
PERKECAMBAHAN BIJI KANTONG SEMAR (*Nepenthes gracilis* Korth.) SECARA *IN VITRO*

In vitro seed germination of pitcher plant (*Nepenthes gracilis* Korth.)

Yupi Isnaini dan Elizabeth Handini

Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor,
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

Abstract

Mature seeds of a pitcher plant (*Nepenthes gracilis* Korth.) were cultured in seven different media, namely half strength MS medium, half strength MS medium supplemented with BAP and NAA, 0.8 KC medium supplemented with coconut water + bean sprout extract, 0.8 KC + H₃BO₃ + CuSO₄ + ZnSO₄ + coconut water + bean sprout extract, 0.25 KC + Vitamin (MS), HYPONeX + coconut water + sprout bean extract, and HYPONeX + potato extract. Each culture was incubated under light conditions. Young seedlings were subsequently transferred onto fresh media of 0.5 MS and 0.25 KC supplemented with 0, 5, 10, and 15 mg/l GA₃ after 15 weeks of sowing. Seed germination and seedling growth were observed weekly. It was noted that the seeds started to germinate in ten weeks after incubation and the highest seed germination was obtained in HYPONeX medium + potato extract. However, the appearance of the seedlings was better on MS media and KC media without organic compound than on the other media. Seedlings in all level of GA₃ in half strength MS media and 0.25 KC media grew faster than those in media without GA₃.

Key words: *Nepenthes gracilis* Korth, propagation, seed germination, seedling growth, *in vitro*

PENDAHULUAN

Nepenthes gracilis Korth. (Nepenthaceae) dikenal pula dengan nama lain *N. distillatoria* auct.non.L., *N. angustifolia* Mast., *N. korthalsiana* Miq., *N. longinodis* Beck, *N. laevis* Korth ex Hook. dan *N. teysmanniana* Miq. (Cheek & Jebb, 2001). Tumbuhan yang dalam

bahasa Indonesia disebut kantong kera (Handayani, 2001) ini tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 800 m dpl dan tersebar di Indonesia (Kalimantan, Sulawesi dan Sumatera), Malaysia (Semenanjung Malaysia, Sabah dan Sarawak), Brunei Darussalam, Singapura dan Thailand (Cheek & Jebb, 2001; Clarke et al. dalam IUCN, 2006). Tumbuhan ini biasa ditemukan di

hutan rawa, hutan kerangas, atau di area yang sudah terganggu seperti di tepi jalan, pada tanah yang miskin/kritis, tanah cadas, bebatuan, rawa, kawasan hutan Dipterocarpaceae, sampai hutan pegunungan. Menurut Handayani (2001), secara morfologi tumbuhan ini mempunyai ciri memanjang dengan tinggi sampai 6 m, batang berbentuk segitiga, daun lanset atau pita dengan ujung runcing dan pangkal melebar memeluk batang, kantong kecil sampai besar dengan tinggi 3-15 cm, mulut kantong bulat dan menyempit ke arah pangkal tutup, tutup kantong bulat atau bulat telur. Bunga jantan dan betina terpisah, buah 14-27 (-35) mm berisi biji seperti benang halus dengan panjang 0,7-1,5 cm.

Selain berpotensi sebagai tanaman hias, jenis ini juga dimanfaatkan untuk menyuburkan rambut dan mengobati sakit mata. Air rebusan akar dan batangnya diyakini dapat mengatasi penyakit darah tinggi, disentri dan sakit perut, sedangkan jus batang diminum untuk mengurangi engatan bisa (Astuti, *et al.* 2003). Aung *et al.* (2002) telah berhasil mengisolasi beberapa komponen kimia dari daun *N. gracilis*, diantaranya adalah plumbagin, quercetin, epishinanolone, isoshinanolone, shinanolone dan kaempferol.

Status kelangkaan dan resiko kepunahan *N. gracilis* dalam IUCN Red list saat ini masih dalam kategori *lower risk* dan kriteria *least concern* (LR/lc) (Clarke *et al.* dalam IUCN, 2006), artinya jenis ini belum termasuk kritis, genting, ataupun rawan, sehingga dinilai mempunyai resiko kepunahan yang masih rendah dan mendapat perhatian paling rendah (Widyatmoko dan Irawati, 2007). Namun jika perdagangannya tidak dikendalikan, jenis ini mungkin akan menjadi terancam kepunahan, sehingga CITES memasukkan spesies ini dalam daftar Appendix II (Clarke *et al.* dalam IUCN, 2006). Apalagi jika perhatian masyarakat terhadap tanaman hias unik ini semakin meningkat. Untuk itu diperlukan upaya perbanyakan untuk melestarikannya.

Perbanyakan tumbuhan ini melalui biji tidak terlalu sulit, tetapi *N. gracilis* termasuk salah satu jenis yang bijinya cepat kehilangan viabilitas, sama seperti biji *N. ampullaria*, dan *N. bicalcarata* (Rajah, 2007). Selain itu, perkecambahan biji *Nepenthes* sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sehingga perlu dipelajari faktor-faktor yang menentukan keberhasilan perkecambahan biji tersebut. Kultur *in vitro* merupakan salah satu

alternatif metode perbanyakan yang kondisi nutrisi dan lingkungannya bisa dikontrol dan dikendalikan. Perbanyakan *Nepenthes* secara *in vitro* belum banyak dipelajari sehingga penelitian yang dilakukan masih bersifat eksploratif mulai dari perkecambahan biji sampai pembesaran. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media perkecambahan yang tepat serta komposisi media dan dosis GA₃ yang optimal untuk pembesaran kultur *N. gracilis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor pada bulan Agustus 2006 – Juni 2007. Bahan tanaman yang digunakan adalah biji dari buah *N. gracilis* yang berasal dari Pulau Batam.

Tahap perkecambahan

Buah yang terlihat cukup tua dan berwarna coklat dipisahkan dari tangkai buahnya dan dicuci dengan air sabun sambil digosok-gosok dengan tangan, lalu dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya, buah direndam dalam larutan fungisida Benlate 2 g/l dan bakterisida Agrept 2 g/l selama 1-2 jam dan dibilas dengan aquades steril sampai tidak ada sisa fungisida dan bakterisida. Sebelum dibuka, buah dicelupkan dalam alkohol 96% kemudian dibakar sampai alkoholnya kering. Selanjutnya biji dikeluarkan dan langsung dimasukkan ke dalam botol-botol yang telah berisi media semai. Setiap botol berisi biji-biji yang berasal dari 3 buah. Media yang digunakan terdiri dari media dasar Murashige & Skoog (MS), Knudson C (KC) dan HYPONeX (N:P:K=25:5:20) dengan modifikasi sebagai berikut:

- A. 0,5 MS
- B. 0,5 MS + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA,
- C. 0,8 KC + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge
- D. 0,8 KC + H₃BO₃ + CuSO₄ + ZnSO₄ + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge
- E. 0,25 KC + Vitamin MS
- F. HYPONeX + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge
- G. HYPONeX + 20 g/l ekstrak kentang

Pengamatan dilakukan setiap minggu dengan menghitung jumlah biji yang berkecambah dan mencatat profil atau penampakan visual kecambah yang tumbuh. Penghitungan jumlah kecambah dihentikan pada minggu ke-15 karena kecambah pada salah satu media sudah tidak dapat dihitung. Namun pengamatan terhadap penampakan visual kecambah yang tumbuh masih dilanjutkan sampai kecambah dianggap cukup kuat untuk disubkulturkan. Selain itu, pengamatan biji juga dilakukan secara mikroskopis sebelum dan sesudah berkecambah untuk melihat ada tidaknya embrio di dalam biji yang sangat halus dan fase awal perkecambahan yang belum terlihat jelas secara kasat mata.

Tahap Pembesaran

Kecambah yang tumbuh baik selanjutnya disubkultur ke media dasar 0,5 MS dan 0,25 KC, masing-masing dengan penambahan 0, 5, 10, atau 15 mg/l GA3. Kecambah yang disubkultur hanya yang berasal dari media perkecambahan A, B, C, D, dan E karena kecambah dari media F dan G sebagian besar telah mengalami pencoklatan, bahkan ada yang sudah mati. Setiap perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan dilakukan setiap minggu dan peubah yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah dan warna daun, serta jumlah dan warna kantong. Data tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah kantong diolah lebih lanjut, berturut-turut menjadi rata-rata pertambahan tinggi, rata-rata pertambahan jumlah daun dan rata-rata pertambahan jumlah kantong per minggu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

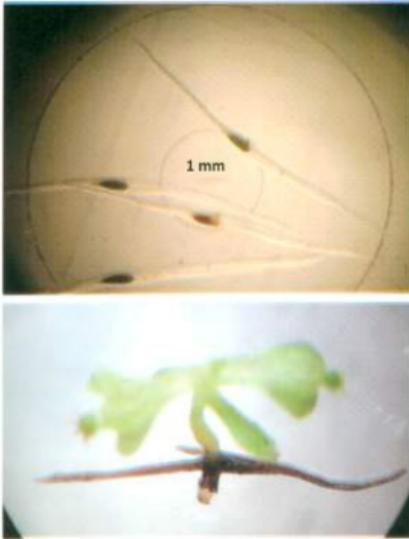
Tahap perkecambahan

Perkecambahan biji *N. gracilis* secara *in vitro* membutuhkan waktu setidaknya 10 minggu setelah semai. Kecambah muncul dari bagian tengah biji yang terlihat seperti embrio (Gambar 1). Perkecambahan tertinggi dijumpai pada media G (HYPONeX + ekstrak kentang) diikuti oleh perkecambahan pada media E (0,25 KC + vitamin MS), dan paling sedikit pada media B (0,5 MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA). Kecenderungan ini terlihat sejak awal perkecambahan sampai penghitungan dihentikan pada minggu ke-15 setelah semai

karena kecambah yang muncul pada media G sulit untuk dihitung lagi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bahan organik dari air kelapa, ekstrak taoge maupun kentang pada media semai mampu merangsang pemunculan kecambah *Nepenthes*. Hal ini agak berbeda dengan hasil penelitian Khompat *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa penambahan air kelapa 20% (v/v) pada media dasar MS justru menghambat perkecambahan biji *N. mirabilis* (Lour.) Druce. Sedangkan pada anggrek tanah *Paphiopedillum* dan *Vanilla*, perkecambahan biji juga menjadi lebih baik dengan penambahan 10% air kelapa dan 3 ppm IBA (Hegarty, 1955 dalam Arditti & Ernst, 1993). Namun jika dilihat dari profil atau penampakan visualnya, kecambah yang dihasilkan pada media yang mengandung bahan organik memperlihatkan gejala pertumbuhan yang tidak normal, seperti warna daun yang lebih muda dan pucat serta perawakan yang kurang sehat. Bahkan beberapa diantaranya tidak mampu berkembang dan akhirnya mati. Kondisi ini tampak sangat berbeda dengan yang teramati pada media tanpa bahan organik, yaitu media A dan B (media dasar 0,5 MS), maupun media E (media dasar 0,25 KC) dimana kecambah yang muncul tampak lebih hijau dan kekar (Gambar 2; Tabel 1).

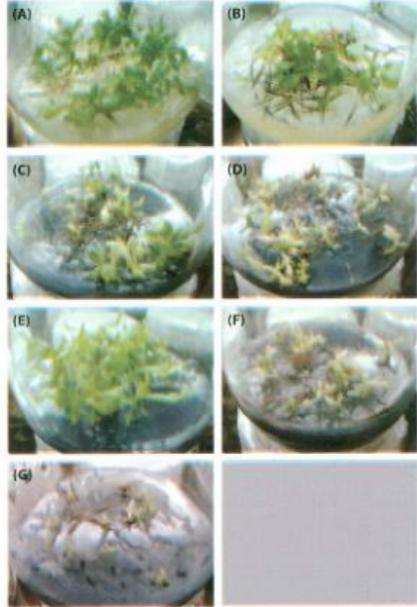
Penambahan bahan anorganik seperti H_3BO_3 , $CuSO_4$, dan $ZnSO_4$ pada media D menghambat perkecambahan *N. gracilis*, seperti terlihat dari rendahnya jumlah kecambah yang dihasilkan dan banyaknya kecambah yang terlihat pucat (Gambar 3; Tabel 1). Artinya perkecambahan biji *Nepenthes* ternyata lebih baik pada media yang tidak terlalu kaya nutrisi. Hal ini mirip dengan hasil penelitian Mariska *et al.* (1998) dalam Kosmiatin *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa perkecambahan biji panili hasil persilangan justru terjadi pada media yang lebih sederhana. Kosmiatin *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa perkecambahan tertinggi untuk biji gaharu (66,67%) diperoleh pada media dasar MS tanpa penambahan vitamin, hormon, maupun bahan organik lainnya, sementara itu pada media MS yang ditambah dengan 50 mg/l GA3 dan 50 mg/l PVP perkecambahan bijinya hanya mencapai 7,14 – 25% dan pada media MS yang ditambah dengan sitokinin BA hanya sekitar 25%.



Gambar 1. Biji *Nepenthes gracilis* setelah direndam dalam larutan Bayclin (atas) dan pada saat berkecambah (bawah) dilihat melalui mikroskop dengan perbesaran 49,5X.

Tabel 1. Profil atau penampakan visual kecambah *Nepenthes gracilis* pada berbagai media semai

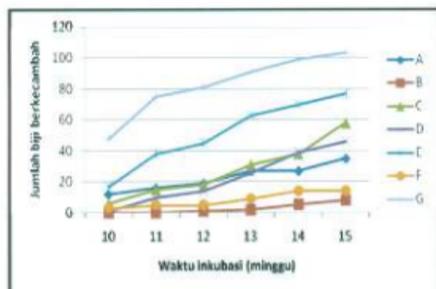
Media semai	Profil atau penampakan visual kecambah
A. 0,5 MS	Hijau tua, kekar, meroset
B. 0,5 MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA	Hijau tua, kekar, meroset
C. 0,8 KC + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge	Sebagian hijau dan agak pucat
D. 0,8 KC + H ₂ O ₂ + CuSO ₄ + ZnSO ₄ + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge	Sebagian besar agak pucat
E. 0,25 KC + Vitamin MS	Hijau, agak kurus tinggi
F. HYPONeX + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge	Pucat, kecoklatan, sebagian mati
G. HYPONeX + 20 g/l ekstrak kentang	Hampir semua pucat dan mati pada akhir pengamatan



Gambar 2. Penampakan visual kecambah *Nepenthes gracilis* pada berbagai media semai: (A) 0,5 MS, (B) 0,5 MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA, (C) 0,8 KC + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge, (D) 0,8 KC + H₃BO₃ + CuSO₄ + ZnSO₄ + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge, (E) 0,25 KC + Vitamin MS, (F) HYPONeX + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge dan (G) HYPONeX + 20 g/l ekstrak kentang.

Media semai untuk *Nepenthes* masih memerlukan kajian lebih lanjut, karena dalam penelitian ini belum dicoba kombinasi yang lebih lengkap dari media dasar, bahan organik dan bahan anorganik, sehingga hasilnya belum memadai untuk diperbandingkan secara proporsional. Namun secara umum bisa dipertimbangkan bahwa tanaman yang menunjukkan gejala daun kurang hijau seperti pada media C, D, F, dan H bisa diasumsikan, antara lain, karena kekurangan bahan pembentuk klorofil seperti Nitrogen (N) dan magnesium (Mg), atau karena kekurangan Fe yang berfungsi sebagai kofaktor pada salah satu tahapan sintesis klorofil (Jones, 1998; Cambell *et al.*, 2003).

Asumsi di atas tentunya masih membutuhkan pembuktian lebih lanjut melalui percobaan yang terencana dengan kondisi lingkungan yang terkontrol, karena menurut Rajah (2007) kunci utama untuk keberhasilan perkecambahan biji *Nepenthes* secara konvensional adalah pemilihan lingkungan yang tepat, termasuk kelembaban, temperatur, dan cahaya. Biji *Nepenthes* memerlukan kelembaban yang tinggi, suhu yang hangat, dan cahaya yang cukup untuk dapat berkecambah. Kebanyakan biji dari jenis-jenis *Nepenthes* akan berkecambah dalam 4 minggu sampai 10 bulan pada suhu 20 – 30°C. Pada masa tersebut, kecambah sangat sensitif, jika terlalu banyak air akan membusuk dan jika terlalu sedikit air akan mengering dan mati. Bahkan kebanyakan anakan *Nepenthes* akan mati setelah perkecambahan, sehingga perlu segera ditransplan atau dipindahtanamkan ke media yang baru untuk tahap pembesaran.



Gambar 3. Perkecambahan biji *Nepenthes gracilis* pada berbagai medium: (A) 0,5 MS, (B) 0,5 MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA, (C) 0,8 KC + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge, (D) 0,8 KC + H₃BO₃ + CuSO₄ + ZnSO₄ + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge, (E) 0,25 KC + Vitamin MS, (F) HYPONeX + 150 ml/l air kelapa + 150 g/l ekstrak taoge dan (G) HYPONeX + 20 g/l ekstrak kentang

Tahap Pembesaran

Berdasarkan hasil penelitian pada tahap semai, media dasar 0,5 MS dan 0,25 KC tanpa penambahan bahan organik dapat dianggap media yang lebih tepat untuk digunakan sebagai media pertumbuhan lebih lanjut, karena pada media tersebut semua kecambah yang tumbuh tampak sehat dan bugar sampai minggu

ke-15 setelah semai, meskipun jumlah biji yang berkecambah tidak sebanyak pada media dasar HYPONeX + ekstrak kentang (media G). Oleh karena itu untuk tahap pembesaran digunakan media dasar 0,5 MS dan 0,25 KC dengan perlakuan dosis GA₃.

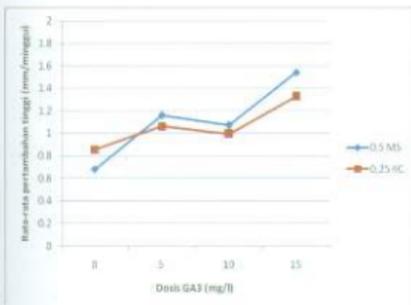
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan GA₃ pada kedua media dasar tersebut mampu merangsang pertumbuhan anakan *Nepenthes* sehingga dapat tumbuh lebih cepat daripada tanpa penambahan GA₃ (kontrol). Penambahan GA₃ menghasilkan peningkatan rata-rata pertambahan tinggi tanaman dan pertambahan jumlah kantong (Gambar 4 dan 6). Hal ini terkait dengan salah satu peran GA₃ pada tanaman, yaitu mempercepat perpanjangan batang dan akar, merangsang pembungaan dan pertumbuhan buah (Agrios, 1997). Tetapi penambahan GA₃ tidak selalu diikuti oleh peningkatan rata-rata pertambahan jumlah daun (Gambar 5). Menurut Alvin *et al.* (1973), GA₃ pada dosis rendah mampu meningkatkan pertumbuhan jaringan tembakau, tetapi pada dosis yang lebih tinggi justru menghambat pembentukan tunas pada kalus maupun pada organ.

Dilihat dari perubahan warna daun, hanya tanaman pada media dasar 0,5 MS tanpa penambahan GA₃ yang dapat mempertahankan kehijauan warna daunnya sejak awal perlakuan sampai akhir pengamatan. Pada media yang diberi perlakuan berbagai dosis GA₃, perubahan warna daun mulai terlihat seminggu setelah perlakuan. Pada umumnya daun yang sebelumnya berwarna hijau tua menjadi hijau, sedangkan yang hijau menjadi hijau muda atau pucat. Hal ini terjadi pada kedua media dasar yang digunakan. Hanya tanaman yang sebelumnya dkecambahkan pada media A (0,5 MS) yang masih bertahan warna hijau daunnya sampai minggu keenam. Setelah itu warna daun mulai memudar seiring dengan lamanya masa inkubasi. Hal ini berarti tanaman sudah tidak mendapatkan nutrisi yang cukup untuk memenuhi kebutuhannya agar tetap hijau. Sedangkan warna kantong pada umumnya lebih muda daripada warna daunnya, kecuali pada media dasar 0,5 MS.

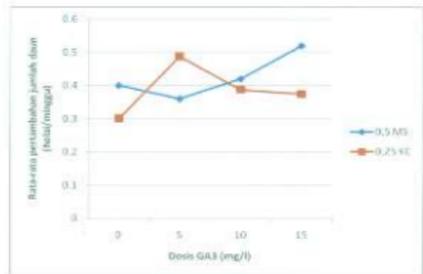
Berdasarkan fenomena tersebut, maka sebaiknya kultur *Nepenthes* segera dipindahkan ke media baru sebelum enam minggu pada media pembesaran. Apalagi jika kultur tersebut akan dijadikan sebagai

sumber eksplan untuk memperbanyak secara klonal. Chua & Henshaw (1999), melaporkan bahwa kultur *N. macfarlanei* yang berasal dari eksplan berupa kotiledon menghasilkan tunas yang lebih banyak daripada tunas apikal dan bagian ketiak. Dilaporkan juga bahwa media 0,5 MS dengan penambahan minimal 5×10^{-6} M 6-BAP dapat menginduksi tunas kecambah *N. Macfarlanei*.

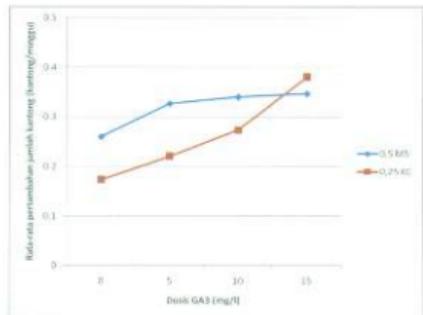
Pertumbuhan *N. gracilis* pada media dasar 0,5 MS secara umum terlihat lebih baik daripada media 0,25 KC. Hal ini terlihat dari rata-rata pertambahan tinggi tanaman, pertambahan jumlah daun dan kantong, serta perubahan warna daun dan kantong. Hasil penelitian ini mirip dengan yang dilaporkan oleh Latha & Seenii (1994) bahwa produksi tunas dari eksplan *N. khasiana* pada media dasar MS lebih tinggi (60%) daripada media KC (40%). Hal ini karena komposisi media KC memang jauh lebih sederhana dibandingkan dengan media MS (Gamborg & Philips, 1995). Jadi, meskipun dilaporkan sebelumnya bahwa *N. gracilis* lebih sering ditemukan pada tanah yang miskin, namun pada kenyataannya jenis ini masih membutuhkan komposisi nutrisi yang cukup untuk ditumbuhkan secara *in vitro*. Hal serupa dilaporkan oleh Khompat *et al.* (2007) untuk kultur *N. mirabilis*. Nutrisi yang dianggap cukup baik untuk produksi tunas yang normal dengan daun yang lengkap pada kultur *N. mirabilis* adalah pada media 0,5 MS, karena jika komposisi nutrisinya dikurangi menjadi 0,25 MS, maka produksi tunas akan lebih banyak tetapi tunasnya kecil dan daun yang terbentuk tidak normal.



Gambar 4. Pengaruh dosis GA3 terhadap pertambahan tinggi tanaman *Nepenthes gracilis* pada media 0,5 MS dan 0,25 KC.



Gambar 5. Pengaruh dosis GA3 terhadap pertambahan jumlah daun *Nepenthes gracilis* pada media 0,5 MS dan 0,25 KC.



Gambar 6. Pengaruh dosis GA3 terhadap pertambahan jumlah kantong *Nepenthes gracilis* pada media 0,5 MS dan 0,25 KC.

KESIMPULAN

Biji *N. gracilis* mulai berkecambah pada 10 minggu setelah semai. Perkecambahan biji paling banyak terjadi pada media HYPONeX yang ditambah ekstrak kentang, tetapi kecambah yang dihasilkan pada media 0,5 MS dan 0,25 KC dengan penambahan vitamin MS mempunyai daun yang tampak lebih hijau. Media perkecambahan *Nepenthes* masih memerlukan kajian lebih lanjut agar dapat menghasilkan kecambah dalam jumlah maksimal dengan pertumbuhan optimal. Sedangkan untuk tahap pertumbuhan, media 0,5 MS dengan

penambahan 15 mg/l GA₃ memberikan hasil yang lebih baik daripada media 0,25 KC dengan dosis GA₃ yang lebih rendah. Namun dosis GA₃ yang diperlukan untuk merangsang perpanjangan batang masih perlu dipelajari lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. Irawati atas kesempatan yang diberikan untuk memanfaatkan bahan penelitian berupa buah *N. gracilis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1997. *Plant Pathology, Fourth edition*. Academic Press. London.
- Alvin, L., Engelke, Q. Hamzi, Hamzi and F. Skoog. 1973. Cytokinin gibberellin regulation of shoot development and leaf form in tobacco plantlets. *Amer. J. Bot* 60(6): 491-495.
- Astuti, I.P., Y.U. Kelson and R.M. Taha. 2003. *Nepenthes L.* In Brink, M. and R.P. Escobin (eds.) *Plant Resources of South-East Asia No. 7 Fibre Plants*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. pp 193-197.
- Arditti, J. and R. Ernst. 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Aung, H.H., L.S. Chia, N.K. Goh, T.F. Chia, A.A. Ahmed, P.W. Pare and T.J. Mabry. 2002. Phenolic constituents from the leaves of the carnivorous plant *Nepenthes gracilis*. *Fitoterapia* 73 (445-447). <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=13879501>. Akses 12 Juni 2007, 2:07pm.
- Campbell, N.A., J.B. Reece and L.G. Mitchell. 2003. *Biologi edisi kelima Jilid II*. Erlangga, Jakarta.
- Cheek, M. and M. Jebb. 2001. *Nepenthaceae*. *Flora Malesiana Series I. Seed Plants* Vol 15: 67-69.
- Chua, L.S.L. and G. Henshaw. 1999. *In vitro* propagation of *Nepenthes macfarlanei*. *Journal of Tropical Forest Science* 11(3):631-638.
- Clarke, C., R. Cantley, J. Nerz, H. Rischer and A. Witsuba. 2000. *Nepenthes gracilis*. In: IUCN 2006 IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org>. Akses 08 Juni 2007.
- Gamborg O.L and G.C. Phillips. 1995. Appendix A: Basal media for plant cell and tissue culture. In Gamborg O.L. & G.C. Phillips (eds.) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Fundamental Methods*. Springer, New York.
- Handayani T. 2001. *Nepenthes* spp. koleksi Kebun Raya Bogor yang berpotensi sebagai tanaman hias. *Warta Kebun Raya* 3(1): 26-33.
- Jones, J.B. 1998. *Plant Nutrition Manual*. CRC Press, Washington.
- Khompat, K., W. Tokhao and A. Jantasip. 2007. Factors affecting *in vitro* seed germination and shoot multiplication of a pitcher plant (*Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce). *Sangkalanakarini J. Sci. Technol.* 29(2):253-260. <http://www2.psu.ac.th/PresidentOfficeEduService/journal/292pdf/03Nepenthes%20mirabilis253-260.pdf>. Akses 12 Juni 2007.
- Kosmiatin, M., A. Husni dan I. Mariska. 2005. Perkecambahan dan perbanyakan gaharu secara *in vitro*. *Journal AgroBiogen* 1(2) :62-67
- Latha, P.G., & S. Seenii. 1994. Multiplication of the endangered Indian pitcher plant (*Nepenthes khasiana*) through enhanced axillary branching *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 38:69-71.
- Rajah, 2007. Petpitcher carnivorous plant. Topic: My *Nepenthes* Seed Germination Guide (Read 81 times). <http://petpitcher.proboards61.com/index.cgi?action=display&board=archive&thread=1178710613&page=1>. Akses 12 Juni 2007, 2:07pm.
- Widyatmoko, D. dan Irawati. 2007. *Kamus Istilah Konservasi*. LIPI Press, Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, Bogor.