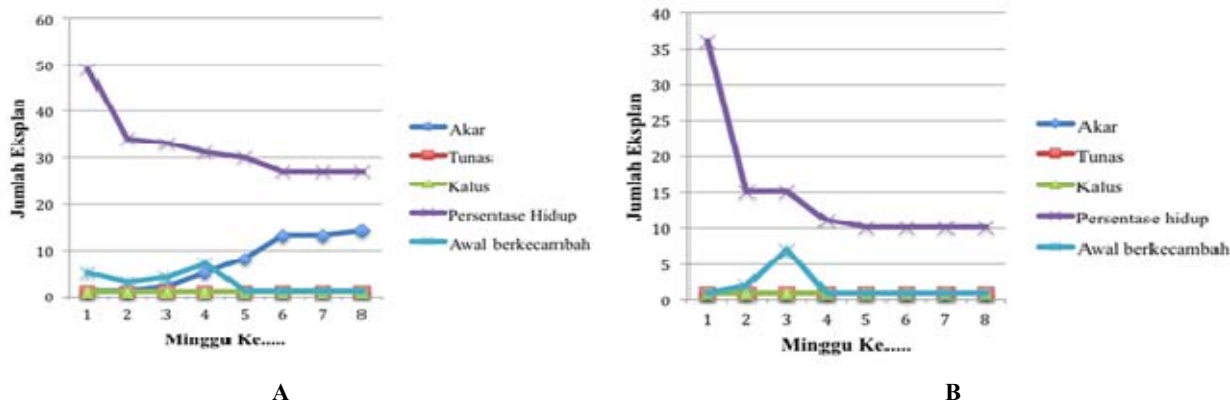
Biji saninten pada saat metode sterilisasi awal tampak beberapa diantaranya busuk dan terdapat ulat di dalamnya hal tersebut dikarenakan tidak dilakukan uji viabilitas biji terlebih dahulu. Selain itu, biji yang digunakan sebagai sumber eksplan kemungkinan mengalami luka dan mengalami kerusakan ketika disterilisasi, dan terdapat beberapa buah biji yang terpotong bagian kotiledonnya. Kondisi fisiologi tanaman induk sangat menentukan keberhasilan pertumbuhan eksplan, dimana penggunaan mata tunas yang masih segar akan lebih meningkatkan keberhasilan walaupun dengan persentase tumbuh yang tidak begitu tinggi (Hutami dan Purnamaningsih 2003). Pentingnya memperhatikan kondisi biji saninten menjadi salah satu parameter yang mendukung keberhasilan proses sterilisasi biji saninten. Perkecambahan yang muncul pada jenis saninten ini ialah jenis *hypogeal*, dimana kecambah muncul diatas permukaan tanah dengan struktur daun lembaga sebagai cadangan makanan tetap berada di dasar permukaan tanah (tidak ikut terangkat). Perkecambahan *hypogeal* ialah tipe perkecambahan yang mana kotiledon atau struktur yang sama (misalnya skuletum) terletak di dalam tanah bersama benih. Pada dikotil, tunas terangkat ke atas tanah melalui pemanjangan *epikotil* atau beberapa *monokotil* melalui perpanjangan *mesokotil* (Sudrajat et al. 2015). Pada penelitian ini perkecambahan yang dimaksud merupakan tahapan perkecambahan awal yaitu berupa akar dan daun lembaga. Menurut Tjitrosoepomo (1985) perkecambahan pada biji ketika lembaga di dalam biji telah memperlihatkan ketiga bagian utama tubuh tumbuhan, yaitu: akar, daun dan batang lembaga. Ahli fisiologi benih biasanya menetapkan perkecambahan sebagai kejadian yang dimulai dengan imbibisi dan diakhiri ketika radikula (akar lembaga; atau pada beberapa biji kotiledon) memanjang atau muncul melewati kulit biji. Bagian yang muncul pertama kali pada saat perkecambahan saninten ialah akar, dimana akar tersebut terus memanjang. Akar lembaga atau calon akar (*radicula*) akan tumbuh terus dan merupakan akar tunggang yang keluar melalui liang biji (Tjitrosoepomo 1985). Kemudian perkembangan daun lembaga berupa daging buah saninten yang tumbuh dan mengalami perubahan warna dari putih menjadi hijau

(Gambar 7). Daun lembaga (*cotyledone*), merupakan daun pertama suatu tumbuhan, tampak biji seperti terdiri atas dua belahan atau dua keping saja, seringkali disebut belahan biji atau keping biji (Tjitrosoepomo 1985).

Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan (Lestari 2011). Pemberian hormon pada media MS dan WPM dengan konsentrasi yang sama yakni BA 0.1 mg/L, 0.2 mg/L, 0.3 mg/L dan 0.1 mg/L NAA telah memberikan respon terhadap persentase berkecambah pada biji dan tumbuh kalus pada tunas. Daun-daun, batang-batang, bunga-bunga, pollen, buah, biji, tunas apikal dan akar biasa digunakan untuk memperoleh pertumbuhan struktur kalus (Torres 1989; Gamborg dan Phillips 1995).

Hutami dan Purnamaningsih (2003) pemberian sitokinin (BA) pada konsentrasi rendah (0.5-1 mg/L) belum dapat meningkatkan respon eksplan (2 bulan setelah tanam). Pertumbuhan kalus pada eksplan tunas pada penelitian ini terjadi pada umur 8 minggu setelah ditanam (Gambar 8A). Kalus yang muncul dapat dilakukan subkultur lebih lanjut untuk diperoleh jumlah individu baru/ anakan yang lebih banyak. Respon yang tinggi tampak pada eksplan yang ditanam dengan media MS dengan 0.2 mg/L BA dan 0.1 mg/L NAA (M1B1) dan media WPM dengan 0.2 mg/L BA dan 0.1 mg/L NAA (M2B1). Menurut Wangwibulkit dan Vajrodya (2016), pemberian perlakuan 3 mg/L BA dan 0.1 mg/L IAA pada tanaman *P. helferi* di media MS memberikan persentase pertumbuhan kalus tertinggi (93.33 ± 6.67%) dalam 3 minggu.

Pertumbuhan kalus pada penelitian ini hanya terdapat pada 2 perlakuan tanpa sub ulangan. Hal tersebut kemungkinan dikarenakan terdapat kesesuaian komposisi media dan perlakuan terhadap eksplan tunas untuk tumbuh memberikan respon. Pemberian hormon auksin IAA  $10^{-5}$  hingga  $10^{-10}$  M dan NAA  $10^{-5}$  hingga  $10^{-10}$  M dapat digunakan pada proses inisiasi dan pemeliharaan hasil eksplan berupa kalus (Torres 1989; Gamborg dan Phillips 1995). Sedangkan faktor lain tingginya tingkat kontaminasi pada eksplan tunas juga dapat disebabkan oleh faktor metode sterilisasi yang digunakan. Persentase hidup



**Gambar 6.** Perkecambahan biji saninten secara *in vitro*. (A) pasca proses sterilisasi I dan (B) pasca proses sterilisasi II



**Gambar 7.** Awal perkecambahan eksplan biji saninten usia 0 s/d 3 bulan setelah tanam



**Gambar 8.** (A) Kemunculan kalus pada eksplan tunas berusia 8 minggu setelah tanam dan (B) kemunculan tunas pada eksplan biji berusia 17 minggu setelah tanam tanpa subkultur

terbesar, muncul tunas (Gambar 8B), akar yang muncul terbanyak serta waktu berkecambah yang lebih cepat ditemukan pada eksplan yang berasal dari biji saninten dengan metode sterilisasi I. Sedangkan jumlah kalus yang muncul terbanyak ditemukan pada eksplan yang berasal dari tunas saninten dengan metode sterilisasi II.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas-LIPI, Cianjur, Jawa Barat dan Universitas Nusa Bangsa Bogor, Jawa Barat yang telah mendukung kegiatan ini baik dari segi pembiayaan maupun sarana dan prasarana.

### DAFTAR PUSTAKA

- Fitria FN. 2015. Pembinaan Saninten (*Castanopsis argentea* (Blume) A.DC.) Melalui Stek Tunas dengan Zat Pengatur Tumbuh Komersial. Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gamborg OL, Philips GC. 1995. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer, Berlin.
- Heriyanto N, Sawitri R, Subandinata D. 2007. Kajian ekologi permudaan saninten (*Castanopsis argentea* Blume A.DC.) di Taman Nasional Gunung Gede Pangrango, Jawa Barat. Buletin Plasma Nutfah 13 (1): 34.
- Hutami S, Purnamaningsih R. 2003. Perbanyakan klonal temu mangga (*Curcuma mangga*) melalui Kultur In Vitro. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. Buletin Plasma Nutfah 9 (1).
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Jurnal AgroBiogen 7 (1): 63-68.
- Peraturan Menteri Kehutanan Nomor: P.57/ Menhut-II/2008. Tentang Arahan Strategis Konservasi Spesies Nasional 2008-2018.
- Schmidt L. 2002. Pedoman Penanganan Benih Tanaman Hutan Tropis dan Hutan Tropis. Danida Forest Seed – Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial, Departemen Kehutanan.
- Sudrajat DJ, Nurhasbi, Bramasto Y. 2015. Standar Pengujian dan Mutu Benih Tanaman Hutan. FORDA PRESS, Bogor.
- Sulistiani E, Yani SA. 2012. Produksi Bibit Tanaman Dengan Menggunakan Teknik Kultur Jaringan. SEAMEO BIOTROP. Bogor.
- Surya MI 2004. Perbanyakan Galur Mutan Pisang (*Musa* spp.) Secara In Vitro di P3TIR BATAN (Laporan Praktik Umum). Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Tjitrosoepomo G. 1985. Morfologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Torres KC. 1989. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Sigma Chemical Company Tissue Culture Departement St. Louis, Missouri. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Wangwibulkit M, Vajrodaya S. 2016. Ex-situ propagation of *Pogostemon helferi* (Hook. f.) Press using tissue culture and a hydroponics system, Agriculture and Natural Resources. DOI: 10.1016/j.anres.2015.11.001
- Whitmore TC, Tantra IGM. 1986. Tree Flora of Indonesia Check List For Sumatra Compiled by K. Sidiyasa, U. Sutisna, Marfuah-Sutiyo, Titi Kalima-Sutrasno & T.C. Whitmore. Ministry of Forestry. Agency for Forestry Research and Development. Forest Research & Development Centre. Bogor.