



## Regenerasi Kalus Embriogenik Sorgum (*Sorghum bicolor*) menggunakan Kombinasi ZPT dan Mikronutrien

*Embryogenic Callus Regeneration of Sorghum (Sorghum bicolor) using PGR Combinations and Micronutrient*

Author(s): Nadya Oktafiana<sup>(1)</sup>; Siti Umayyah<sup>(1)</sup>; Wulan Nursyiam Ningtyas<sup>(1)</sup>; Bambang Sugiharto<sup>(1)\*</sup>

<sup>(1)</sup> Universitas Jember

\* Corresponding author: [sugiharto.fmipa@unej.ac.id](mailto:sugiharto.fmipa@unej.ac.id)

Submitted: 28 Jan 2022

Accepted: 16 Mar 2022

Published: 31 Mar 2022

### ABSTRAK

Perakitan varietas unggul tanaman sorgum dapat dilakukan dengan perbanyakan secara *in vitro* melalui kultur jaringan. Somatik embriogenesis menjadi salah satu metode perbanyakan yang tepat untuk menghasilkan tanaman dalam waktu yang cepat dan jumlah banyak. Tetapi, rendahnya kemampuan regenerasi kalus menyebabkan kegagalan terbentuknya tanaman baru. Pemberian nutrisi dan zat pengaruh tumbuh (ZPT) yang efektif pada media menentukan keberhasilan regenerasi kalus. Sitokinin dan auksin merupakan jenis ZPT yang berperan dalam pembelahan dan perkembangan sel serta menstimulasi pertumbuhan tunas pada kalus. Sedangkan, CuSO<sub>4</sub> digunakan sebagai nutrisi mikro tambahan yang berperan aktif dalam katalisasi enzim dan transfer elektron pada proses fotosintesis sehingga mampu meningkatkan regenerasi tanaman. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi terbaik dari kombinasi antara Kinetin, NAA, dan CuSO<sub>4</sub> pada media regenerasi kalus sorgum untuk menstimulasi pertumbuhan tunas dan akar. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi MS0, 0,1 mg/l NAA, dan 1 mg/l kinetin menjadi kombinasi ZPT paling baik untuk regenerasi tunas yaitu 6,38 tunas. Sedangkan untuk regenerasi akar kombinasi MS0 dan 1 mg/l CuSO<sub>4</sub> merupakan konsentrasi terbaik yaitu menghasilkan sebanyak 32,1 akar dan meningkatkan jumlah planlet sebanyak 7,67. Keseluruhan hasil menunjukkan bahwa kombinasi NAA, kinetin, dan CuSO<sub>4</sub> dengan konsentrasi tertentu dapat meningkatkan regenerasi kalus menjadi tanaman.

### Kata Kunci:

CuSO<sub>4</sub>;  
Kinetin;  
NAA;  
Regenerasi;  
Tanaman  
Sorghum

### ABSTRACT

#### Keywords:

CuSO<sub>4</sub>;  
Kinetin;  
NAA;  
Regeneration;  
Sorghum Plant

*The assembly of superior varieties of sorghum can be done by in vitro propagation through tissue culture. Somatic embryogenesis is one of the appropriate propagation methods to produce plants faster in large quantities. However, the low callus regeneration ability causes the lack of shoot and root generation. The effective addition of nutrients and the Plant Growth Regulator (PGR) in the regeneration media determines the success of callus regeneration. Cytokinins and auxins play a role in cell division, development, and stimulate shoot growth in the callus. Meanwhile, CuSO<sub>4</sub> is used as an additional micronutrient that plays an active role in enzyme catalysis and electron transfer in the photosynthesis process. The purpose of this study was to determine the best concentration of the combination of Kinetin, Naphthalene Acetic Acid (NAA), and CuSO<sub>4</sub> in sorghum callus regeneration media to stimulate shoot and root growth. The results showed that MS0 in combination with 0.1 mg/l NAA and 1 mg/l kinetin was the best formulation for shoot regeneration, resulting in around 6.38 shoots. Meanwhile, the combination of MS0 and 1 mg/l CuSO<sub>4</sub> was the best formulation for root regeneration with 32.1 roots, as well as for the number of plantlets with 7.67 plantlets. The results showed that combinations of NAA, Kinetin, and CuSO<sub>4</sub> could increase callus regeneration into a whole plant.*



## PENDAHULUAN

Sorgum (*Sorghum bicolor*) merupakan salah satu jenis tanaman sereal asal Benua Afrika yang tersebar luas termasuk di Indonesia. Tanaman sorgum banyak tumbuh di wilayah Pulau Jawa, Kalimantan, Papua, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur (Harmini, 2021). Kemampuan adaptasi yang dimiliki tanaman sorgum cukup tinggi, yakni mampu tumbuh pada lahan suboptimal (Lestari & Dewi, 2015). Selain adaptif, tanaman sorgum dimanfaatkan untuk bahan pangan, pakan ternak, bahan baku industri bioetanol dan sirup (Khaidir et al., 2021). Akan tetapi, tanaman ini masih memiliki kemampuan pertumbuhan yang rendah jika dikembangkan secara *in vitro*.

Perkembangbiakan tanaman sorgum secara *in vitro* memiliki tujuan untuk perbaikan sifat tanaman baik untuk tujuan transformasi atau perbanyakan melalui kultur jaringan (Maulana et al., 2019). Metode kultur jaringan yang efektif untuk perbanyakan tanaman sorgum dapat dilakukan melalui somatik embriogenesis. Metode tersebut memiliki keunggulan, yakni bebas dari kontaminasi, mendapatkan tanaman dalam jumlah banyak, waktu relatif singkat, serta memiliki karakteristik secara genetik sama dengan induk. Namun, Dreger et al. (2019) menyebutkan bahwa tanaman sorgum cukup sulit dikembangkan melalui teknik kultur jaringan dan memiliki tingkat regenerasi yang rendah. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan fenolik pada kalus, sehingga daya regenerasi kalus tanaman sorgum rendah dan gagal tumbuh menjadi tunas serta mengarah kepada kematian jaringan (Liu et al., 2015). Oleh karena itu, perlu dilakukan kajian kondisi kultur jaringan yang tepat untuk meningkatkan regenerasi tanaman sorgum.

Regenerasi kalus embriogenik tanaman sorgum dapat ditingkatkan

dengan menambahkan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) golongan sitokinin dan auksin. Kombinasi kedua ZPT tersebut pada konsentrasi yang tepat akan meningkatkan regenerasi tanaman (Mawaddah et al., 2021). Kinetin dan *Naphthaleneacetic acid* (NAA) menjadi salah satu jenis sitokinin dan auksin yang memiliki pengaruh baik untuk regenerasi kalus. Pemberian kinetin 0,5 mg/l dan NAA 0,01 mg/l mampu meregenerasi tanaman *Moringa stenopetala* dengan optimal (Adugna et al., 2020). Penambahan kinetin 2 mg/l dan NAA 0,1 mg/l untuk kalus bawang merah mampu menstimulasi pertumbuhan mata tunas dan memicu perbanyakan formasi tunas (Kurniawan & Widoretno, 2016). Hal ini disebabkan karena auksin dan sitokinin bersinergi dalam mengarahkan regenerasi kalus tanaman.

Pemberian mikronutrien pada media tanam mampu membantu kinerja sel tanaman dalam pertumbuhan. Mikronutrien CuSO<sub>4</sub> diketahui memiliki pengaruh dalam pembentukan akar pada eksplan (Farahat & Belopukhov, 2020). Pemberian nutrisi tambahan secara spesifik akan mempengaruhi laju pertumbuhan pada bagian tertentu tanaman seperti akar dan tunas. Tamimi & Othman (2020) menjelaskan bahwa pemberian nutrisi mikro berupa CuSO<sub>4</sub> mampu mempengaruhi pertumbuhan regenerasi akar tanaman. CuSO<sub>4</sub> merupakan nutrisi yang berperan penting pada proses transfer elektron dalam proses fotosintesis dan berperan aktif pada katalisasi enzim sehingga membantu memicu pertumbuhan sel tanaman untuk berdiferensiasi. Adanya hal tersebut maka dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui konsentrasi optimal kombinasi Kinetin dan NAA pada media regenerasi tunas dan CuSO<sub>4</sub> pada media regenerasi akar tanaman sorgum varietas Numbu. Kombinasi ketiga jenis zat yaitu NAA, Kinetin dan CuSO<sub>4</sub> diharapkan memberikan pengaruh

terhadap peningkatan pembentukan tunas dan akar.

## METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan di UPT Laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*), Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2021 hingga bulan Oktober 2021.

Peralatan yang digunakan terdiri dari satu set alat kultur jaringan, *autoclave*, timbangan analitik, LAF (*Laminar Air Flow*), pH meter, botol kuljar, mikroskop stereo (*Leica*), dan alat pendukung lainnya. Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan terdiri dari bahan tanam berupa biji sorgum varietas Numbu, spirtus, alkohol 70% dan 90%, akuades steril, larutan kloroks, larutan HCl 2N dan NaOH 2N. Media MS (*Murashige and Skoog*), zat pengatur tumbuh 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*), BAP (*6-Benzylamino purin*), Kinetin, NAA (*Nephtaleneacetic acid*), CuSO<sub>4</sub>, IAA, Agar *gelrite*, *Casein Hydrolysate* (CH), sukrosa dan bahan lainnya.

Percobaan yang dilakukan diawali dengan induksi kalus pada media induksi yang terdiri dari media MS + 2,4-D 3 mg/l + kinetin 0,5 mg/l dan prolin 3000 mg/l. Induksi kalus menggunakan eksplan berupa biji sorgum. Sebelumnya, biji sorgum disterilisasi menggunakan alkohol 96% selama 10 menit diulang sebanyak 2 kali. Selanjutnya biji digojok dengan menggunakan larutan kloroks sebanyak 2 kali ulangan (masing-masing 15 dan 30 menit). Biji sorgum kemudian dibilas menggunakan aquades steril sebanyak 5 kali ulangan hingga bersih dan direndam selama *overnight* untuk proses imbibisi sebelum diinduksi. Kalus embriogenik yang telah memiliki warna kuning kehijauan, tekstur remah serta memiliki nodul-nodul pada permukaan selanjutnya dipindah pada media regenerasi tunas berupa MS0 + prolin 560 mg/l + CH 500

mg/l + glutamin 100 mg/l, PVP 0,5 mg/l, BAP 2 mg/l, dengan penambahan kombinasi hormon Kinetin (1 mg/l, 2 mg/l, dan 3 mg/l) dan NAA (0,1 mg/l, 0,3 mg/l, dan 0,5 mg/l). Rancangan percobaan pada media regenerasi tunas menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktorial yang terdiri dari 9 perlakuan dengan 4 ulangan. Tunas yang terbentuk pada umur 30 hst dipindah pada media akar berupa MS + IAA 1 mg/l + NAA 1 mg/l + CuSO<sub>4</sub> (0,5 mg/l, 1 mg/l dan 1,5 mg/l) diinkubasi selama 3 minggu, pada kondisi 16 jam terang 8 jam gelap. Rancangan percobaan pada media regenerasi akar menggunakan RAL non-faktorial dengan 3 perlakuan dan 7 ulangan. Semua media media induksi dan regenerasi diukur pH sebesar 5,8 dan disterilisasi pada dengan suhu 121°C, 2 atm selama 15 menit. Hasil regenerasi tanaman berupa planlet selanjutnya diaklimatisasi dengan mengambil planlet yang terbaik pada setiap perlakuannya di dalam pot menggunakan media tanam tanah dan pasir dengan perbandingan 1:1 di dalam *green house*.

Parameter yang diamati berupa jumlah tumbuh tunas pada umur tanaman 30 hst. Jumlah planlet dan akar pada minggu ke 3. Selanjutnya, data dianalisis secara statistika menggunakan ANOVA dan uji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf kepercayaan 95%. Data kualitatif yang diperoleh berupa data visual dan disajikan secara deskriptif.

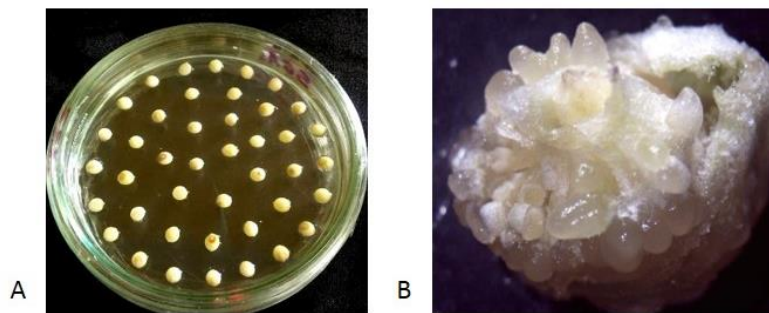
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Induksi Kalus Sorgum

Kalus mulai terbentuk pada minggu ke-2 setelah tanam. Kecepatan terbentuknya kalus pada setiap eksplan berbeda-beda. Perbedaan waktu terbentuknya kalus disebabkan oleh perbedaan kemampuan biji menyerap nutrisi dan zat pengatur tumbuh. Terdapat dua macam kalus yang dihasilkan selama induksi, yakni kalus yang bersifat

embriogenik dan kalus non-embriogenik. Kalus embriogenik memiliki warna putih-kekuningan, tekstur remah, memiliki nodul pada permukaan, mengkilap, tidak berlendir. Sebaliknya, kalus non-embriogenik memiliki warna coklat kehitaman, tekstur lunak, kompak, serta berlendir. Warna coklat hingga kehitaman disebabkan oleh aktifitas fenolik yang menyebabkan kalus sulit tumbuh dengan baik. Kalus embriogenik terinduksi karena pengaruh ZPT 2,4-D dan kinetin di dalam media induksi kalus. Induksi kalus dimulai dari skutelum kecambah biji yang membelah secara tidak teratur dan bersifat embrionik. Perkembangan kalus dimulai dengan pembengkakan eksplan, kemudian membelah secara tidak teratur dan

terbentuk struktur seperti tonjolan pada permukaan eksplan (Sitinjak et al., 2015). Karakteristik kalus embriogenik selain memiliki struktur yang remah, kalus tersebut juga mampu berproliferasi melalui tahapan somatik embriogenesis terdiri dari fase globular, skutelar, dan koleoptilar. Fase koleoptilar merupakan fase awal untuk kalus beregenerasi dengan terbentuknya *greenspot*. Pola et al. (2007) menjelaskan bahwa kalus dapat beregenerasi menjadi tanaman diawali dengan perubahan warna putih menjadi hijau. Warna hijau pada kalus merupakan klorofil dan kemampuan regenerasi kalus menjadi tanaman harus ditingkatkan dengan media regenerasi yang optimal.



Gambar 1. A) Eksplan Biji Sorgum 1 Hsi dan B) Kalus Embriogenik Sorgum  
Figure 1. A) Eksplan from Sorghum Seeds and B) Embryogenic Callus of Sorghum

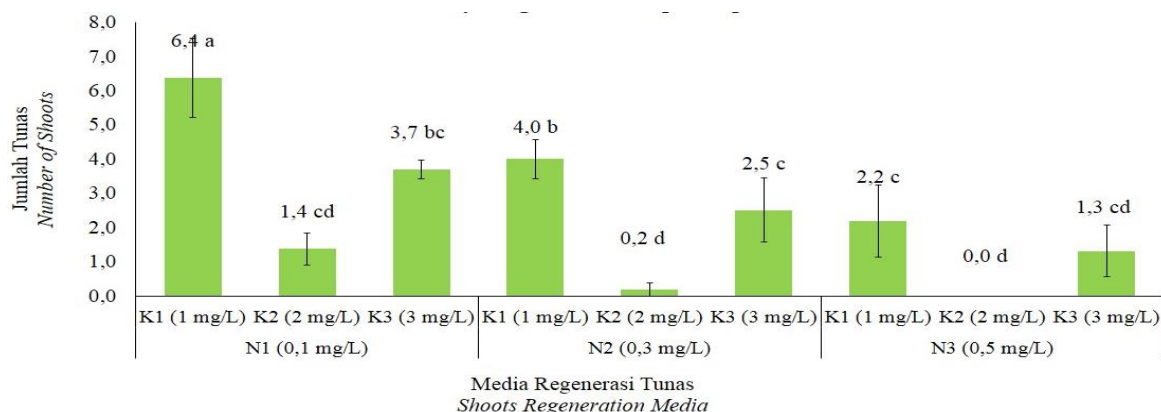
## 2. Jumlah Tunas Sorgum

Kombinasi NAA dan Kinetin diketahui mempengaruhi regenerasi kalus (Pola et al., 2007). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan pengaruh Kinetin dan NAA untuk pembentukan tunas dari kalus. Jumlah tunas terbanyak dihasilkan dari kombinasi kinetin 1 mg/l dengan NAA 0,1 mg/l yaitu 6,4 tunas (Gambar 2). Hasil terbanyak selanjutnya diikuti kombinasi kinetin 1 mg/l dengan NAA 0,3 mg/l sebesar 4 tunas dan kombinasi kinetin 1 mg/l dengan NAA 0,5 mg/l sebesar 2,2 tunas. Pada taraf konsentrasi Kinetin 1 mg/L yang dikombinasikan dengan semua konsentrasi NAA menunjukkan semakin tinggi konsentrasi NAA, semakin rendah jumlah tunas yang dihasilkan. Pada taraf

NAA 0,1 mg/l, hasil regenerasi tunas terbaik dikombinasikan dengan Kinetin 1 mg/L. Hasil pengaruh NAA yang dikombinasikan dengan kinetin dengan berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa kinetin dengan konsentrasi terendah (Kinetin 1 mg/L) menghasilkan jumlah tunas paling banyak dan mengalami penurunan pada konsentrasi Kinetin yang lebih tinggi serta mengalami sedikit kenaikan pada konsentrasi Kinetin terbesar (Kinetin 3 mg/l). Penurunan jumlah tunas disebabkan karena konsentrasi ZPT kurang tepat dan munculnya zat fenolik berupa pencoklatan kalus. Hal ini mengakibatkan kegagalan regenerasi tunas, mengarahkan kepada kematian jaringan tanaman (Muzayyana et al., 2020). Jumlah tunas

yang terbentuk seiring peningkatan NAA dan kinetin sesuai dengan hasil Mastuti (2017) yang menjelaskan bahwa konsentrasi auksin yang berlebih pada media regenerasi tunas akan menghambat

terbentuknya tunas pada kalus. Media dengan penambahan kinetin 1 mg/l dan NAA 0,1 mg/l menjadi konsentrasi yang paling efektif untuk menghasilkan tunas.



Gambar 2. Jumlah tunas sorgum pada media regenerasi tunas dengan penambahan Kinetin dan NAA pada 30 hari setelah inokulasi

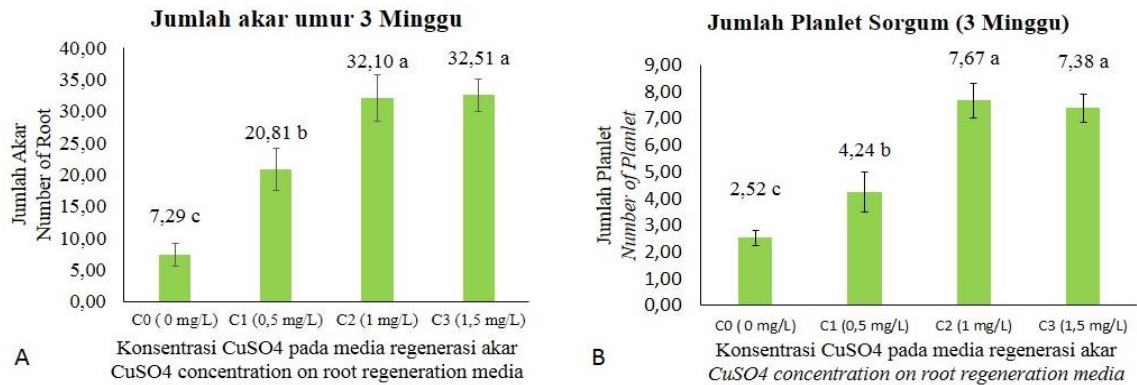
Figure 2. Number of sorghum shoots on shoot regeneration media with the addition of Kinetin and NAA at 30 days after inoculation

### 3. Jumlah Tumbuh Akar dan Planlet Tanaman Sorgum

Hasil regenerasi tanaman pada media regenerasi hanya mampu membentuk tunas. Regenerasi akar perlu dilakukan untuk menghasilkan tanaman lengkap agar proses pertumbuhan, perkembangan dan metabolisme tanaman optimal. Pemberian  $\text{CuSO}_4$  dengan konsentrasi 1,5 mg/l memberikan hasil terbaik, yakni menghasilkan jumlah akar 32,51 per eksplan. Hasil studi ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi  $\text{CuSO}_4$  yang semakin tinggi menghasilkan jumlah akar semakin banyak (Gambar 3A). Hasil tersebut juga berbanding lurus dengan persentase pembentukan akar bahwa penambahan  $\text{CuSO}_4$  1,5 mg/l yang menghasilkan nilai persentase sebesar 95,24%. Liu et al., (2013) menjelaskan bahwa kombinasi  $\text{CuSO}_4$  1  $\mu\text{mol/L}$  dengan berbagai auksin mampu menghasilkan 100% pertumbuhan planlet yaitu 4,2-5,3 tunas dan 56-71 akar pada tanaman sorgum

varietas Tx430.

Pemberian nutrisi mikro  $\text{CuSO}_4$  pada media tanam mampu memicu regenerasi tanaman baik akar maupun tunas (Zayed et al., 2020). Konsentrasi  $\text{CuSO}_4$  1 mg/l menghasilkan 7,67 planlet per eksplan dan hasil terendah yaitu 2,52 planlet per eksplan pada  $\text{CuSO}_4$  0 mg/l. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa  $\text{CuSO}_4$  merupakan suatu nutrisi mikro yang mempengaruhi proses regenerasi tanaman secara *in vitro*. Senyawa tersebut berperan aktif dalam proses transfer elektron pada proses fotosintesis, serta proses metabolisme suatu tanaman (Zayed et al., 2020). Menurut Comar et al. (2021) menjelaskan bahwa  $\text{CuSO}_4$  memiliki peran penting sebagai katalisator enzim untuk menunjang pertumbuhan regenerasi tanaman hasil *in vitro* melalui eksplan kalus. Namun, efektivitas dari  $\text{CuSO}_4$  bergantung pada jenis eksplan yang digunakan baik dari spesies yang berbeda.



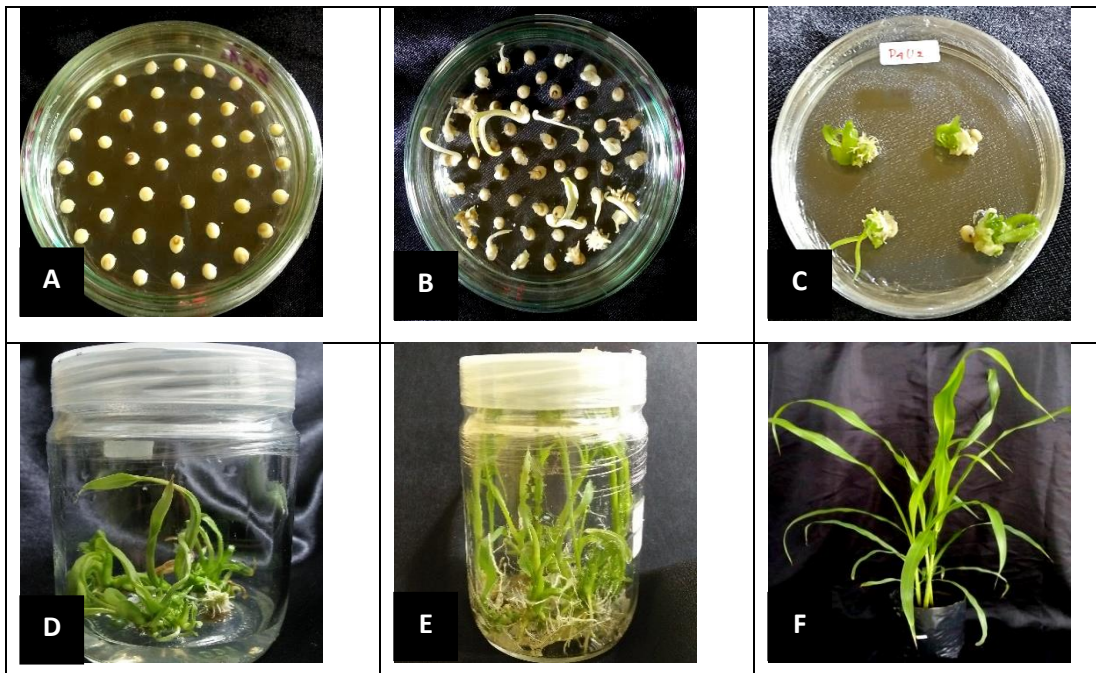
Gambar 3. A) Pengaruh pemberian CuSO<sub>4</sub> terhadap jumlah akar sorgum pada minggu ke-3, dan B) Pengaruh pemberian CuSO<sub>4</sub> terhadap jumlah planlet tanaman sorgum pada minggu ke-3

Figure 3. A) The Effect of CuSO<sub>4</sub> addition on the number of sorghum roots on the third week, and B) The effect of CuSO<sub>4</sub> on the number of sorghum planlets on the third week

#### 4. Aklimatisasi

Keseluruhan proses regenerasi kalus embriogenik dari eksplan biji sorgum diawali dengan induksi kalus embriogenik (Gambar 4A-C). Kalus tersebut mampu beregenerasi menjadi tanaman (planlet) pada media regenerasi tunas dan akar (Gambar 4D-E). Planlet dengan kondisi sehat yaitu memiliki daun berwarna hijau, tinggi tanaman 8 cm, dan memiliki akar

yang banyak diaklimatisasi pada kondisi *in vivo*. Aklimatisasi dilakukan untuk mengetahui bahwa tanaman *in vitro* mampu teradaptasi pada kondisi *in vivo*. Hasil dari aklimatisasi menunjukkan bahwa tanaman mampu teradaptasi dengan baik dan tidak ada perbedaan pertumbuhan tanaman dari biji dengan tanaman hasil propagasi *in vitro* (Gambar 4F).



Gambar 4. Proses pertumbuhan tanaman sorgum secara *in vitro*. A) Induksi biji sorgum 1 HSI. B) Eksplan membentuk kalus pada minggu ke-2. C) Kalus tumbuh tunas

pada minggu ke-1. D) Tunas dipindah pada media regenerasi akar. E) Eksplan tumbuh akar pada minggu ke-3. F) Aklimatisasi minggu ke-4.


Figure 4. *Sorghum* plant growth process in vitro. A) Induction of sorghum seeds at 1 day after inoculation. B) The explants callus formation on the second week. C) The shoots growth on callus at the first week. D) The shoots on the root regeneration medium. E) Explants roots growth at the third week. F) Acclimatization at week 4.

## KESIMPULAN


Regenerasi tunas dari kalus embriogenik dapat terbentuk pada media dengan pemberian kombinasi NAA dan Kinetin. Kombinasi NAA 0,1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l menjadi kombinasi paling efektif dalam menghasilkan jumlah tunas sebanyak 6,38 tunas/eksplan. Sedangkan regenerasi akar dapat ditingkatkan dengan penambahan CuSO<sub>4</sub> 1,5 mg/l yaitu menghasilkan jumlah akar sebanyak 32,51 akar/eksplan. Selain itu, CuSO<sub>4</sub> juga mempengaruhi peningkatan pembentukan planlet pada media dengan penambahan CuSO<sub>4</sub> 1 mg/l yaitu menghasilkan jumlah planlet sebanyak 7,67 planlet/eksplan pada tanaman sorgum varietas Numbu.

## DAFTAR PUSTAKA


Adugna, A. Y., Feyissa, T., & Tasew, F. S.

 (2020). Optimization of growth regulators on in vitro propagation of *Moringa stenopetala* from shoot explants. *BMC Biotechnology*, 20(1), 60.

Comar, C. G., Queiroz, M. S., de Andrade,

 M. M., Trettel, J. R., & Magalhães, H. M. (2021). Copper modulates the biochemical and enzymatic activity and growth of tomato cultivars grown in vitro. *Agronomy Research*, 19(1), 57–73.


Dreger, M., Mól, R., Deja, A., Raj, E.,


 Mańkowska, G., & Wielgus, K. (2019). Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 55(2), 190–198.


Farahat, E. M. M., & Belo pukhov, S. L.





(2020). Evaluation of The Effect of Chelate Cu Complex At Different Concentration on In Vitro Root of Two Varieties of Grape. *Plant Archives*, 20(2), 9221–9225.


 Harmini, H. (2021). Pemanfaatan tanaman sorgum sebagai pakan ternak ruminansia di lahan kering. *Livestock and Animal Research*, 19(2), 159.

 Khaidir, Usnawiyah, Hendrival, Hafifah, Dewi, E. S., Yusuf, M., & Wirda, Z. (2021). Sorgum Sebagai Pakan Alternatif Dan Sumber Energi Terbarukan Untuk Kemandirian Pangan dan Energi. *Global Science Society*, 3(2), 151–160.

Kurniawan, A. D., & Widoretno, W.  (2016). Regenerasi In Vitro Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Jurnal Biotropika*, 4(1), 1–4.

 Lestari, E. G., & Dewi, I. S. (2015). SHOOT REGENERATION FROM CALLUS SORGHUM VARIETY KAWALI, MANDAU AND SUPER I FROM CALLUS IRRADIATED. *Seminar Nasional Biosains 2*, 248–257.

 Liu, G., Gilding, E. K., & Godwin, I. D. (2013). Additive effects of three auxins and copper on sorghum in vitro root induction. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 49(2), 191–197.

 Liu, G., Gilding, E. K., & Godwin, I. D. (2015). A robust tissue culture system for sorghum [ *Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *South African Journal of Botany*, 98, 157–160.

Mastuti, R. (2017). *Dasar-Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Universitas



Brawijaya Press.

- Maulana, R., Restanto, D. P., & Slameto, S. (2019). PENGARUH KONSENTRASI 2,4 – DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN SORGUM. *JURNAL BIOINDUSTRI*, 1(2), 138–148.
- Mawaddah, S. K., Saputro, N. W., & Lestari, A. (2021). Pemberian Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Jahe (*Globba leucantha* var. *bicolor* Holttum) pada Kultur In Vitro. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 23(1), 43–50.
- Muzayyana, L., Hazmi, M., Murtianingsih, H., & Arum, L. S. (2020). Optimization of Honey Concentration on In Vitro Sorghum (*Sorghum bicolor* ) Shoot Induction. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 4(2), 106–111.
- Pola, S., Saradamani, N., & Ramana, T. (2007). Enhanced shoot regeneration in tissue culture studies of *Sorghum bicolor*. *Journal of Agricultural Technology*, 3(2), 275–286.
- Sitinjak, M. A., Isda, M. N., & Fatonah, S. (2015). Induksi Kalus dari Eksplan Daun In Vitro Keladi Tikus (*Typhonium* sp.) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Al-Kauniah Jurnal Biologi*, 8(1), 32–39.
- Tamimi, S. M., & Othman, H. (2020). Effects of Copper Sulphate on Shoot Multiplication and Rooting of Banana (*Musa acuminata* L.) (In vitro Study). *Asian Journal of Plant Sciences*, 19(3), 200–204.
- Zayed, Z. E., EL-Dawayati, M. M., Hussien, F. A., & Saber, T. Y. (2020). Enhanced in vitro multiplication and rooting of date palm cv. Yellow maktoum by zinc and copper ions. *Plant Archives*.