

PENGARUH NAA, 2,4-D DAN PENCAHAYAAN TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS PADA KULTUR JARINGAN DAUN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.)

The Influence of NAA, 2,4-D and Lightness on Callus Development of Nilam Leaf (*Pogostemon cablin* Benth.) Tissue Culture

Essy Harnelly¹⁾, Zairin Thomy¹⁾, dan Syarifah Fadiya Hallaby²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²⁾ Alumni Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

ABSTRACT

The research about the Influence of NAA, 2,4-D and lightness on callus development of nilam's leaf (*Pogostemon cablin* Benth.) Tissue culture had been done in Cell and Molecular Biology Laboratory, Science Faculty of Syiah Kuala University, Darussalam, Banda Aceh since April to October 2006. This research using factorial experimental design with three factor (kind of auxin, auxin concentration and lightness). The result showed that kinds of auxin had not had any significant influence to callus development, but lightness and auxin concentration influence the callus development. Darkness treatment and the rise of auxin concentration increased the callus development.

Keywords: *Pogostemon cablin*, 2,4-D, NAA, callus, lightness

PENDAHULUAN

Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth) adalah tumbuhan penghasil minyak atsiri yang menjadi salah satu komoditas penting bagi ekspor non-migas Indonesia. Dalam dunia perdagangan minyak nilam dikenal dengan nama *Patchouli oil*. Hampir 90% produksi minyak nilam dunia dihasilkan oleh Indonesia (Amar 2003). Minyak nilam ini dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kosmetik, parfum, antiseptik, dan lain-lain (Sudaryani & Sugiharti 2002; Santoso 2003).

Kebutuhan akan senyawa metabolit sekunder seperti minyak nilam setiap tahunnya semakin meningkat, namun ketersediaan bahan baku untuk produksi metabolit sekunder belum dapat terpenuhi. Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa luas areal dan produksi nilam di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam menurun setiap tahunnya (Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam, 2000 – 2004). Produksi dan ekspor nilam Indonesia juga mengalami hal yang sama (Sudaryani & Sugiharti 2002).

Selain kendala dari keterbatasan lahan perkebunan, budidaya tumbuhan penghasil metabolit sekunder di alam bergantung pada iklim, penyakit, kendala-kendala dalam teknik penanaman dan lamanya waktu tumbuhan untuk tumbuh. Selain itu, senyawa senyawa metabolit sekunder hanya diproduksi pada tahap tertentu dari

perkembangan tumbuhan tersebut (Payne *et al.* 1987 dalam Apriyanita *et al.* 2003). Teknik kultur jaringan dapat digunakan untuk mengatasi masalah ini. Selain dapat menghasilkan sejumlah besar bibit dalam waktu singkat, melalui teknik kultur jaringan senyawa metabolit sekunder dapat diproduksi dari sel-sel yang ditumbuhkan secara aseptik di laboratorium (Fitriani 2003).

Keberhasilan dalam teknik kultur jaringan termasuk kultur kalus dipengaruhi oleh kandungan media dan konsentrasi zat pengatur tumbuh serta faktor lingkungan inkubasi yaitu cahaya dan suhu (Katuuk 1989, Gunawan 1995). Salah satu jenis zat pengatur tumbuh yang dikenal mampu memicu pembentukan kalus adalah auksin (Irvine *et al.* 1983 dalam Katuuk, 1989), sedangkan cahaya seringkali berperan sebagai faktor pembatas pada pertumbuhan kalus (Katuuk 1989). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan jenis auksin serta kondisi cahaya terhadap pembentukan kalus pada kultur jaringan daun nilam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh *Naftalene Acetic Acid* (NAA) dan *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D) serta pengaruh cahaya terhadap pembentukan kalus pada kultur jaringan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi sel dan Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, dari bulan April 2006 sampai Oktober 2006. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini berupa rancangan trifactorial (2x2x3) dengan 3 ulangan. Faktor yang diuji yaitu kondisi pencahayaan (terang dan gelap), penambahan 2 jenis auksin (2,4-D dan NAA) dan 3 taraf konsentrasi dari auksin yang ditambahkan (0,5, 1,0, dan 1,5 mgL⁻¹). Masing-masing jenis auksin ditambahkan ke dalam media kultur tanpa kombinasi dengan auksin yang lain.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ketiga dari tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) yang berasal dari daerah Nagan Raya. Sebelum di kultur pada media Murashige dan Skoog (MS) ditambahkan auksin sesuai perlakuan daun nilam yang telah dicuci bersih dengan air mengalir disterilkan dengan cara dicuci dengan deterjen selama 5 menit dan dibilas tiga kali dengan air steril, kemudian daun nilam direndam dalam alkohol 30 % selama 10 detik dan dibilas dua kali dengan air steril. Selanjutnya, daun nilam direndam dalam larutan pemutih selama 5 menit dan

dibilas dua kali dengan air steril. Daun yang telah steril dipotong dengan ukuran 0,5x0,5 cm² dan ditanam pada media perlakuan. Daun yang telah ditanam dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok I diinkubasi dengan pencahayaan lampu TL 36 Watt, sedangkan kelompok II diinkubasi dalam kondisi gelap.

Parameter yang akan diukur dari penelitian ini adalah: berat basah jaringan setelah perlakuan, waktu munculnya kalus, tingkat pembentukan kalus, tekstur dan warna kalus serta jumlah akar yang terbentuk. Tingkat pembentukan kalus pada eksplan diukur dengan menggunakan sistem skoring 0 - 4 (Tabel 2). Pengukuran parameter dilakukan 50 hari setelah tanam (hst).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat basah jaringan

Berat basah jaringan pada tiap taraf perlakuan tidak berbeda nyata pada uji BNT 5% dan memiliki standar deviasi yang cukup tinggi (Tabel 3). Hal ini dikarenakan kondisi jaringan yang berbeda meskipun berasal dari daun-daun ketiga dari tanaman nilam yang sama. Lakitan (1996) mengemukakan bahwa setiap sel tumbuhan mempunyai kepekaan tersendiri terhadap ZPT yang diberikan.

Tabel 1. Luas areal dan produksi komoditi nilam perkebunan rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam tahun 2000 - 2004

No.	Tahun	Luas areal (ha)	Produksi (ton)	Rata-rata produktivitas (kg ha ⁻¹)
1.	2000	4.662	253	105
2.	2001	3.557	305	116
3.	2002	2.941	283	120
4.	2003	2.641	166	85
5.	2004	2.162	143	94

Sumber: Dinas Perkebunan Prov. NAD (*diolah*) (2001 - 2005)

Tabel 2. Skala 0 - 4 sistem skoring untuk menghitung tingkat pembentukan kalus

Skor	Deskripsi
0	Tidak ada kalus yang tumbuh
1	Sedikit proliferasi pada jaringan eksplan
2	Sedikit kalus pada tulang daun, tepi dan/atau permukaan jaringan eksplan
3	Kalus hampir menutupi permukaan jaringan eksplan
4	Kalus menutupi permukaan jaringan eksplan

Penambahan berat basah terjadi akibat pembengkakan dan pembelahan sel yang dipengaruhi aktivitas auksin. Menurut Abidin (1982) dalam Wardani *et al* (2004) auksin diketahui dapat: (a) menaikkan tekanan osmotik sel, (b) meningkatkan permeabilitas sel terhadap air (c) mengurangi tekanan pada dinding sel, (d) meningkatkan sintesis protein dan (e) meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel.

Waktu munculnya kalus

Kultur yang diinkubasi pada kondisi gelap rata-rata mulai membentuk kalus 17,500 hari setelah tanam (HST) sedangkan yang dikultur pada kondisi terang rata-rata mulai membentuk kalus 20,722 HST (Tabel 4).

Katuuk (1989) mengemukakan bahwa bagi tanaman *in vitro* cahaya berperan dalam proses fotomorfogenesis. Awal pertumbuhan sel pada eksplan, serta pertumbuhan jaringan kalus sering kali dihambat atau dibatasi oleh masalah cahaya. Menurut Salisbury & Ross (1995) seluruh morfologi dan fisiologi tumbuhan merupakan hasil perubahan informasi genetik menjadi enzim dan protein yang mengendalikan metabolisme.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa auksin dapat mengubah beberapa produk gen (protein) yang pada akhirnya mempengaruhi ekspresi gen dari sel tersebut, dan cahaya diketahui mampu mempengaruhi taraf hormon (termasuk auksin) dan aktivitas

beberapa enzim tumbuhan. Para peneliti menemukan adanya mRNA yang khas di jaringan tumbuhan yang diberi perlakuan cahaya. Sehingga cahaya pasti mempengaruhi ekspresi langsung sejumlah gen tertentu dalam menyandikan protein. Keseluruhan hal ini pada akhirnya akan mempengaruhi proses morfologi dan fisiologi jaringan tumbuhan.

Tingkat pembentukan kalus

Data pada Tabel 5 memperlihatkan bahwa kondisi pencahayaan berpengaruh sangat nyata terhadap tingkat pembentukan kalus, dimana kondisi gelap mampu membentuk kalus lebih baik daripada kondisi terang. Begitu pula dengan perbedaan konsentrasi auksin yang ternyata berpengaruh nyata terhadap tingkat pembentukan kalus. Semakin tinggi konsentrasi auksin yang ditambahkan pada media tingkat pembentukan kalus juga semakin tinggi (Tabel 6). Selain itu terlihat adanya interaksi antara kondisi pencahayaan dan konsentrasi auksin yang berpengaruh nyata terhadap tingkat pertumbuhan kalus (Tabel 7). Namun demikian jenis auksin yang ditambahkan pada media ternyata tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat pembentukan kalus.

Berdasarkan data yang diperoleh dapat dilihat bahwa tingkat pertumbuhan kalus tertinggi ada pada jaringan eksplan yang dikultur pada media dengan penambahan auksin $1,5 \text{ mgL}^{-1}$ dan diinkubasi dalam gelap,

Tabel 3. Rerata berat basah jaringan setelah perlakuan

Perlakuan	2,4-D (mg L^{-1})			NAA (mg L^{-1})		
	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
Terang	0,281	0,047	0,099	0,122	0,080	0,116
	0,31	0,020	0,102	0,059	0,050	0,059
Gelap	0,081	0,102	0,086	0,079	0,209	0,203
	0,028	0,066	0,025	0,020	0,080	0,037

Tabel 4 Rerata waktu munculnya kalus pada dua kondisi pencahayaan

Taraf perlakuan	Waktu munculnya kalus (hst)
Terang	20,722 b
Gelap	17,500 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji BNT 0,05

sedangkan tingkat pertumbuhan paling rendah ada pada jaringan eksplan yang dikultur pada media dengan penambahan auksin $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ dan diinkubasi pada kondisi terang (Tabel 7). Akan tetapi, secara umum tingkat pertumbuhan kalus terendah terjadi pada jaringan eksplan yang dikultur pada media dengan penambahan $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ auksin (Tabel 6).

Kemampuan auksin dalam memicu pembengkakan dan pembelahan sel sangat menentukan dalam proses pembentukan kalus. Turunnya tingkat pembentukan kalus seiring dengan turunya konsentrasi mengindikasikan bahwa jaringan daun nilam yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan auksin endogen yang rendah, sehingga konsentrasi auksin eksogen yang ditambahkan menjadi penentu dalam proses pembentukan kalus. Menurut Jona & Menini (1987) dalam Palupi *et al* (2004) jika kandungan zat pengatur tumbuh dalam media berimbang atau sesuai dengan kebutuhan eksplan maka jaringan meristem atau parenkim akan membelah terus menerus menghasilkan kalus.

Tekstur dan Warna Kalus

Kalus yang dihasilkan pada awal perlakuan pada kedua jenis auksin awalnya bertekstur remah. Pada akhir perlakuan kalus yang terbentuk pada media dengan penambahan 2,4-D menjadi kompak agak remah, sedangkan kalus pada media dengan penambahan NAA tetap bertekstur remah (Tabel 8).

Kalus pada media dengan penambahan 2,4-D terlihat bertekstur agak kompak pada akhir perlakuan. Diduga hal ini dikarenakan sel yang semula aktif membelah mengalami penurunan aktifitas. Menurut Street (1993) dalam Hardiyanto *et al* (2004) kalus yang kompak merupakan susunan sel-sel yang rapat dan sulit dipisah-pisahkan.

Warna kalus yang terbentuk baik pada media dengan penambahan 2,4-D maupun NAA awalnya berwarna putih atau hijau dan lama kelamaan akan berubah menjadi kekuningan hingga coklat (Tabel 8). Menurut Santosa & Nursandi (2002) dalam Hardiyanto *et al* (2004) warna hijau pada kalus yang pertama terbentuk disebabkan kalus masih membawa sifat asli eksplan.

Tabel 5. Rerata tingkat pembentukan kalus pada dua kondisi pencahayaan

Taraf perlakuan	Tingkat pembentukan kalus (skor)
Terang	$2,000 \pm 0,840^a$
Gelap	$3,333 \pm 0,840^b$

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji BNT 0,01

Tabel 6 Rerata tingkat pembentukan kalus pada konsentrasi auksin yang berbeda

Taraf perlakuan	Tingkat pembentukan kalus (Skor)
$0,5 \text{ mg L}^{-1}$	$2,333 \pm 0,888^a$
$1,0 \text{ mg L}^{-1}$	$2,500 \pm 1,167^a$
$1,5 \text{ mg L}^{-1}$	$3,167 \pm 1,030^b$

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji BNT 1%

Tabel 7. Rerata tingkat pembentukan kalus pada interaksi antara kondisi pencahayaan dan konsentrasi auksin

Taraf perlakuan	Terang	Gelap
$0,5 \text{ mg L}^{-1}$	$2,167 \pm 0,983^{abc}$	$2,5 \pm 0,837^c$
$1,0 \text{ mg L}^{-1}$	$1,5 \pm 0,548^a$	$3,5 \pm 0,548^{bc}$
$1,5 \text{ mg L}^{-1}$	$2,333 \pm 0,816^{bc}$	$4 \pm 0,0^c$

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata pada uji BNT 0,05

Tabel 8. Tekstur dan warna kalus

Pencahayaannya	Jenis/konsentrasi Auksin		Tekstur		Warna	
	Jenis	(mgL ⁻¹)	awal	akhir	awal	akhir
Terang	2,4-D	0,5	Remah	Kompak agak remah	Hijau, putih	Putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat
		1,0	Remah	Remah	Hijau, putih	Kuning kecoklatan, coklat
		1,5	Remah	Kompak agak remah	Hijau, putih	Putih, kuning kecoklatan
	NAA	0,5	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan, Putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat
		1,0	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat
		1,5	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat
Gelap	2,4-D	0,5	Remah	Kompak agak remah	Hijau, putih	Putih kekuningan, coklat
		1,0	Remah	Kompak agak remah	Hijau, putih	Putih kecoklatan, coklat
		1,5	Remah	Kompak agak remah	Hijau, putih	Putih kecoklatan, coklat
	NAA	0,5	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan
		1,0	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan
		1,5	Remah	Remah	Hijau, putih	Putih kekuningan

Tabel 9. Rerata jumlah akar yang terbentuk pada tiap perlakuan

Cahaya	2,4-D (mg L ⁻¹)			NAA (mg L ⁻¹)		
	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
Terang	0 ^a	0 ^a	0 ^a	2 + 2,0 ^a	4 + 1,0 ^a	3 + 3,0 ^a
Gelap	0 ^a	0 ^a	0 ^a	4,667 + 5,67 ^a	21 + 7,94 ^c	15,667 + 3,21 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 0,05.

Kalus pada media dengan penambahan NAA umumnya berwarna putih kekuningan yang menandakan kalus belum mengalami proses penuaan dan masih aktif membelah. Sebaliknya kalus pada media dengan penambahan 2,4-D berwarna kecoklatan yang menandakan adanya proses penuaan. Selain itu pencoklatan juga dapat diakibatkan oleh sintesis senyawa fenol pada jaringan kalus. Thimann (1992) mengemukakan bahwa senyawa 2,4-D merupakan senyawa auksin sintetis dari golongan fenoksi yang tahap akhir oksidasinya mampu menghasilkan senyawa fenol.

Jumlah akar

Akar hanya terbentuk pada jaringan yang dikultur pada media dengan penambahan *Naftalene Acetic Acid* (NAA), dan jaringan yang dinkubasi pada kondisi gelap mampu membentuk akar lebih banyak dari pada kondisi terang. Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa jumlah akar terbanyak (21 akar) dihasilkan oleh jaringan yang dikultur pada media dengan penambahan NAA 1,0 mg L⁻¹ dan diinkubasi dalam kondisi gelap.

Pembentukan akar adalah salah satu proses dimana pembelahan sel memainkan peranan penting (Thimann 1992), dan auksin

diketahui mampu mempengaruhi sintesis DNA dan mitosis (Patau *et al.* 1957 dalam Thimann 1992). NAA merupakan salah satu jenis auksin yang sering digunakan untuk memicu proses perakaran baik pada proses perbanyakan tanaman secara *in vitro* maupun *in vivo*. Hal ini dikarenakan NAA tampaknya tidak dirusak oleh IAA oksidase atau enzim lain, sehingga bisa bertahan lebih lama (Salisbury & Ross 1995).

Jaringan yang dikultur pada media dengan penambahan 2,4-D sama sekali tidak membentuk akar. Lestari & Mariska (1997) dalam Wardani *et al* (2004) mengemukakan bahwa 2,4-D memiliki aktivitas yang sangat kuat dalam memacu proses dediferensiasi sel, menekan organogenesis, serta memacu pertumbuhan kalus.

SIMPULAN DAN SARAN

Pembentukan dan pertumbuhan kalus nilam dipengaruhi oleh kondisi pencahayaan, konsentrasi auksin dan interaksi antara kondisi pencahayaan dan konsentrasi auksin. Perbedaan jenis auksin (2,4-D dan NAA) tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus nilam. Kondisi gelap mampu menginduksi pembentukan kalus nilam lebih baik daripada kondisi terang. Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan kalus dalam memproduksi minyak nilam

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menghaturkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala yang telah mendanai penelitian ini dari sumber dana DIPA dan para mahasiswa yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Amar, I. 2003. Analisis faktor-faktor yang mempengaruhi ekspor minyak nilam Indonesia. *Skripsi*. Universitas Syiah Kuala, Darussalam-Banda Aceh.
 Apriyanita, R. R., Esyanti & A. H. Siregar. 2003. Pengaruh pemberian elisitor jamur *Phytium aphanidermatum* (Edson) Fitzp terhadap kandungan ajmalisin pada

kultur kalus berakar *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *J. Berita Biologi*, 6: 543-547.

Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. 2001. Perkembangan luas areal dan produksi komoditi nilam perkebunan rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam berdasarkan Kabupaten/Kota Tahun 2000. p. 18. dalam Laporan Tahunan Tahun 2000. Dinas Perkebunan, Banda Aceh.
 Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. 2002. Perkembangan areal dan produksi komoditi nilam perkebunan rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam berdasarkan pola pengembangan Tahun 2001. p. 18. dalam. Laporan Tahunan Tahun 2001. Dinas Perkebunan, Banda Aceh.
 Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. 2003. Luas Areal dan Produksi Komoditi Nilam Perkebunan Rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam Berdasarkan Pola Pengembangan Tahun 2002, p. 78. dalam. Laporan Tahunan Tahun 2002. Dinas Perkebunan, Banda Aceh.
 Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. 2004. Luas Areal dan Produksi Komoditi Nilam Perkebunan Rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam Berdasarkan Kabupaten/ Kota Tahun 2003. p. 18. dalam. Laporan Tahunan Tahun 2003. Dinas Perkebunan, Banda Aceh.
 Dinas Perkebunan Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. 2005. Luas Areal dan Produksi Komoditi Nilam Perkebunan Rakyat Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam Berdasarkan Pola Pengembangan Tahun 2004. p. 98. dalam. Laporan Tahunan Tahun 2004. Dinas Perkebunan, Banda Aceh.
 Fitriani, A. 2003. Kandungan ajmalisin pada kultur kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don setelah dielisitasi homogenat jamur *Pythium aphanidermatum*. Edson Fitzp. http://rudycr.tripod.com/sem2_023/any_firiani.htm.
 Gunawan, L. W. 1995. Teknik kultur *in vitro* dalam hortikultura. Swadaya, Jakarta.
 Hardiyanto, A., Solichatun & W. Mudyantini. 2004. Pengaruh variasi konsentrasi naftalen asetat terhadap

- pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus daun dawa *Gynura procumbens* (Lour) Merr. *J. Biofarmasi*, 2: 69 – 74.
- Katuuk, J. R. P. 1989. Teknik kultur jaringan dalam mikropropagasi tumbuhan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Jakarta.
- Lakitan, B. 1996. Fisiologi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Palupi, A. D., Solichatun & S. D. Marlina. 2004. Pengaruh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) terhadap kandungan minyak atsiri kalus daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *J. Biosmart*, 6: 99 – 103.
- Salisbury, F. B. & C. W. Ross. 1995. Fisiologi tumbuhan (terjemahan D. R. Lukman, Sumaryono & S. Niosoloihin). ITB, Bandung.
- Santoso, B. H. 2003. Bertanam nilam, bahan industri wewangian. Kanisius, Yogyakarta.
- Sudaryani, T. & E. Sugiharti. 2002. Budidaya dan Penyulingan Nilam, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Thimann, K. V. 1992. Auksin. in M. B. Wilkins (ed.) *Fisiologi Tanaman*. (terjemahan M. M. Sutejo & A. G. Kartasapoetra). Bumi Aksara, Jakarta.
- Wardani, D. P., Solichatun & A. D. Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada variasi penambahan asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *J. Biofarmasi*, 2: 35 – 43.