

Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Daun Stroberi (*Fragaria sp.*) dengan Media Alternatif Nutrisi Hidroponik AB Mix

AJENG IDVATUL FITROH
RINDANG DWIYANI*)
I KETUT ARSA WIJAYA
HESTIN YUSWANTI

PS Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman, Denpasar, 80231, Bali
*)Email: rindangdwiyani@yahoo.co.id

ABSTRACT

Influence of 2,4-D to induce callus from strawberry leaves on alternative media of AB Mix hydroponic nutrient

This research was conducted to find out the most optimum 2,4-D concentration to induce callus from strawberry leaves on alternative media of AB Mix hydroponic nutrient. This research used Completely Randomized Design with 5 levels of treatment concentration of 2,4-D hormon, first: AB Mix hydroponic nutrients (as basic media) without 2,4-D, second: basic media + 0.5 ppm 2,4 -D, third: basic media + 1 ppm 2,4-D, fourth: basic media + 1.5 ppm 2,4-D, fifth: basic media + 2 ppm 2,4-D. The variables observed were the day explant curled up, day explant swelled, percentage of eksplan curled up (%), percentage of explants swelled (%), the day callus appears, and percentage of explant browning (%). The best percentage of the treatment in callus induction of the strawberry leaves is on the P3 treatment with the concentration of 2,4-D as much as 1.5 ppm, with the fastest curled up explants time of 3 days after culture, the highest curled up eksplants (93.3%), the fastest swelled explants (17.0 days after culture), and the highest swelled percentage (40.0%). Callus formed 32 days after swelling. Successful callus formed only in treatment basic media with 1,5 ppm 2,4-D concentration.

Keywords: *Fragaria sp.*, AB Mix hydroponic nutrients, 2,4-D, callus

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Stroberi (*Fragaria sp.*) merupakan salah satu buah yang mempunyai nilai ekonomis tinggi (Husaini *et al.*, 2011). Banyak produk olahan makanan yang memanfaatkan buah stroberi sebagai bahan baku, sehingga permintaan di pasar akan buah stroberi terus

mengalami peningkatan (Debnath *et al.*, 2007). Berdasarkan wawancara pribadi dengan salah satu petani di Pancasari Permasalahan paling krusial dalam penanaman stroberi adalah pengadaan bibit sehat dan murah.

Perbanyakan yang dilakukan secara konvensional (dengan stolon) mempunyai beberapa kelemahan yaitu memerlukan bahan tanam yang banyak dengan hasil yang sedikit dan tergantung dengan cuaca (Dewi *et al.*, 2016). Perbanyakan bibit yang dilakukan melalui stolon cenderung tidak bebas penyakit, terutama bakteri dan jamur yang ditularkan dari tanaman induk yang mengakibatkan turunnya produksi (Zebrowska 2004). Sementara perbanyakan dengan biji memerlukan waktu yang lama untuk berkembang. Stroberi merupakan tanaman yang sangat sensitif terhadap serangan patogen di lapang, alternatif yang dapat digunakan untuk mendapatkan bibit stroberi secara massal dengan bahan tanam yang minim, tidak mengenal musim, serta bebas penyakit adalah melakukan perbanyakan secara *in vitro* dengan teknik kultur jaringan (Budiono *et al.*, 2016).

Faktor keberhasilan dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh adanya Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam media. Lestari *et al.*, (2013) menyatakan ZPT dalam teknik kultur sangat nyata pengaruhnya, teknik kultur pada upaya perbanyakan tanaman sulit diterapkan jika tidak melibatkan ZPT. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), merupakan golongan auksin sintesis yang mempunyai sifat stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi (Kartikasari *et al.*, 2013). Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus (Mardini, 2015).

Penggunaan 2,4-D untuk menginduksi kalus daun stroberi sudah pernah dilakukan oleh (Dwipayana *et al.*, 2016) dengan penggunaan MS sebagai media dasar. Penelitian ini juga menggunakan 2,4-D akan tetapi media dasar yang digunakan adalah nutrisi hidroponik AB Mix sebagai pengganti media MS. Sebagaimana media MS, media dasar nutrisi hidroponik AB Mix juga mengandung unsur hara makro dan mikro.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapakah konsentrasi 2,4-D yang paling optimal untuk menginduksi kalus daun stroberi pada media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang paling optimal untuk menginduksi kalus daun stroberi pada media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam penyediaan media dasar alternatif, dan bibit hasil kultur *in vitro* stroberi tetap berkualitas.

1.5 Hipotesis

Pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 1 ppm dapat memacu pertumbuhan kalus daun stroberi pada media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix dengan optimal.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Jalan Pulau Moyo, Denpasar. Dilaksanakan mulai Bulan Juli 2017 – Februari 2018. Bahan tanam yang digunakan adalah daun muda tanaman stroberi, yang disterilisasi terlebih dahulu dengan perlakuan perendaman fungisida 2 gr/L (Dithane) selama 30 menit, dan dicuci sampai bersih. Selanjutnya eksplan dibawa kedalam LAFC, didalam LAFC eksplan disterilisasi lagi dengan merendam eksplan didalam clorox 10% selama 1 menit, dan dibilas dengan aquades sampai bersih, kemudian eksplan dicelupkan kedalam alkohol 70% lalu dibilas dengan aquades. Kemudian eksplan dipotong menggunakan cork borer, eksplan siap ditanam.

Media dasar (MD) yang digunakan adalah media AB Mix 5 ml/L. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 5 taraf perlakuan konsentrasi, yaitu P0 = MD, P1 = MD + 0,5 ppm 2,4-D, P2 = MD + 1 ppm 2,4-D, P3 = MD + 1,5 ppm 2,4-D, P4 = MD + 2 ppm 2,4-D. Percobaan di ulang 5x, sehingga diperlukan 1 x 5 x 5 = 25 unit percobaan. Setiap unit percobaan ditanam 3 eksplan.

Pengamatan dilakukan setiap hari, variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah saat eksplan melengkung, persentase eksplan melengkung, saat eksplan membengkak, persentase eksplan membengkak, saat muncul kalus, dan persentase pencoklatan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

Berdasarkan hasil pengamatan waktu pelengkungan tercepat adalah 3 HST, terdapat pada perlakuan (P3) konsentrasi 1,5ppm 2,4-D, sedangkan waktu pelengkungan paling lama adalah (P0) yaitu 6,6 HST tanpa pemberian hormon 2,4-D.

Persentase eksplan melengkung dihitung dari jumlah eksplan yang mengalami pelengkungan. Persentase eksplan melengkung tertinggi secara berturut terdapat pada perlakuan P3 (93,3%), P4 (86,6%), dan P2 (80,0%), sedangkan perlakuan P0 (60,0%) dan P1 (73,3%).

Tabel 1. Pengaruh ZPT 2,4-D terhadap pelengkungan eksplan pada media dasar AB Mix

Perlakuan 2,4-D	Saat Eksplan Melengkung (HST)	Persentase Eksplan Melengkung (%)
P0	6,6	60,0
P1(0,5ppm)	3,4	73,3
P2 (1 ppm)	3,4	80,0
P3(1,5ppm)	3,0	93,3
P4 (2 ppm)	3,8	86,6

Saat eksplan membengkok diamati setiap hari setelah tanam sampai pada hari beberapa mulai terjadi pembengkokan. Eksplan yang mengalami pembengkokan tercepat secara berturut adalah P3 dan P4 yakni (17,0 HST), P1 dan P2 (20 HST). Pembengkokan paling lama terdapat pada perlakuan P0 (20,5 HST) (Tabel 2). Kecenderungan persentase eksplan yang membengkok tertinggi pada perlakuan P3 dan P4 (40,0%), dan perlakuan P0, P1, P2 (20,0%) menunjukkan persentase eksplan yang membengkok terendah (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh ZPT 2,4-D terhadap pembengkokan dan pencoklatan eksplan pada media dasar AB Mix

Perlakuan 2,4-D	Saat Eksplan Membengkok (HST)	Persentase Eksplan Membengkok (%)	Persentase Pencoklatan (%)
P0	20,5	20,0	60,0
P1(0,5ppm)	20,0	20,0	60,0
P2 (1 ppm)	20,0	20,0	53,3
P3(1,5ppm)	17,0	40,0	60,0
P4 (2 ppm)	17,0	40,0	66,6

Persentase pencoklatan tertinggi terdapat pada perlakuan P4 (66,6%), sedangkan pada perlakuan P2 (53,3%) menunjukkan kecenderungan persentase pencoklatan terendah (Tabel 2).

Pengamatan saat muncul kalus dilakukan setiap hari setelah terjadi pembengkokan. Dari banyak eksplan yang ditumbuhkan hanya ada satu eksplan yang tumbuh kalus (Tabel 3), sehingga saat muncul kalus tidak dapat di uji statistik.

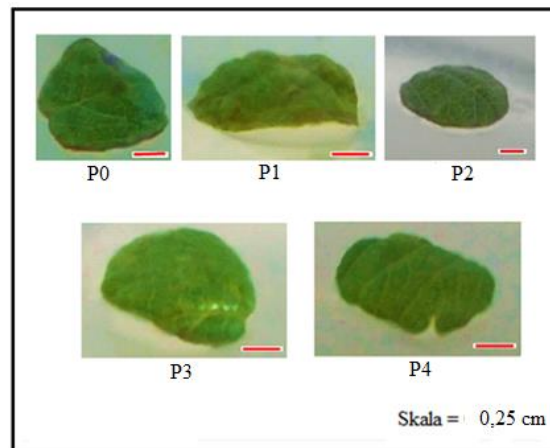
Tabel 3. Saat munculnya kalus pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Saat Munculnya Kalus (HST)
P0	Belum Tumbuh
P1	Belum Tumbuh
P2	Belum Tumbuh
P3	49
P4	Belum Tumbuh

3.2 Pembahasan

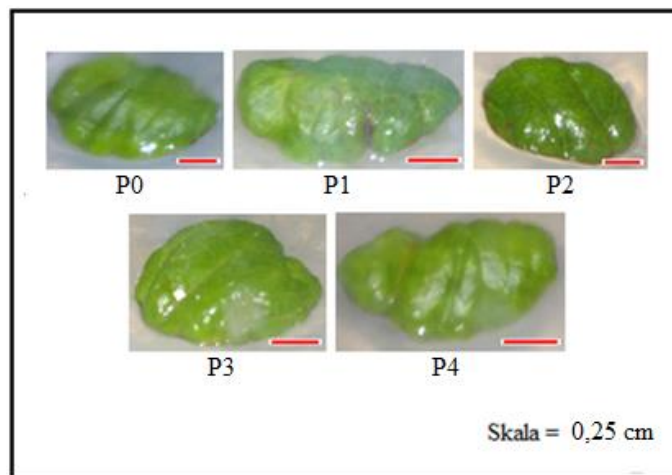
Media adalah faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur *in vitro* dan berpengaruh sangat besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya (Tuhuteru *et al.*, 2012). Berdasarkan data hasil pengamatan (Tabel 1) dan (Tabel 2) penambahan hormon 2,4-D dengan beberapa konsentrasi mampu menginduksi kalus daun stroberi pada media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix.

Konsentrasi 2,4-D sangat berpengaruh terhadap variabel persentase pelengkungan eksplan. Perlakuan P3 (93,3%) memberikan nilai persentase pelengkungan tertinggi dengan waktu pelengkungan tercepat (3,0 HST) (Gambar 1). Persentase pelengkungan terendah terdapat pada perlakuan P0 (60,0%) disertai dengan waktu pelengkungan yang paling lama (6,6 HST) (Tabel 3.1.1). Perbedaan ini terjadi karena adanya perbedaan pemberian konsentrasi 2,4-D yang diberikan. Respon pemberian suatu konsentrasi ZPT (dalam hal ini 2,4-D) berbeda-beda untuk setiap tanaman, jenis tanaman bahkan berbeda pula antar varietas dalam suatu spesies (Darmawati, 2013). 2,4-D mempengaruhi permeabilitas sel sehingga air masuk secara osmosis ke dalam sel dan menyebabkan kekakuan pada bagian daun yang mengalami pelukaan (Yuyun, 2010).



Gambar 1. Pelengkungan pada eksplan

Pembengkakan tercepat terdapat pada perlakuan P3 dan P4 (17,0 HST) dengan persentase pembengkakan tertinggi (40,0%), sedangkan P0 mempunyai waktu pembengkakan yang paling lama jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu (20,5 HST) (Gambar 2). Hasil ini sesuai dengan ungkapan Yelnitis dan Komar (2010) semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, induksi kalus terjadi semakin cepat, walaupun demikian tidak semua eksplan yang dikulturkan dapat membentuk kalus dan untuk persentase pembengkakan P0, P1, P2 mempunyai hasil yang sama yakni (20,0%). Pembengkakan terjadi karena adanya pengaruh 2,4-D di dalam media tanam sehingga mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Pembengkakan eksplan ditandai dengan perubahan pada bekas pelukaan yang membuat jaringan bagian pinggir dari eksplan menebal. Adanya luka irisan membuat 2,4-D lebih muda berdifusi ke dalam jaringan tanaman, sehingga 2,4-D yang diberikan akan membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel, terutama sel-sel di sekitar area luka (Ariati *et al.*, 2012).



Gambar 2. Pembengkakan pada eksplan

Pembengkakan dan pertambahan panjang eksplan menunjukkan adanya aktifitas pembelahan sel pada jaringan eksplan, dimana pembengkakan eksplan merupakan tahapan dalam proses pembentukan pembentuk kalus (Ajijah *et al.*, 2010).

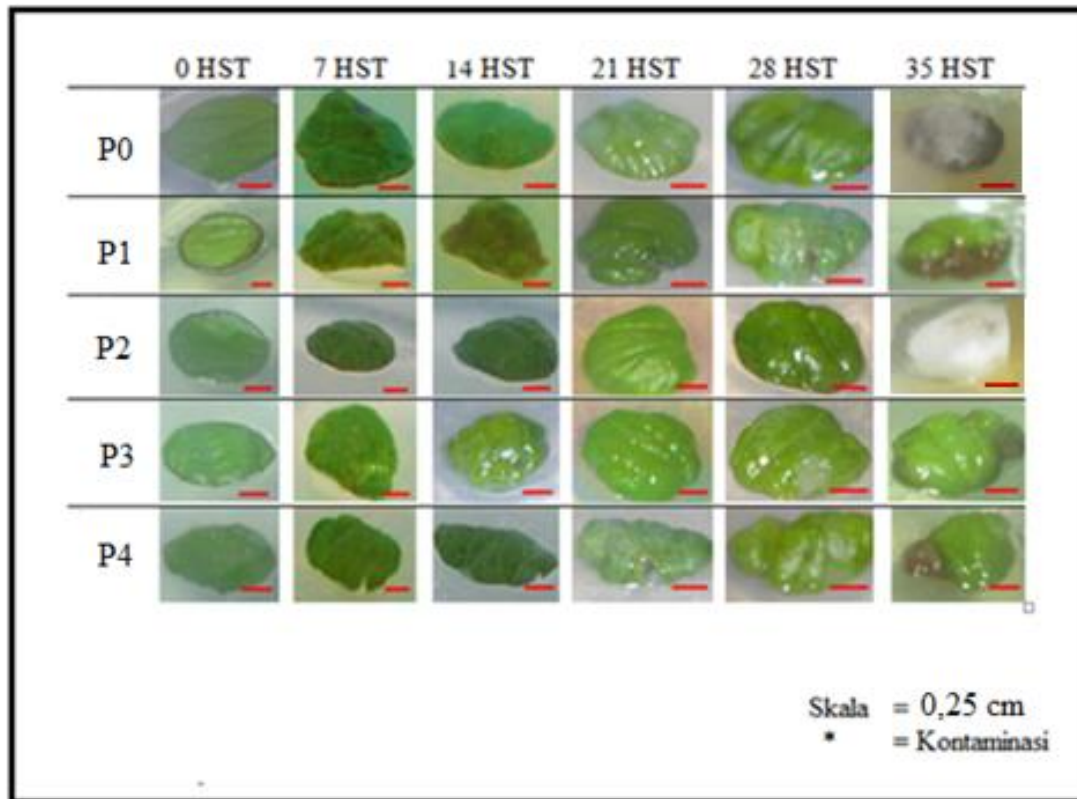
Kalus adalah sekumpulan sel *amorphous* (belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* (Dewi *et al.*, 2016). Massa sel (kalus) tersebut selanjutnya akan beregenerasi melalui organogenesis ataupun embriogenesis hingga menjadi tanaman baru (Bustami, 2011). Induksi kalus pada penelitian ini bertujuan untuk regenerasi pada kultur *in vitro* yang dilakukan secara tidak

langsung (*indirect organogenesis*) dimana, eksplan perlu ditumbuhkan menjadi kalus untuk menjadi organ yang pada akhirnya akan membentuk tanaman baru (Dwiyani, 2015). Kalus merupakan sumber bahan tanam yang penting untuk meregenerasi tanaman baru (Purba, 2017). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan kalus terbentuk 7 hari setelah pembengkakan (Gambar 3). Perlakuan yang berhasil membentuk kalus hanya P3 dengan konsentrasi 2,4-D sebesar 1,5 ppm. Munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih bening seperti titik-titik air/lendir pada bekas irisan eksplan dan sayatan di permukaan eksplan yang kemudian berkembang menjadi bulatan-bulatan kecil (Waryastuti *et al.*, 2017).



Gambar 3. Kalus dari daun stroberi pada perlakuan P3

Penggunaan media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix dengan konsentrasi 5 ml/L dengan penambahan 2,4-D mampu menginduksi kalus eksplan daun stroberi, hal ini terlihat dari terjadinya perubahan eksplan daun stroberi mulai dari melengkung hingga terjadi pembengkakan (Gambar 4). Pendapat ini sejalan dengan hasil penelitian Susila (2006), menyatakan bahwa pemberian nutrisi hidroponik AB Mix dalam jumlah yang sesuai dengan kebutuhan tanaman mendukung terjadinya pertumbuhan tanaman secara optimal yang menyebabkan proses pembelahan, pembesaran dan pemanjangan sel yang mengakibatkan beberapa organ tanaman tumbuh dengan cepat.



Gambar 4. Perkembangan eksplan 0 HST - 35 HST

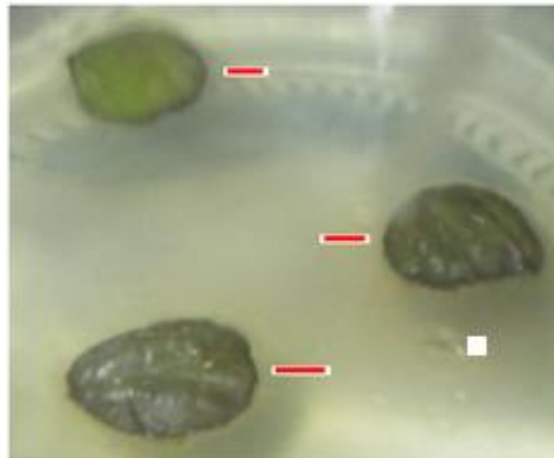
Sastro dan Rokhman (2016) menyebutkan nutrisi hidroponik secara umum mengandung garam anorganik dan sebagian besar formulanya menggunakan berbagai kombinasi bahan yang biasa digunakan sebagai sumber hara makro dan mikro. Nutrisi hidroponik AB Mix mengandung unsur hara makro dan mikro (N, Ca, K, Mg, S, P, Fe, Mn, Cu, Bo, Zn, Mo) yang hampir mirip dengan media MS.

Data hasil pengamatan saat eksplan melengkung, persentase eksplan melengkung, saat eksplan membengkak, persentase eksplan membengkak, dan saat muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan P₃ (media dasar nutrisi hidroponik (AB Mix + 1,5 ppm 2,4-D) mempunyai tingkat keberhasilan yang paling tinggi (Tabel 1) dan (Tabel 2), dimana konsentrasi 2,4-D yang diberikan lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Dwipayana, (2016). Waktu pembengkakan pada penelitian ini juga cenderung lebih lama daripada hasil penelitian (Bustami, 2011; Purba, 2017), pada penelitian ini eksplan mulai mengalami pembengkakan rata-rata (18 HST), hal ini terjadi karena pada media dasar nutrisi hidroponik AB Mix tidak terdapat sumber vitamin, myo-inositol, dan asam amino yang diberikan.

Pendapat ini didukung dengan oleh (Budisantoso, 2015) yang menyebutkan vitamin yang ditambahkan pada media kultur berfungsi untuk mempercepat pertumbuhan dan diferensiasi kalus, vitamin juga berfungsi protektif, seperti halnya zat

pengatur tumbuh, vitamin menstimulasi inisiasi, pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman. Myo-inositol merupakan heksitol (gula alkohol berkarbon enam) yang sering digunakan sebagai salah satu komponen media yang penting, karena terbukti merangsang pertumbuhan jaringan yang dikulturkan (Fitrianti, 2006). Asam amino merupakan sumber N organik, penyusun protein dan asam nukleat, lebih cepat diambil oleh sel dan jaringan tanaman dari pada N anorganik didalam medium kultur jaringan, sehingga diperlukan untuk pertumbuhan eksplan (Yusnita, 2003).

Permasalahan yang sering muncul dalam kultur *in vitro* adalah adanya kontaminasi oleh bakteri dan jamur serta pencoklatan (*browning*). (Gambar 5) menunjukkan terjadinya pencoklatan pada penelitian ini. Pencoklatan merupakan suatu kejadian munculnya warna coklat atau menghitam pada eksplan yang sering kali menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan dan mengakibatkan kematian pada jaringan (Purba, 2017).



Skala = 0,5 cm

Gambar 5. Pencoklatan pada eksplan

Persentase pencoklatan tertinggi terdapat pada perlakuan P4 (66,6%) dan terendah pada perlakuan P2 (53,3%). Pada kultur jaringan eksplan seringkali berubah menjadi coklat (*browning*) atau hitam (*blackening*) sesaat setelah ditanam sehingga menghambat pertumbuhan dan akhirnya menyebabkan kematian jaringan (Hutami, 2008). Pencoklatan terjadi karena adanya senyawa fenol pada jaringan tanaman, senyawa fenol merupakan metabolit sekunder dan tersimpan dalam vakuola sel tanaman, ketika eksplan diiris, vakuola pecah sehingga senyawa fenol di dalam jaringan tanaman teroksidasi dan menyebabkan pencoklatan (Dwiyani, 2015). Terjadinya pencoklatan dalam penelitian ini disebabkan adanya pelukaan (pengirisan eksplan) sebelum eksplan ditanam. Pelukaan terjadi saat pemotongan eksplan yang kurang hati-hati, seperti penggunaan alat kultur

yang masih panas, dan jarak subkultur yang terlalu dekat dengan api bunsen (Fauzy et al., 2016). Luka tersebut memacu stres pada kalus dan menyebabkan peningkatan aktivitas produksi senyawa fenol dan menyebabkan pencoklatan.

Selain akibat pelukaan, munculnya senyawa fenol dalam penelitian ini kemungkinan juga disebabkan oleh penggunaan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang terlalu tinggi, dimana persentase pencoklatan tertinggi terdapat pada perlakuan P4 (66,6%) dengan konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang paling tinggi (2 ppm). 2,4-D tergolong auksin eksogen kuat yang dapat bersifat racun karena dapat menstimulasi produksi gas ethylene sehingga memacu timbulnya pencoklatan pada eksplan (Waryastuti *et al.*, 2017). Penambahan arang aktif dan PVP (*polyvinylpyrrolidone*) ke dalam media kultur seringkali dapat menghindari pembentukan inhibitor fenolat, selain itu pengurangan *oxydative browning* terbaik adalah dengan mengaduk eksplan selama 1 jam dalam larutan anti oksidan yang mengandung asam askorbat 100 mg/L dan asam sitrat 1500 mg/L sebelum ditanam dalam medium (Hutami, 2008).

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Perlakuan yang mempunyai persentase terbaik dalam menginduksi kalus daun stroberi pada media dasar nutrisi hidroponik AB Mix adalah pemberian konsentrasi ZPT 2,4-D sebanyak 1,5 ppm, hal ini ditunjukkan dengan saat pelengkungan, persentase pelengkungan, saat pembengkakan, persentase pembengkakan, yang jauh lebih cepat dan sedikit terjadi pencoklatan.

4.2 Saran

1. Penggunaan media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix mampu menginduksi kalus daun stroberi, akan tetapi kurang baik digunakan dalam kultur jaringan, mengingat waktu pembentukan kalus lama (49 HST).
2. Perlu adanya penambahan vitamin, myo-inositol, dan asam amino jika menggunakan media dasar alternatif nutrisi hidroponik AB Mix dalam kultur *in vitro*, sehingga waktu yang diperlukan untuk menginduksi kalus lebih singkat dan jumlah kalus yang terbentuk juga meningkat.

Daftar Pustaka

- Ajjjah, N., I. M. Tasma., Hadipoentyanti. 2010. Induksi Kalus Vanili (*Vanilla planifolia* Andrew.) dari Eksplan Daun dan Buku. Buletin RISTR Vol. 1 (5).
- Ariati, S. N., Waeniati., Muslimin., I. N. Suwastika. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP Dan Air Kelapa. Jurnal Natural Science Vol. 1.(1) 74-84.

- Bhojwani, S. S., and M. K. Razdan. 1996. *Plant tissue culture : Theory and Practice, a Revised Edition. Elsevier Science. Amsterdam. The Netherlands. 767p.*
- Budiono, R., T. Setiawati., G. G. Pitaloka., L. Anggraeni., M. Nurzaman., A. Z. Mutaqin. 2016. Mikropropagasi Stroberi (*Fragaria X ananassa* Var. *Earlibrite*) dengan Penambahan Ba (*Benzyl Adenine*) dan Iba (*Indole Butyric Acid*) pada Media Ms (Murashige And Skoog). Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016, Kerjasama Prodi Pendidikan Biologi FKIP dengan Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan (PSLK) Universitas Muhammadiyah Malang.
- Budisantoso, I. 2015. Pembuatan Medium Kultur Jaringan. Disampaikan pada Kegiatan Program Keluarga Harapan @KFI) Desa Banteran Sumbang. Fakultas Biologi Unsoed.
- Bustami, M. U. 2011. Penggunaan 2,4-D untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng IV (2) : 137 – 141.*
- Dewi, A. W. A., I. A. P. Darmawati., C. G. A. Semarajaya. 2016. Inisiasi Kalus Embriogenik Stroberi (*Fragaria sp.*) dengan Pemberian IBA (*Indolebutyricacid*) dan BAP (*Benzylaminopurine*). E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika ISSN: 2301-6515 Vol. 5, No. 3.
- Debnath, S. C., and J. A. T. Da Silva. 2007. *Strawberry Culture In Vitro: Applications in Genetic Transformation and Biotechnology. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology 1(1), 1-12 ©2007 Global Science Books.*
- Dwipayana, G. A. J., H. Yuswanti., I. A. Mayun. 2016. Induksi Kalus Stroberi (*Fragaria spp.*) Melalui Aplikasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat Secara *In Vitro*. E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika ISSN: 2301-6515 Vol. 5, No. 3.
- Dwiyani, R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Pelawasari, Denpasar. 88 hal.
- Fauzy, F., Mansyur., A. Husni. 2016. Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (Ms) dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna dan Berat Kalus Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma pada Dosis Ld50 (In Vitro). Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Dan Kinetin pada Medium Ms dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universtas Negeri Semarang.
- George, E. F., and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd, London.*
- Husaini, A. M., J. A. Mercado., J. A. T. Silva., J. G. Schaart. 2011. *Review of Factors Affecting Organogenesis, Somatic Embryogenesis and Agrobacterium tumefaciens- Mediated Transformation of Strawberry. Genes, Genomes and Genomics 5 (Special Issue 1), Global Science Books.*
- Hutami, S. 2008. Ulasan Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen 4(2):83-88.*
- Kartikasari, P., M. T. Hidayat., E. Ratnasari. 2013. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) dan Kinetin (6-Furfurylaminopurine) untuk Pertumbuhan Tunas Eksplan Pucuk Tanaman Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq. ex Roxb.) secara *In Vitro*. *LenteraBio Vol. 2 No. 1 Januari 2013:75–80*

- Lestari, E., T. Nurhidayati., S. Nurfadillah. 2013. Pengaruh Konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *In Vitro*. Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2, No.1, 2337-3520.
- Purba, R. V. 2017. Induksi Kalus Eksplan Daun Tanaman Anggur (*Vitis vinivera* L.) dengan Aplikasi 2,4-D Secara *In Vitro*. E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika ISSN: 2301-6515 Vol. 6
- Sastro, Y., N. A. Rokhman. 2016. Hidroponik Sayuran di Perkotaan. Jakarta: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Susila, A. D. 2006. *Fertigasi* Pada Budidaya Pada Tanaaman Sayuran di *Greenhouse*. Bagian Produksi Tanaman Departemen, Agronomi dan Holtikultura. Fakultas Pertanian IPB. Bogor.
- Tuhuteru, S., M. L. Hehanussa., S. H. T. Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia* 1(1): 1-12.
- Waryastuti, D. E., L. Setyobudi., T. Wardiyati. 2017. Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D Dan Bap Pada Media Ms Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Jurnal Produksi Tanaman Vol. 5 No. 1 : 140 – 149 ISSN: 2527-8452
- Yelnititis., dan E. T. Komar. 2010. Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin. Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Badan Litbang Kehutanan, Kementerian Kehutanan, Indonesia.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara *In Vitro*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Yuyun, F. 2010. Teknik Sterilisasi dan Efektifitas 2,4 D Terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun nilan in vitro. Universitas udayana. Denpasar
- Zebrowska, J. I. 2004. *Micropropagaon in the strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) inbred lines. Food, Ag. & Environ.* 2:253-255.