

**EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI DAN BUAH GINJE (*Thevetia peruviana*)  
UNTUK MENCEGAH KONTAMINASI PADA PERKECAMBAHAN  
KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***



**PUBLIKASI ILMIAH**

Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I  
pada Jurusan Pendidikan Biologi  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Oleh:

**DIAN EKA PUSPITOSARI**

**A 420 120 095**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

**2016**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI DAN BUAH GINJE  
(*Thevetia peruviana*) UNTUK MENCEGAH KONTAMINASI PADA  
PERKECAMBAHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***

**PUBLIKASI ILMIAH**

Oleh:

**Dian Eka Puspitosari**

**A420120095**

Telah diperiksa dan disetujui oleh



**Triastuti Rahayu, S.Si, M.Si**  
**NIK.920/NIDN. 0615027401**

HALAMAN PENGESAHAN

**EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI DAN BUAH GINJE (*Thevetia peruviana*)  
UNTUK MENCEGAH KONTAMINASI PADA PERKECAMBAHAN  
BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***

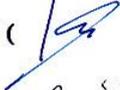
OLEH

**Dian Eka Puspitosari**

A 420 012 095

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari Kamis, 14 April 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Triastuti Rahayu, M.Si (  )  
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dra. Suparti, M.Si (  )  
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Dra. Aminah Asngad, M.Si (  )  
(Anggota II Dewan Penguji)

Dekan,



(Prof. Harun Joko Prayitno, M.Hum)

NIP. 19650428199303101

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 18 April 2016



**DIAN EKA PUSPITOSARI**

A 420 120 095

# EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI DAN BUAH GINJE (*Thevetia peruviana*) UNTUK MENCEGAH KONTAMINASI PADA PERKECAMBAHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO*

## Abstrak

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman dalam kondisi aseptis. *Thevetia peruviana* merupakan tanaman dikotil yang selalu hijau sepanjang tahun yang termasuk kedalam family Apocynaceae yang berfungsi sebagai antibakteri, antifungi, dan anti termite. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas biji dan buah ginje (*Thevetia peruviana*) untuk mencegah kontaminasi pada perkecambahan biji kacang hijau secara *in vitro*. Media kultur menggunakan media ½ MS. Media kultur ditanami kacang hijau. Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor, faktor 1 yaitu jenis ekstrak biji ginje (E1), buah ginje (E2) dan faktor 2 yaitu konsentrasi : 0% (K1), 15% (K2) dan 30%. (K3). Cara ekstraksi biji dan buah ginje menggunakan metode infundasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada botol ekstrak buah ginje lebih banyak menghambat kontaminan sebesar 40 % dan pertumbuhan kecambah normal, sedangkan pada ekstrak biji ginje botol yang tidak terkontaminasi persentasenya rendah dan pertumbuhan kecambah abnormal. Ekstrak buah ginje pada konsentrasi E2K2 dan E2K3 lebih efektif untuk mencegah kontaminasi pada perkecambahan biji kacang hijau secara *in vitro*.

Kata Kunci: artikel, gaya selingkung, penulisan ilmiah, template.

## Abstracts

Tissue culture is one of the techniques of plant propagation in aseptic conditions. *Thevetia peruviana* is a perennial dicotyledonous plants throughout the year are included in the family Apocynaceae that serves as an antibacterial, antifungal and anti-termite. The purpose of this study was to determine the effectivity of seeds and fruits extract of ginje (*Thevetia peruviana*) for prevent contamination in green beans seed germination in *in vitro*. Culture media using ½ MS media. Media culture planted by green beans. This research method using a completely randomized design (CRD) with two factors, factor 1 is varians extract, namely: seed and fruits ginje and factor 2 is concentration of extract, namely: 0% (K1), 15% (K2) and 30% (K3). The extraction method of seeds and fruits ginje using infundation. The results showed that in fruit thevetia extract bottle is more prevent contamination 40% and seed germination is normally, while in seed extract thevetia, the bottle which not contamination presentation is low and seed germination abnormal. The fruit thevetia extract in E2K2 and E2K3 concentration is more effective for prevent contamination in green beans seed germination in *in vitro*.

Keywords: seed and fruit *Thevetia*, contamination, antimicrobial, *in vitro*.

## 1. PENDAHULUAN

Tanaman dapat dikembangkan secara generatif dan vegetatif. Salah satu teknik pembiakkan tanaman adalah kultur jaringan tanaman yang merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan atau sel yang dipelihara dalam satu media dalam kondisi aseptis.

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan (Yusnita, 2003). Salah satu jenis media yang berlaku untuk perkecambahan biji adalah *Murashige & Skoog*.

Permasalahan utama pada teknik kultur jaringan tanaman adalah kontaminasi pada media. Untuk mengatasi kontaminasi pada media biasanya digunakan *Plant Preservative Mixture* (PPM). Sharaf & Weather (2006) menyatakan bahwa PPM merupakan preservative atau biosida spectrum luas yang sangat efektif untuk mencegah atau menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada kultur jaringan tanaman karena senyawa aktif seperti: isothiazol, methylchloroisothiazol, dan methylisothiazol. Harga PPM termasuk mahal, maka dari itu diperlukan alternatif yaitu dengan memanfaatkan organ tanaman ginje (*Thevetia peruviana*).

Tanaman ginje (*Thevetia peruviana*) termasuk kelompok tumbuhan dari Apocynaceae yang merupakan salah satu tanaman obat yang berasal dari India (Neelam dan Anil, 2014). Ciri morfologi tanaman adalah termasuk tanaman berkayu, bunga berwarna kuning yang dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Tanaman ini memiliki manfaat farmakologi sebagai kontrol

biologi hama, anti ermite, anti feedant, anti spermatgenik, dan memiliki potensi aktivitas antibakteri dan anti fungi (Kishan, 2012).

Pada penelitian ini, ekstraksi pada biji dan buah ginje menggunakan metode infundasi. Infundasi merupakan metode penyarian ekstrak yang umumnya dilakukan untuk mencari kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi menggunakan air sebagai pelarut. Saat berlangsung, temperatur pelarut air mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air pada metode ini adalah 1 : 10 (Ditjen POM, 2000).

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas biji dan buah ginje (*Thevetia peruviana*) untuk mencegah kontaminasi pada perkecambahan biji kacang hijau secara *in vitro*.

## 2. METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Maret tahun 2016. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan dua faktor perlakuan: jenis ekstrak dan konsentrasi.

Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow* (LAF), Erlenmeyer (*Pyrex*) 2000 ml, beaker glass (*Pyrex*) 200 ml, handsprayer, pinset, hot plate/ magnetic stirrer, pengaduk kaca, gelas ukur (*Pyrex*) 100 ml, autoclave, timbangan digital, botol ukur, mikropipet, korek, lampu bunsen, pH indikator, pH stick dan waterbath. Sedangkan bahan yang digunakan adalah buah ginje, biji ginje, biji kacang hijau, tissue, kertas payung, aluminium foil, plastik *wrap*, alcohol 70%, spiritus, media MS (*Murashige & Skoog*), *aquadest*, gula, agar-agar, dan PPM (*Plant Preservative Mixture*).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan dua faktor perlakuan yaitu: jenis ekstrak, dan konsentrasi. Cara pencarian ekstrak biji dan buah ginje menggunakan metode infundasi. Biji kacang hijau ditanam di dalam botol media kultur yang berisi media ½ MS dan tambahan ekstrak biji dan buah ginje, serta diberikan campuran PPM untuk kontrol positif. Data dianalisis menggunakan analisis deskriptif kualitatif.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektifitas ekstrak biji dan buah Ginje (*Thevetia peruviana*) untuk mencegah kontaminasi pada perkecambahan biji kacang hijau secara *in vitro*, hasil dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Data presentase botol yang tidak terkontaminasi dan pertumbuhan

Perlakuan	Botol yang tidak kontaminasi (%)	Rata-rata pertumbuhan kecambah biji kacang hijau			Kondisi kecambah
		Akar (buah)	Batang (cm)	Daun (helai)	
E1K1(-)	30	5	11,4	2	Normal
E1K2	40	3,3	4,20	2	Abnormal
E1K3	20	1,5	4,90	2	Abnormal
E2K1(+)	90	6,8	5,58	2	Normal
E2K2	40	5,5	6,55	2	Normal
E2K3	40	4,5	9,65	2	Normal

Keterangan : E1K1 = Media MS

E1K2 = Media MS + ekstrak biji ginje 15%.

E1K3 = Media MS + ekstrak biji ginje 30%.

E2K1 = Media MS + PPM.

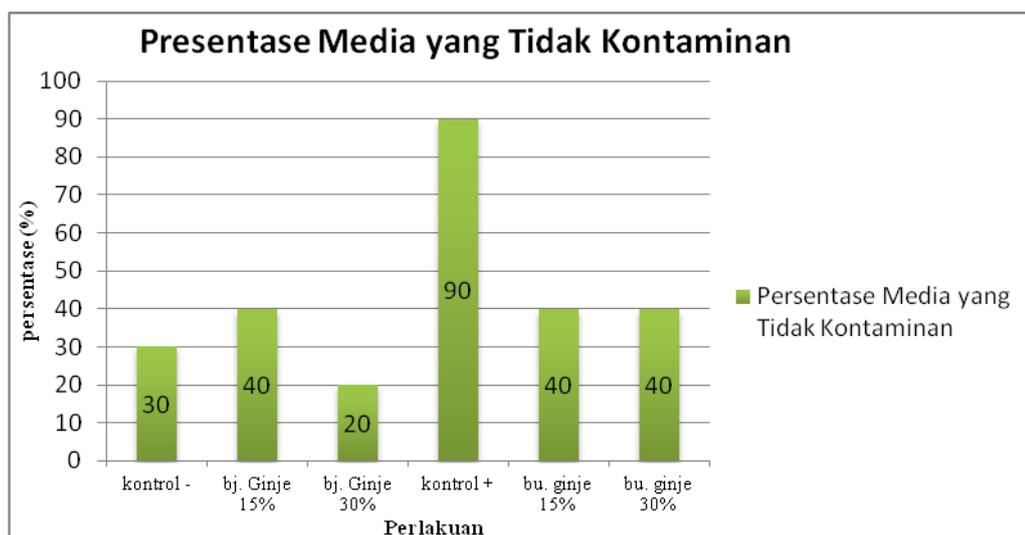
E2K2 = Media MS + ekstrak buah ginje 15%.

E2K3 = Media MS + ekstrak buah ginje 30%.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak biji dan buah ginje yang dilakukan dengan metode infundasi dengan suhu 90°C selama 15 menit memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat kontaminasi pada botol media. Ekstrak air dalam biji dan buah *Thevetia* mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, dan coumarin (Sowjanya, 2013), yang berperan sebagai antibakteri. Presentase botol yang tidak terkontaminasi pada media yang telah diberikan ekstrak buah ginje lebih besar daripada media yang telah diberikan ekstrak biji ginje.

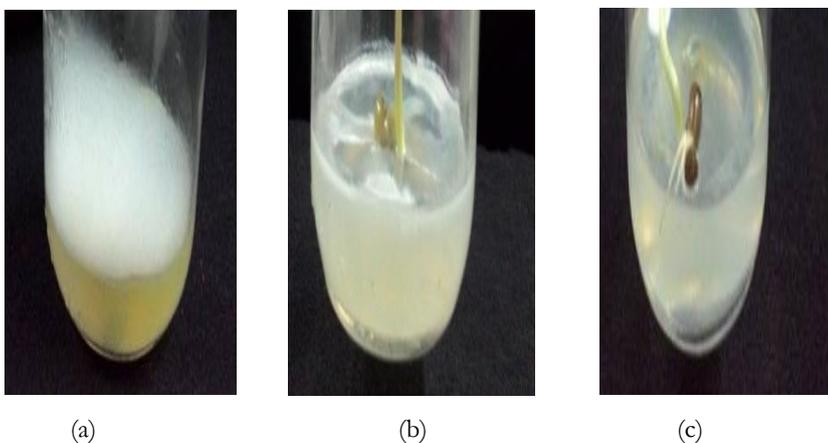
Pada umumnya untuk menghambat kontaminasi pada media kultur jaringan tanaman menggunakan PPM (*Plant Preservative Mixture*). Sharaf & Weathers (2006) menyatakan bahwa (PPM) merupakan preservative atau biosida spectrum luas yang sangat efektif untuk mencegah atau menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada kultur jaringan tumbuhan karena senyawa aktif seperti: isothiazol, methylchloroisothiazol, dan methylisothiazol. Pada penelitian ini, untuk menghambat kontaminasi digunakan biji serta buah ginje. Save *et all* (2015) menyatakan bahwa seluruh organ tanaman pada ginje pada umumnya mengandung senyawa antimicrobial. Senyawa yang ada pada ginje adalah glikosid jantung yang disebut Digitoxigenin (Usman, 2009), Thevetin A dan B, theveridoside, cerberin, asam galactouronic, rhamnose, aucubin, asam ursolat, cardenolides (Müller, 1991), quercetin, alpha dan beeta Amirin, dan lupenyl acetate, sebagai phytoconstituents prima (Van, 2002).

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji dan buah ginje dengan cara metode infundasi memiliki efektivitas menghambat kontaminan yang berbeda. Hal ini dibuktikan dengan media yang telah ditambahkan ekstrak baah ginje memiliki persentase botol yang tidak kontaminan lebih banyak daripada media biji ginje.



Gambar 1 Histogram persentase botol yang tidak kontaminan.

Berdasarkan gambar 1, Pada media yang diberikan tambahan ekstrak biji ginje konsentrasi 15%, botol yang tidak kontaminan sebesar 40%, dan ekstrak biji ginje konsentrasi 30%, botol yang tidak kontaminan sebesar 20%. Jumlah botol yang tidak kontaminan pada ekstrak biji ginje lebih sedikit daripada ekstrak buah ginje dengan persentase botol yang tidak terkontaminasi pada perlakuan ekstrak buah ginje konsentrasi 15% terdapat 40%, sedangkan pada perlakuan ekstrak buah ginje konsentrasi 30% terdapat 40%. Sebagian besar pada media ekstrak biji dan buah ginje terdapat botol yang terkena kontaminasi baik jamur (Gambar 2.a) maupun bakteri (Gambar 2.b).



Gambar 2 (a) Botol kontaminasi jamur, (b) Botol kontaminasi bakteri, (c) Botol yang tidak kontaminasi.

Ekstrak buah ginje mampu menghambat kontaminasi lebih besar daripada ekstrak biji ginje. Hal ini dikarenakan pada ekstrak buah ginje mengandung flavonoid dan tannin yang dapat menghambat aktivitas mikroba seperti anti bakteri, dan anti jamur (Save *et al*).

Aktivitas antimikroba pada flavonoid adalah yang paling utama dengan protein ekstraseluler yang langsung mengarah dan mengikat dinding sel bakteri, sedangkan tannin terkait dengan kemampuan mereka untuk menonaktifkan enzim adhesi mikroba yang menyelimuti sel (Save *et al*, 2015).

Hasil penelitian sebelumnya Pratama (2015) menyatakan bahwa ekstrak buah ginje yang diekstrak melalui metode infusa memiliki diameter hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan fungi *Candida albicans* yang lebih luas. Pada penelitian Ambang (2010), ekstrak methanol buah thevetia memiliki efek fungisida yang kuat terhadap strains *P.megakarya* yang menjelaskan bahwa dalam komponen ekstrak tersebut memiliki kandungan kimia terpenes dan beberapa asam lemak.

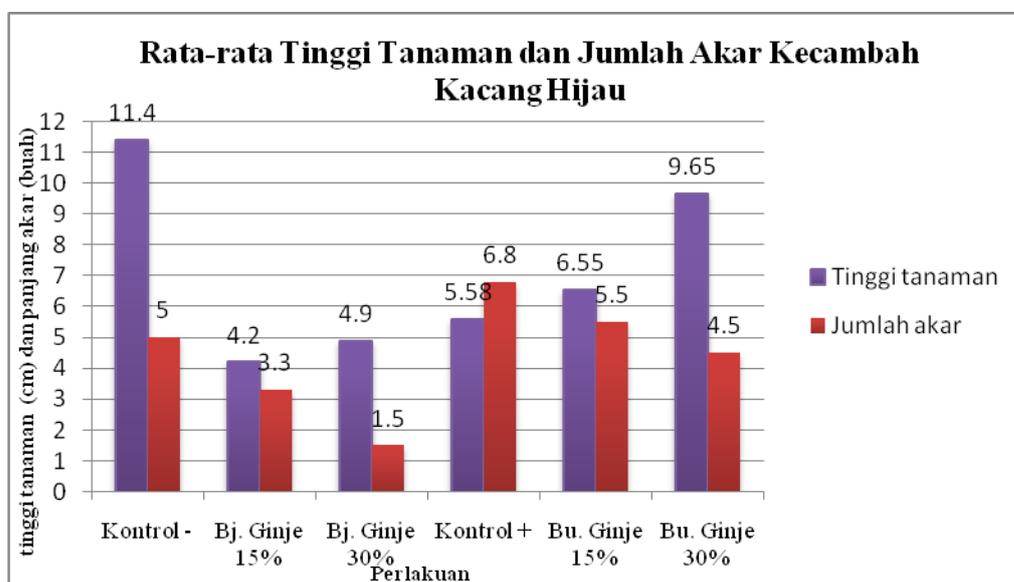
Pada penelitian ini banyak botol yang terkena kontaminasi, hal ini disebabkan karena beberapa faktor, antara lain eksplan. Eksplan yang belum bersih pada waktu disterilkan banyak mengandung bakteri dan jamur. Eksplan yang terinfeksi jamur atau bakteri dapat mengakibatkan pertumbuhan terhambat. Meskipun pada awal penanaman tidak terjadi kontaminasi, maka beberapa hari berikutnya jamur atau bakteri akan muncul. Selain eksplan, adapun faktor lain pemicu kontaminasi yaitu ruangan. Ruangan yang sudah steril dapat berubah menjadi ruangan yang tidak steril. Pengguna laboratorium terkadang keluar masuk ruangan tanpa mensterilkan terlebih dahulu anggota tubuhnya, hal ini mungkin saja pengguna laboratorium tersebut membawa bakteri dari luar ruangan dan jamur. Kontaminasi oleh jamur terlihat jelas pada media, media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, sedangkan kontaminasi oleh bakteri, pada eksplan terlihat lendir berwarna putih hingga kekuningan sebagian lagi melekat pada media berbentuk gumpalan yang basah (Nisa dan Rodinah, 2005).

Perkecambahan adalah permulaan munculnya pertumbuhan aktif yang menghasilkan pecahnya kulit biji dan munculnya semai (Franklin, 1991). Semai ditandai dengan adanya tumbuhan kecil dalam kotiledon sebagai hasil dari perkecambahan, hasil perubahan embrio saat perkecambahan adalah plumula tumbuh dan berkembang menjadi batang dan radikula menjadi akar (Hariman, 2003).

Salah satu faktor penentu keberhasilan tumbuhnya suatu tanaman pada media kultur jaringan tanaman yaitu media. Media yang dipakai pada penelitian ini adalah media *Murashige and Skoog*. Komponen yang harus diperhatikan dalam media salah satunya adalah pH. pH tertentu diperlukan untuk pertumbuhan jaringan tanaman agar tidak mengganggu fusi membran sel dan sitoplasma. pH pada kultur jaringan tanaman bekisar antara 4,6 – 5,8.

Pada semua media MS yang telah diberikan ekstrak biji dan buah ginje menunjukkan pH 4,6 – 5,8. Dalam hal ini penambahan ekstrak pada biji dan buah ginje pada media MS, sama sekali tidak berpengaruh pada konsentrasi pH media.

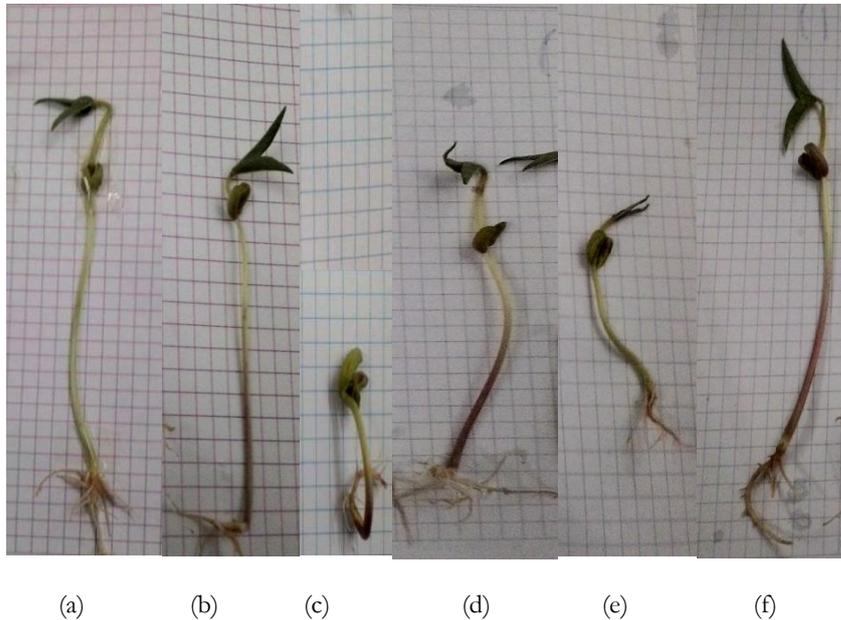
Menurut Ekowati (2011) tinggi tanaman dapat diukur dengan cara mengukur mulai dari pangkal batang (batas dengan penyangga) sampai ujung daun yang terpanjang. Histogram pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah akar kecambah kacang hijau disajikan dalam gambar 3.



Gambar 3 Histogram Pertumbuhan Tinggi Tanaman dan Panjang Akar Kecambah Kacang Hijau.

Dari gambar 3, kondisi kecambah pada media yang telah diberikan PPM dan ekstrak buah ginje adalah normal, dengan rata-rata jumlah akar terbesar 5,5 buah, dan rata-rata tinggi batang 9,65 cm. Sedangkan pada ekstrak biji ginje kondisi kecambahnya adalah abnormal dengan rata-rata jumlah akar yang terkecil yaitu 1,5 buah, dan tinggi batang 4,2 cm. pada ekstrak biji ginje, pertumbuhan terhambat. Tetapi, untuk jumlah daun tidak berpengaruh pada setiap perlakuannya.

Pada perlakuan kontrol positif, kondisi kecambah normal dengan ciri: tingkat kontaminasi hanya 90%, batang tumbuh dengan baik dengan ukuran yang tinggi, dan jumlah akar banyak. Hal ini terjadi karena pada kontrol (+) terdapat tambahan PPM yang merupakan biosida spektrum luas yang berfungsi untuk menghambat kontaminan (Gambar 4.d), sedangkan pada perlakuan kontrol negatif kondisi kecambah abnormal seperti: batang terlihat kurus, dan akar sedikit (pendek) (Gambar 4.a).



Gambar 4 Pertumbuhan kecambah biji kacang hijau setelah ditanam selama 7 hari. Keterangan : (a) E1K1, (b) E1K2, (c) E1K3, (d) E2K1, (e) E2K2, (f)E2K3.

E1K1 = Kontrol -

E1K2 = Media MS+ ekstrak biji ginje 15%

E1K3 = Media MS + ekstrak biji ginje 30%

E2K1 = Kontrol +

E2K2 = Media MS + ekstrak buah ginje 15%

E2K3 = Media MS + ekstrak buah ginje 30%

Pada ekstrak biji ginje pertumbuhan abnormal dengan tinggi batang yang pendek, jumlah akar sedikit dan agak rapuh serta serabut pendek (Gambar 4.b dan c). Sedangkan pada ekstrak buah ginje kondisi batangnya terlihat gemuk, kokoh dan akar banyak dan kokoh (Gambar 4.e dan f). Hal ini dikarenakan ekstrak biji ginje terdapat senyawa toksik yang sangat tinggi yang dapat membunuh bakteri, adanya senyawa tersebut juga menghambat pembelahan dinding sel sehingga tanaman tidak tumbuh dengan maksimal (Sowjanya, 2011).

Kriteria kecambah yang normal menurut Direktorat Jendral Pangan (2005) yaitu:

- Kecambah dengan pertumbuhan sempurna, ditandai dengan akar dan batang yang berkembang baik, jumlah kotiledon sesuai, daun berkembang baik dan berwarna hijau, dan mempunyai tunas pucuk yang baik.
- Kecambah dengan cacat ringan pada akar, hipokotil/ epikotil, kotiledon, daun primer, dan koleoptil.
- Kecambah dengan infeksi sekunder tetapi bentuknya masih sempurna.

Kecambah abnormal adalah kecambah yang tidak memperlihatkan potensi untuk berkembang menjadi kecambah normal. Kecambah rusak: kecambah yang struktur pentingnya hilang atau rusak berat. Plumula atau radikula patah atau tidak tumbuh. Direktorat Jendral Pangan (2005) kecambah abnormal memiliki kriteria sebagai berikut.

- a. Kecambah cacat atau tidak seimbang: kecambah dengan pertumbuhan lemah atau kecambah yang struktur pentingnya cacat atau tidak proporsional. Plumula atau radikula tumbuh tidak semestinya yaitu plumula tumbuh membengkok atau tumbuh kebawah, sedangkan radikula tumbuh sebaliknya.
- b. Kecambah lambat: kecambah yang pada akhir pengujian belum mencapai ukuran normal. Jika dibandingkan dengan pertumbuhan kecambah benih normal kecambah pada benih abnormal ukurannya lebih kecil. Benih yang tidak berkecambah adalah benih yang tidak berkecambah sampai akhir masa pengujian.

Setiap biji yang dikecambahkan tidak selalu sama pertumbuhan kecambahnya. Ada beberapa faktor yang menyebabkan benih berkecambah normal, abnormal, dan benih tidak tumbuh sama sekali. Menurut Sutopo (2010), beberapa faktor yang mengakibatkan benih tidak tumbuh diantaranya, benih yang dipilih adalah benih yang diambil dari buah yang telah jatuh hingga benih itu pecah dan keadaan kulit buah dalam keadaan pecah atau terbuka. Benih dalam keadaan seperti ini telah mengalami kontaminasi oleh bakteri, cendawan, virus maupun nematoda bahkan telah tersentuh oleh binatang yang memiliki bakteri atau penyakit lainnya terbawa oleh benih menjadi aktif setelah benih disebar atau disemaikan.

#### 4. PENUTUP

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah ginje lebih efektif untuk mencegah kontaminasi daripada ekstrak biji ginje, dengan hasil pada perlakuan E2K2 (konsentrasi ekstrak buah ginje 15%) dapat mencegah kontaminan dengan persentase 40% dan E2K3 (konsentrasi buah ginje 30%) dapat mencegah kontaminan sebesar 40%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ambang,Z, J. P. Ngoh Dooh, G. Essono, N. Bekolo, G. Chewachong, C.C. Asseng. 2010. "Effect Of *Thevetia peruviana* Seeds Extract *OnIn Vitro* Growth Of Four Strains Of *Phytophthora megakarya*". *Plant omics journal*.Vol 3(3):70-76.
- DitjenPOM. 2000. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. 2005. *Evaluasi Kecambah Pengujian Daya Berkecambah*. Depok: Direktorat Jenderal Tanaman Pangan Direktorat Perbenihan.
- Ekowati, Diah dan Mochammad Natsir. 2011. "Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays*) varietas bisi-2 Pada Pasir Reject dan Pasir Asli Pantai Trisik Kulonprogo". *Jurnal manusia dan lingkungan*. Vol 18(3): 220-231.
- Hariman, R. (2003). "Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan Panjang Hipokotil Pada Perkecambahan Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*)". *Skripsi*.UNIGAL Ciamis.
- Kishan, Singh, Agrawal Krishn kumar, Mishra Vimlesh, Uddin Sheik Mubee, Shukla Alok. 2012. "A Review On :*Thevetia peruviana* International Research". *Journal of pharmacy*. India : ISSN 2230-8407.
- Müller BM, Rosskopf F, Paper DH et all. 1991. "Polysaccharides from *Nerium oleander* structure and biological activity". *Journal Of Pharmacy*. Vol 46: 657-63.
- Nisa, C dan Rodinah. 2005. "Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa paradisiaca L.*) dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin". *Bioscientia*. Vol. 2 No. 2: 23-36.
- Neelam Rajbhar and Anil Kumar. 2014. "Pharmacological Importance of *Thevetia peruviana*".*International Journal of Pharmaceutical And Chemical Sciences*. India. ISSN: 2277-5005.
- Pratama, Eka Yudha.2014. "Aktifitas Antimikroba Ekstrak Daun Dan Buah Ginje (*Thevetia peruviana*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* Secara In Vitro".*Skripsi* : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- S. A. Save, R. S. Lokhande and A. S. Chowdhary. 2015. "*Thevetia peruviana*: the Good Luck tree". *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*. Vol 3 (3): 586-606.
- Sowjanya,KM. K. Narendra, J. Swathi and A. Krishna Satya. "Phytochemical Extraction and Antimicrobial Efficiency of Crude Leaf Extract of Medicinal Plant *Cascabela thevetia*". *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol. 4 (2).
- Van Wyk, Van Heerden, F.R, Van Oudtshoorn B. 2002. *Poisonous Plants of South Africa*. Pretoria: Briza Publications.
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Depok: Agromedia Pustaka.