

Mikropropagasi Tanaman Stroberi (*Fragaria* sp.) melalui Induksi Organogenesis

I MADE CHRISTIAN ADHI SAPUTRA*)
RINDANG DWIYANI
HESTIN YUSWANTI

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jln. PB. Sudirman, Denpasar - Bali 80362

*)E-mail : krischoice@yahoo.com

ABSTRACT

Mikropropagation Plant Strawberries (*Fragaria* sp.) Through Induction of Organogenesis

Problems for farmers strawberry in Bali are the difficulty of get healthy strawberries seeds a with prices are relatively cheap. Micropropagation method is ways to multiplay seeds for solving the problem.

Research aims to understand the influence of concentration ZPT NAA + BAP to organogenesis on explant leaves strawberries in vitro. Experiment arranged using a Randomized Block Design (RBD). Medium the base used is MS medium with adding of 2 gL⁻¹ of activated charcoal, and 0.1 ppm NAA. As the treatment is BAP with concentration of 5 ppm, 10 ppm and 15 ppm with 5 replications.

The results showed that the use of 0,1 ppm NAA + 15 ppm BAP most effective in deflection (3,0 DAP) with the percentage of 90,00%. The use of the NAA 0,1 ppm + 15 ppm BAP also most effective in a time of swelling (7,6 DAP) with the percentage of 82,95 % , while only the use of the NAA 0,1 ppm + 5 ppm BAP that will be capable of eliciting shoots at 23 DAP time.

Keywords : Mikropropagation, Strawberries, Organogenesis , Exsplants and in vitro.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Stroberi merupakan salah satu jenis buah yang sangat populer di banyak negara dengan budidaya yang komersial dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi (Biswas, *et al.*, 2007).

Pusat penanaman stroberi di Bali terletak di Desa Pancasari, Kecamatan Sukasada, Kabupaten Buleleng. Produksi buah stroberi di daerah ini untuk memenuhi kebutuhan swalayan, pasar tradisional, hotel dan restoran. Pertanaman stroberi di daerah ini juga dijadikan sebagai objek agrowisata, sehingga kontinuitas produksi stroberi menjadi faktor penting dan pertanaman yang sehat secara berkesinambungan juga menjadi keharusan.

Permintaan pasar yang semakin meningkat tentu saja menimbulkan kendala keterbatasan jumlah serta kualitas bibit sehingga produksi buah terganggu dan

pasokan buah ke konsumen tidak dapat terpenuhi secara kontinyu. Petani hanya membeli bibit di awal pertanaman, sedangkan untuk peremajaannya petani memproduksi bibit sendiri melalui perbanyakan vegetatif konvensional dengan runer. Hasil perbanyakan secara konvensional dengan runer atau biji mempunyai banyak kelemahan diantaranya menghasilkan bibit dengan waktu yang lama dan bergantung pada cuaca (Dijkstra, 1993; Nehra *et al.*, 1994).

Penelitian ini menawarkan solusi permasalahan bibit tersebut melalui metode perbanyakan dengan mikropropagasi. Bibit stroberi yang dihasilkan melalui mikropropagasi menghasilkan bibit dengan jumlah banyak dalam waktu relatif cepat, memiliki sifat yang sama dengan induknya, dengan proses pembibitan tidak tergantung musim (Karhu dan Hakala, 2002). Regenerasi mikropropagasi dapat dilakukan melalui organogenesis dan embryogenesis yang dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (Dwiyani, 2015). Perbandingan sitokinin dan auksin yang tinggi akan mengarah pada pertumbuhan eksplan ke organogenesis (Bhojwani dan Razdan, 1983; Wattimena, 1991).

Organogenesis adalah proses yang menginduksi pembelahan sel, jaringan atau kalus untuk membentuk organ yang dipacu oleh keseimbangan antara ZPT endogen maupun eksogen dan medium (Kartha, 1991).

Penelitian menggunakan ZPT *Benzyl Amino Purine* (BAP) yang digunakan secara bersama-sama dengan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) untuk organogenesis pada tanaman stroberi. Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk organogenesis dalam kegiatan kultur *in vitro* (Wattimena, 1991).

Penelitian tentang pengaruh berbagai konsentrasi ZPT auksin dan sitokinin terhadap induksi organogenesis dengan eksplan daun stroberi belum banyak dilakukan sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui ZPT auksin dan sitokinin yang paling tepat digunakan untuk induksi organogenesis dengan menggunakan eksplan daun stroberi. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi konsentrasi ZPT yang tepat untuk organogenesis eksplan stroberi.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah daun stroberi, media MS, agar-agar, gula, arang aktif, zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan bahan sterilis berupa Sunlight, Dithane M-45, Benlate, clorox dan alkohol.

Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah *laminar air flow cabinet* (LAFC), autoklaf, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, panci, gelas ukur, botol kultur, pisau, pipet, plastik, sendok, pinset, spatula, cawan petri, lampu bunsen, tissue, karet gelang, dan korek api.

2.2 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan media MS sebagai media dasar, disusun sebagai rancangan acak kelompok (RAK) diulang sebanyak 5 kali dengan perlakuan sbb :

M0 = tanpa ZPT

M1 = 0,1 ppm NAA + 0 ppm BAP

M2 = 0,1 ppm NAA + 5 ppm BAP

M3 = 0,1 ppm NAA + 10 ppm BAP

M4 = 0,1 ppm NAA + 15 ppm BAP

2.3 Pelaksanaan Percobaan

2.3.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen dan dibilas sampai bersih kemudian disterilkan dalam autoklaf bertekanan 17,5 psi dengan suhu 121°C selama 60 menit.

2.3.2 Pembuatan Media

Membuat media dilakukan dengan mencampurkan 4,43 gram MS, 20 g gula, 2 gL⁻¹ arang aktif dan 7 g agar-agar dengan tambahan 1000 ml air steril. Masing-masing media ditambahkan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP sesuai perlakuan. Media dipanaskan pada *stirrer* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga suhu 80°C dengan kisaran pH 5,6-5,8. Media cair dituangkan ke dalam botol kultur kurang lebih 25 ml. Media dalam botol ditutup dengan plastik dan diikat menggunakan karet. Sterilisasi media dalam botol menggunakan autoklaf selama 30 menit pada tekanan 17,5 psi dengan suhu 121°.

2.3.3 Sterilisasi Eksplan

Daun stroberi dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir, direndam dalam larutan clorox 5% dan 7% selama 5-10 menit, eksplan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali.

2.3.4 Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet

Alkohol 70% disemprotkan pada tisu kering kemudian mengusapkan pada meja kerja LAFC. Sterilisasi LAFC dilakukan dengan sinar UV selama 30 menit.

2.3.5 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan pada LAFC dengan cara membuka tutup plastik pada botol kultur yang didekatkan pada lampu bunsen. Bahan tanam yang sudah di sterilisasi dengan aquades, alkohol dan clorox dipotong pada cawan petri dan dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 3 buah eksplan. Penyimpanan media yang

sudah selesai dikultur diletakan pada rak penyimpanan dengan suhu 20–22° C dengan kelembaban 60-70%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

Pengaruh pemberian ZPT NAA dan BAP terhadap semua variabel yang diamati disajikan pada Tabel 1. Semua perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap variabel yang diamati dalam penelitian.

Tabel 1. Signifikansi pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap variabel yang diamati

No	Variabel	Perlakuan
1	Saat eksplan melengkung (HST)	ns
2	Persentase jumlah eksplan melengkung (%)	ns
3	Saat eksplan membengkak (HST)	ns
4	Persentase jumlah eksplan membengkak (%)	ns

Keterangan : ns = berpengaruh tidak nyata ($p \geq 0,05$)

* = berpengaruh nyata ($p \leq 0,05$)

Saat eksplan melengkung diamati sehari setelah tanam sampai terjadi pelengkungan. Perlakuan yang menghasilkan pelengkungan tercepat ditunjukkan oleh media perlakuan M4 (3.00 HST). Namun persentase eksplan melengkung tertinggi diperoleh pada media perlakuan M1, M2 dan M4 sebesar 90,00%, sedangkan persentase terendah terdapat pada perlakuan M0 dan M3 sebesar 82,95% (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan ZPT NAA dan BAP terhadap saat eksplan melengkung (HST), persentase ekplan melengkung (%), saat eksplan membengkak (HST) dan persentase eksplan membengkak (%)

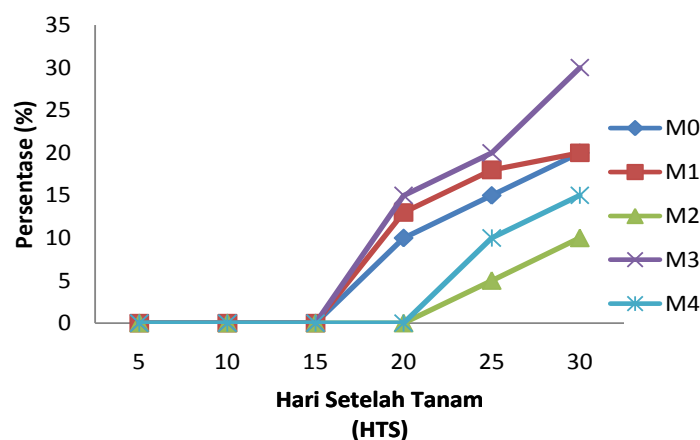
Perlakuan	Variabel			
	Saat ekplan melengkung (HST)	Persentase eksplan melengkung (%)	Saat eksplan membengkak (HST)	Persentase eksplan membengkak (%)
M0	3.20 a	82.95 a	8.20 a	75.90 a
M1	3.40 a	90.00 a	8.60 a	82.95 a
M2	3.40 a	90.00 a	8.60 a	75.90 a
M3	3.20 a	82.95a	8.00 a	79.05 a
M4	3.00 a	90.00a	7.60 a	82.95 a

BNT 5%

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata pada uji BNT taraf 5%

Saat eksplan membengkak diamati 3 hari setelah tanam sampai terjadi pembengkakan. Terlihat pada Tabel 2 pembengkakan tercepat ditunjukkan oleh media perlakuan M4 (7.60 HST). Namun persentase eksplan membengkak tertinggi terdapat pada media perlakuan M1 dan M4 sebesar 82,95%, sedangkan persentase terendah terdapat pada perlakuan M3 sebesar 79,05%.

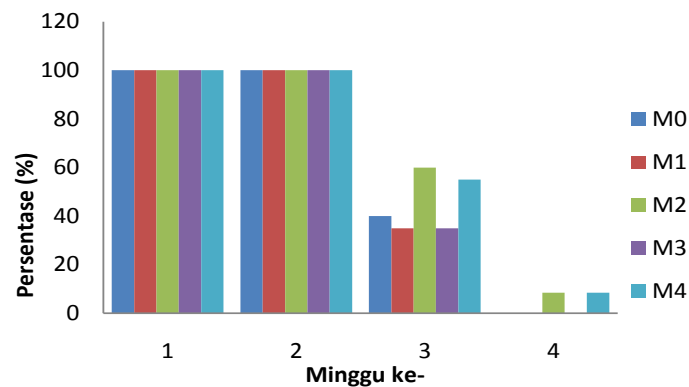
Kegagalan dalam kultur jaringan biasanya disebabkan oleh gangguan *browning* dan kontaminasi, sehingga menyebabkan pertumbuhan eksplan menjadi terhenti. Data hasil persentase *browning* pada semua perlakuan disajikan pada Gambar 1. Gejala *browning* muncul pada hari ke-15 dan mengalami peningkatan setelah itu. Perlakuan yang mengalami *browning* terbanyak pada media M3 (0,1 ppm NAA + 10 ppm BAP).



Gambar 1. Persentase *browning* pada semua perlakuan

Keterangan : Grafik hubungan persentase *browning* dengan hari setelah tanam pada eksplan daun stroberi

Persentase eksplan hidup selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 2. Eksplan pada minggu pertama dan kedua pada setiap perlakuan hidup 100%. Eksplan hidup pada minggu ke tiga mengalami penurunan hingga 45%, sedangkan pada minggu ke empat eksplan yang hidup jumlahnya semakin menurun hingga menjadi 17% pada perlakuan M2 dan M4, sedangkan eksplan mati sebanyak 83% pada perlakuan M0, M1 dan M3.



Gambar 2. Persentase hidup eksplan daun stroberi pada semua perlakuan

3.2 Pembahasan

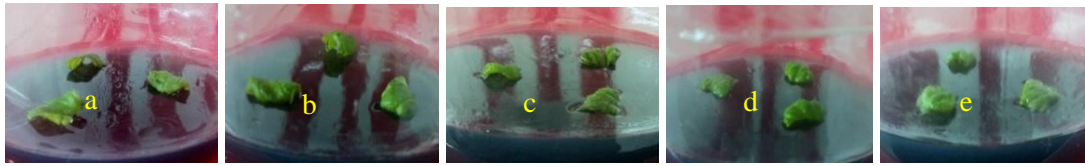
Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh tanaman yang seringkali digunakan untuk menginduksi akar, tunas dan kalus pada kultur *in vitro* (Zulkarnaen, 2007). Konsentrasi yang tepat antara auksin dan sitokinin mampu merangsang organogenesis menuju pembentukan tunas pada eksplan.

Proses organogenesis diawali dengan proses pelengkungan, pembengkakan, nodul ataupun langsung membentuk tunas. Dhaliwal *et al.*, (2003) menyatakan bahwa proses organogenesis eksplan secara *in vitro* terjadi dengan dua cara yang berbeda yaitu secara langsung dan tidak langsung. Eksplan menunjukkan respon organogenesis secara tidak langsung apabila eksplan tumbuh melalui kalus atau nodul, kemudian akan berdiferensiasi menjadi tunas dan akar. Eksplan menunjukkan respon secara organogenesis langsung apabila eksplan tumbuh langsung membentuk bakal tunas dan akar, tanpa melalui pembentukan kalus atau nodul.

Hasil penelitian menunjukkan saat pelengkungan eksplan terdapat pada semua perlakuan namun dengan hari yang berbeda (Gambar 3). Perbedaan waktu dalam proses pelengkungan disebabkan oleh jumlah konsentrasi ZPT yang diberikan pada masing-masing perlakuan. Audus (1963) dalam Hidayat (2009) menyatakan pengaruh pemberian suatu konsentrasi ZPT berbeda-beda untuk setiap tanaman, jenis tanaman bahkan berbeda pula antar varietas dalam suatu spesies.

Eksplan daun stroberi melengkung disebabkan adanya pengaruh ZPT dan tekanan turgor. Tekanan turgor menyebabkan dinding sel mengendur dan merenggang. Pengenduran dinding sel ini terjadi karena adanya sekresi asam dengan mengaktifkan suatu enzim pada pH tertentu. Merenggangnya sel akan menyebabkan pemanjangan sel. Tekanan turgor terjadi apabila sel menyerap molekul air sebagai respon akan meningkatnya konsentrasi zat terlarut yang terdapat dalam vakuola,

sehingga akan menyokong perluasan sel yang terjadi (Taiz dan Zieger 1998).

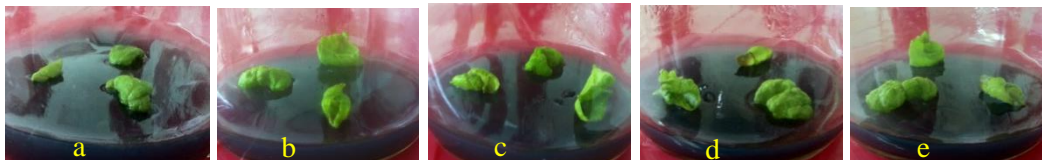


a = M0; b = M1; c = M2; d = M3; e = M4

Gambar 3. Pelengkungan eksplan daun stroberi pada berbagai media perlakuan

Tahap setelah pelengkungan berlanjut pada pembengkakan eksplan. Hasil penelitian menunjukkan saat pembengkakan terjadi 7-8 HST (Gambar 4). Pembengkakan sel dipengaruhi oleh penyerapan air yang mengakibatkan dinding sel mengendur dan membesar, sehingga ukuran eksplan membesar. Hal ini juga didukung dengan pernyataan Lakitan (1995) yang menyatakan bahwa agar sel terus tumbuh membesar, maka penyerapan air harus berlangsung terus menerus. Pengenduran dinding sel sangat dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh/hormon baik auksin maupun sitokinin dengan fungsinya masing-masing. Setiap sel mempunyai kepekaan tersendiri terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan, selain itu waktu yang dibutuhkan setiap sel untuk melakukan pembelahan tidak sama, karena sel yang berbeda mungkin saja memiliki siklus sel yang berbeda.

Pembengkakan yang terjadi pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan awal akibat penyerapan air dan nutrisi dari media yang selanjutnya disertai dengan tahap perbanyakan sel. Proses ini sesuai dengan pernyataan Salisbury dan Ross (1995), bahwa sel tumbuhan memiliki kemampuan untuk menyerap air dan unsur hara sehingga menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran dan jumlah sel yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya pembengkakan jaringan.



a = M0; b = M1; c = M2; d = M3; e = M4

Gambar 4. Pembengkakan eksplan daun stroberi pada berbagai media perlakuan

Eksplan yang membengkak akan muncul bakal tunas. Pada penelitian ini hanya terbentuk bakal tunas di media perlakuan M2 (MS + 0,1 ppm NAA + 5 ppm BAP) pada 23 HST dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5. Penggunaan media dengan komposisi ZPT NAA dan BAP pada perlakuan M2 diduga bahwa pada konsentrasi tersebut telah terjadi perimbangan antara auksin dan sitokinin di luar maupun di dalam eksplan, sehingga terjadi pembelahan sel yang menstimulasi pembentukan bakal tunas eksplan daun stroberi. Menurut George dan Sherrington (1984) pembelahan sel dipengaruhi oleh nisbah auksin dan sitokinin yang ditambahkan kedalam media perlakuan. Selain itu, penggunaan media dengan konsentrasi tersebut menyebabkan terjadi interaksi antara NAA dan BAP sebagai hormon eksogen yang

digunakan dengan fitohormon (hormon endogen) yang terdapat dalam eksplan sehingga diperoleh suatu jumlah yang sesuai untuk organogenesis eksplan daun stroberi dalam memacu pembentukan bakal tunas. Selanjutnya menurut Gunawan (1988), interaksi dan perimbangan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media dan yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen menentukan kecepatan dan arah perkembangan suatu kultur.

Tabel 3. Eksplan yang tumbuh menjadi bakal tunas

Perlakuan	Ulangan				
	I	II	III	IV	V
M0	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-
M2	-	-	*	-	*
M3	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-

Keterangan : * = eksplan yang tumbuh bakal tunas
- = eksplan yang tidak tumbuh bakal tunas



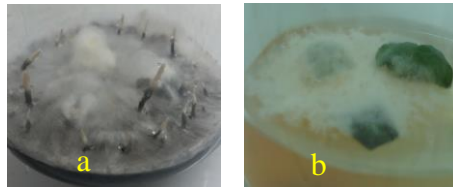
Gambar 5. Bakal tunas eksplan daun stroberi

Keterangan : a. bakal tunas pada perlakuan M2 ulangan III ; b. bakal tunas pada perlakuan M2 ulangan V

Keberhasilan pelaksanaan kultur *in vitro* ditentukan oleh beberapa faktor antara lain komposisi ZPT, sumber eksplan dan jenis tanaman (Vasil, 1987). Adapun kegagalan dalam proses kultur *in vitro* disebabkan oleh kontaminasi dan *browning*. Pada penelitian ini terjadi kontaminasi sekitar 40% - 80% di semua media perlakuan yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur ditandai dengan munculnya gumpalan kecil atau hifa berwarna putih sampai kecokelatan terlihat jelas pada media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas putih, sedangkan kontaminasi oleh bakteri ditandai dengan adanya lendir berwarna putih susu dan lapisan seperti kerak pada permukaan media atau eksplan (Nisa dan Rodinah, 2005). Kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme endofitik (mikroorganisme hidup di dalam sel) yang sering merupakan mikroorganisme dari tanaman sumber eksplan sulih diatasi dengan sterilisasi permukaan (Yusnita, 2003).

Mikroorganisme penyebab kontaminasi tidak hanya berada pada bahan tanam tapi juga berada pada eksplan itu sendiri. Mikroorganisme yang berada di luar eksplan respon kontaminasinya sangat cepat, dalam 2 kali 24 jam sudah dapat terlihat. Namun bila bersifat internal responnya muncul lebih lama (Santoso dan

Nursadi, 2001). Mengingat eksplan daun stroberi yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari lapang yang banyak mengandung mikroorganisme. Pada kenyataannya sangat sulit sekali untuk menghasilkan eksplan yang benar-benar steril dan bebas dari mikroorganisme. Berikut merupakan gambar eksplan yang kontaminasi.



Gambar 6. Eksplan yang mengalami kontaminasi

Keterangan : a. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur, b. Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri

Pada kultur jaringan eksplan seringkali berubah menjadi coklat sesaat setelah isolasi yang selanjutnya dapat menghambat pertumbuhan dan akhirnya menyebabkan kematian jaringan. Pada penelitian ini *browning* terjadi pada semua media perlakuan sekitar 15% - 30%. *Browning* merupakan gangguan dalam kegiatan kultur jaringan yang berarti telah muncul tanda-tanda kemunduran fisiologis eksplan dan tidak jarang berakhir dengan kematian eksplan, terjadinya *browning* disebabkan oleh adanya senyawa fenol yang bersifat toksik, menghambat pertumbuhan dasar kematian jaringan eksplan (Santoso dan Nursadi, 2001).

Senyawa fenol dalam penelitian ini merupakan bentuk respon eksplan terhadap luka. Luka bekas pengirisan akan memacu eksplan untuk melakukan usaha untuk pertahanan diri. Usaha tersebut dilakukan dengan meningkatkan aktifitas metabolik sehingga dihasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu fenol. Senyawa fenol yang terbentuk mengalami oksidasi maka dapat menyebabkan warna coklat pada eksplan (Pierik, 1987).

Tabiyeh *et al.* (2006) mengemukakan bahwa *browning* dalam kultur jaringan disebabkan karena meningkatnya produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi oleh aktivitas enzim oksidase (PPO) dan polimerasinya. Fenilalanin amonia liase (PAL) adalah salah satu enzim dalam fenilpropanoid yang sangat berpengaruh terhadap terjadinya *browning*. Salah satu penyebab utama *browning* dalam kultur *in vitro* adalah luka karena pemotongan pada jaringan. Luka tersebut memacu stres dan menyebabkan peningkatan aktivitas PAL yang diikuti oleh produksi fenilpropanoid dan menyebabkan *browning*.

Senyawa fenol yang muncul pada eksplan akan bersifat toksik bagi sel apabila dalam konsentrasi berlebihan, yang akan menghambat pertumbuhannya. Produksi senyawa fenol yang terbatas pada eksplan masih dapat ditoleransi oleh eksplan, sehingga kultur masih dapat tumbuh. Namun apabila senyawa fenol sudah menyebabkan *browning* pada media tanam, hal ini dapat menghambat pertumbuhan eksplan yang mengakibatkan kematian kultur (Hayati *et al.* 2010).



Gambar 7. Eksplan yang mengalami *browning*

Pada penelitian ini sudah diupayakan untuk menghindari tingkat *browning* mulai dari membilas eksplan pada air mengalir, melakukan sub-kultur, pemakaian arang aktif, penggunaan *polyvinylpirolidone* (PVP) dan meminimalisir kontak dengan oksigen. Dalam penelitian ini ditambahkan arang aktif 2gL^{-1} pada media karena menurut Chang (2001) arang aktif yang dikombinasikan dengan *silver nitrate* lebih efektif dibandingkan PVP dan asam askorbat pada *Taxus mairei*. Selanjutnya diungkapkan oleh Abdelward (2008) bahwa arang aktif dan asam askorbat lebih efektif dibandingkan *cysteine* dan *silver nitrate* dalam mencegah pencokelatan pada tanaman *Vicia faba*.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

1. Pada hasil uji statistik pengaruh pemberian ZPT NAA dan BAP tidak berbeda nyata terhadap semua variabel yang diamati.
2. Perlakuan 0,1 ppm NAA + 15 ppm BAP (M4) menunjukkan saat pelengkungan tercepat (3,0 HST), persentase melengkung tertinggi (90%), saat pembengkakan tercepat (7,6 HST) dan persentase membengkak tertinggi (82,95%).
3. Media perlakuan yang berhasil menumbuhkan bakal tunas hanya pada media perlakuan 0,1 ppm NAA + 5 ppm BAP (M2).

4.2 Saran

Perlu dikaji lebih lanjut tentang metode sterilasi untuk meminimalisir terjadinya *browning* dan kontaminasi pada eksplan daun stroberi dan semua alat yang digunakan dalam pelaksanaan kultur jaringan.

Daftar Pustaka

- Abdelmageed AHA, Faridah QZ, Shuhada NK, Julia AA (2012) Callus induction and plant regeneration of *Michelia champaca* L. (*Magnoliaceae*): A multipurpose tree. *Journal of Medicinal Plants Research* 6: 3336-3344
- Bhojwani, S.S., Razdan, M.K. 1983. *Plant Tissue Culture. Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. 502p.
- Biswas, R. Karim, M.B. Ahmed, U.K. Roy, R.Karim, M.A. Rozvy, M. Hossain, R. Islam and A. Haque. 2007. Multiple Shoot Regeneration of Strawberry Under Various Colour Illumination. *Am. J. Sci. Res.* 2: 133 – 135.

- Chang S.H., 2001. *Micropropagation of Taxus mairei from mature trees*. Plant Cell Rep.
- Dhaliwal, H. S., E. C. Yeung, and T. A. Thorpe. 2003. "TIBA Inhibition of in vitro Organogenesis in excised Tobacco Leaf Explant". In *Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 40:235-238
- Dijkstra J, 1993. Development of Alternative Methods for Healthy Propagation of Strawberry using cuttings. *Acta Horticulture* 348: 234 - 236
- Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari "percetakan & penerbit". Denpasar.
- George, E.F. and P.D. Sherrington 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Hand Book and Directory of Commercial Laboratories. Eastern Press, Reading, Berks. England. p. 9-449.
- Gunawan. L. W. 1988. *Teknik kultur tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Antar Universitas, Bioteknologi, IPB Bogor.
- Hayati S. K, Nurchayati Y, Setiari N (2010) Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*medicago sativa* l.) secara *in vitro* dengan Penambahan *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan α -*Naphtalene Acetic Acid* (NAA). *Bioma* 12: 6-12
- Hidayat, T. 2009. *Pengantar Bioteknologi*. UPI. Bandung.
- Karhu, S and K. Hakala, 2002. Mikropropagated Strawberry on the Field. *ISHS Acta Horticultural* 2 : 128 Moradi,K., M. Otrosy and M.R. Azimi. 2011. *Journal of Agricultural Technology*. Vol. 7(6) : 1755 - 1763
- Kartha. 1991. Organogenesis dan embryogenesis, hal 14-21. dalam L.R Wetter dan F. (Online). [http://herumu512.wordpress.com/2013/02/09/organo genesis/](http://herumu512.wordpress.com/2013/02/09/organo%20genesis/). diakses pada tanggal 25 November 2013.
- Lakitan, B., 1995. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Nehra, M.S., K.K. Kartha, Stushnoff and K.L. Giles. 1994. Effect of in - vitro Propagation Methods on field perhormone of Strawberry Cultivars. *Euphytiea* 76 : 107 – 115
- Nisa, C dan Rodinah. 2005. Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin. *Bioscientiae*. Vol. 2 No. 2: 23-36.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro Culture of Higher Plant*. Kluwer Academic Publisher. London.
- Salisbury, F.B. dan Ross, C.W. (1995). *Fisiologi Tumbuhan* (Jilid 1, 2 dan 3 Edisi keempat). Diterjemahkan oleh : Dian R.Lukman dan Sumaryono, Bandung : ITB.
- Santoso, U. & F. Nursandi. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*, Malang.
- Tabiyeh, D.T., F. Bernard, and H. Shacker. 2006. Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in *Pistacia vera* shoot tips culture. *ISHS Acta Hort*. 726: 201-204
- Taiz L, Zeiger E (1998) *Plant physiology*. 2nd Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland.
- Vasil, I. K., 1987. Developing Cell and Tissue Culture Systems for The Improvement of Cereal and Grass Crops. *J. Plant Physiol*.
- Wattimena, G. A. dan Tim Babolatorium Kultur Jaringan Tanaman. 1991. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor. 455 hal.

- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zulkarnain. 2007. Regenerasi Tanaman Nenas (*Ananas comosus* (L.). Merr.) dari Tunas Aksilar Mahkota Buah. J. Agroland. (14) 1:1-5.