

Inisiasi Kalus Embriogenik Stroberi (*Fragaria sp.*) dengan Pemberian IBA (*Indolebutyric acid*) dan BAP (*Benzylaminopurine*)

AGUNG WIDYA ANTASARI DEWI
IDA AYU PUTRI DARMAWATI*)
COKORDA GEDE ALIT SEMARAJAYA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jln. PB.Sudirman, Denpasar – Bali 80362
Email : putridarmawati15@gmail.com

ABSTRACT

Initiation Of Embryogenic Callus Strawberries (*Fragaria sp.*) By Giving IBA (*Indolebutyric Acid*) and BAP (*Benzylaminopurine*)

Micropropagation or multiplication method by vegetative that could produce seedling in the high number and in a short time, had the same character as its mains, with a progress that not depends on the weather.

This research intend to find the effect of grow regulator IBA (*Indolebutyric Acid*) and BAP (*Benzyl aminopurine*) and to find the best combination on producing callus strawberry. This research done in Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) kultur jaringan Program Study Agroekoteknologi, Faculty of Agriculture, Udayana University. The materials use by the base of strawberry leaf.

Growth regulators IBA and BAP could grown a callus. Usage 0,5 ppm IBA + 0,5 ppm BAP is the most effective in deflexion. Relative fast in deflexion (2,6 days). Usage 1 ppm IBA + 1 ppm BAP is the most effective in expansion (6,3 days) but in 30 days mandating its not grown any callus.

It require toned to study the sterilisation method to minimize the contamination and browning in explants strawberry leaf and a tool that in use to do research more to get the right concentration with IBA and BAP combination to get the callus.

Key word : Initiation, Embriogenic, callus, Strawberry, IBA (*Indolebutyric Acid*), BAP (*Benzyl aminopurine*)

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Stroberi (*Fragaria x ananassa Duch*) merupakan salah satu komoditas buah-buahan yang penting didunia, terutama untuk negara-negara beriklim subtropis yaitu bumi yang berada di utara dan selatan setelah wilayah tropis yang dibatasi oleh garis balik utara dan garis balik selatan pada lintang 23,5° utara dan selatan. Stroberi dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik dalam kondisi iklim seperti di Indonesia. Varietas stroberi introduksi yang dapat ditanam di Indonesia salah satunya adalah varietas rosalinda karena memiliki aroma buah yang kuat (Rohmayanti, 2013).

Mendapatkan bibit tanaman stroberi dengan jumlah banyak yang berkualitas dan dengan waktu yang relatif singkat dibutuhkan upaya dari segi budidaya.

Perbanyak tanaman stroberi secara konvensional dengan runner atau biji, mempunyai banyak kelemahan diantaranya menghasilkan bibit dengan waktu yang lama dan bergantung dengan cuaca. Untuk mengatasi kelemahan tersebut, perbanyak dapat dilakukan secara mikropropagasi. Mikropropagasi atau perbanyak secara *in vitro* merupakan salah satu metode perbanyak secara vegetatif yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu relatif cepat, memiliki sifat yang sama dengan induknya, dengan proses pembibitan tidak tergantung musim (Suryowinoto, 1996).

Salah satu metode perbanyak planlet dalam kultur *in vitro* adalah melalui kalus. Kalus adalah sekumpulan sel amorphous (belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* atau di dalam tabung. Kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang dan daun. Secara histologi, kalus berasal dari pembelahan berkali-kali sel-sel parenkim di sekitar berkas pengangkut dan beberapa elemen penyusun berkas pengangkut kecuali xilem (Sudarmadji, 2003; Moega, 1991).

Faktor penentu keberhasilan dalam kultur *in vitro* salah satunya ditentukan oleh keberadaan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam media. ZPT yang umum digunakan dari golongan sitokinin dan auksin. Auksin banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk perpanjangan sel, pembentukan akar adventif, dan menghambat pembentukan tunas adventif dan tunas ketiak. IBA (*indolebutyric acid*) termasuk dalam golongan auksin, sedangkan sitokinin adalah senyawa turunan adenine dan berperan dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin digunakan untuk merangsang diferensiasi tunas adventif dari kalus menjadi organ serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel, dengan salah satu jenisnya adalah BAP (*Benzylaminopurine*) (Karjadi dan Buchory, 2008). Pemanfaatan zat pengatur tumbuh IBA dan BAP pada pembentukan kalus stroberi belum banyak diteliti sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Kultur Jaringan Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana (Jl. Pulau Moyo 16 X). Penelitian dimulai dari bulan November 2014 sampai Februari 2015.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan tanam yang digunakan dalam percobaan ini adalah pangkal daun stroberi. Media dasar yang digunakan adalah *Murashige Skoog (MS)* siap pakai. Bahan tambahan lainnya agar, gula, dan air mineral steril (aquades), sedangkan bahan untuk sterilan adalah *clorox*, detergent, dan alcohol. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah IBA (*Indolebutyric acid*) dan BAP (*Benzyl aminopurine*). Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah pisau, panci, gelas ukur, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, pipet, botol infus, plastik, karet gelang, sendok, autoklaf,

pinset, spatula, petridish, *Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)*, korek api, pH Meter, dan lampu Bunsen

2.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktor tunggal dengan enam ulangan. Perlakuan yang dicobakan adalah kombinasi konsentrasi IBA (*Indolebutyric acid*) dan BAP (*Benzyl aminopurine*) pada media MS dengan menggunakan bahan tanam pangkal daun, sebagai berikut :Konsentrasi IBA dan BAP (P). MS (P0), MS + IBA 0.5 ppm + BAP 0.5 ppm (P1), MS + IBA 1 ppm + BAP 1 ppm (P2), MS + IBA 1.5 ppm + BAP 1.5 ppm (P3), MS + IBA 2 ppm + BAP 2 ppm (P4), MS + IBA 2.5 ppm + BAP 2.5 ppm (P5)

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

Hasil analisis statistik menunjukkan pemberian zat pengatur tumbuh ZPT IBA dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel saat pelengkungan eksplan, saat pembengkakan, persentase pelengkungan dan presentase pembengkakan (Tabel 1). Namun sampai akhir pengamatan (30 HST) perlakuan zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap pembentukan kalus belum bisa diamati.

Tabel 1. Signifikansi pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh (IBA + BAP) terhadap pembentukan kalus pada eksplan daun stroberi

No	Variabel	Signifikansi
1.	Saat pelengkungan	*
2.	Saat pembengkakan	*
3.	Persentase pelengkungan	*
4	Persentase pembengkakan	*

Keterangan : * = berpengaruh nyata

Zat pengatur tumbuh yang diberikan pada eksplan daun stroberi menunjukkan perkembangan seperti pelengkungan dan pembengkakan. Pengaruh zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap semua variabel ditampilkan pada Tabel 2.

Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (IBA+BAP) terhadap variabel saat pelengkungan antara kontrol dengan perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Pelengkungan tercepat (2,6 hari) terdapat pada perlakuan P₁ dan P₂ atau lebih cepat 1 hari dibandingkan kontrol (P₀ = 3,6 hari), dan menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada perlakuan P₃, P₄, dan P₅. Pelengkungan terlama terjadi pada perlakuan P₅

Pembengkakan, pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (IBA + BAP) terhadap pembengkakan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Pembengkakan tercepat (6,3 hari) dapat dilihat pada perlakuan P₂, P₁ dan P₃ berbeda nyata dengan kontrol (P₀), P₄, dan P₅. Sedangkan pembengkakan terlama pada perlakuan P₅ yaitu 8,8 hari.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh (IBA + BAP) terhadap waktu pelengkungan, waktu pembengkakan, persentase pelengkungan dan persentase pembengkakan pada setiap media perlakuan.

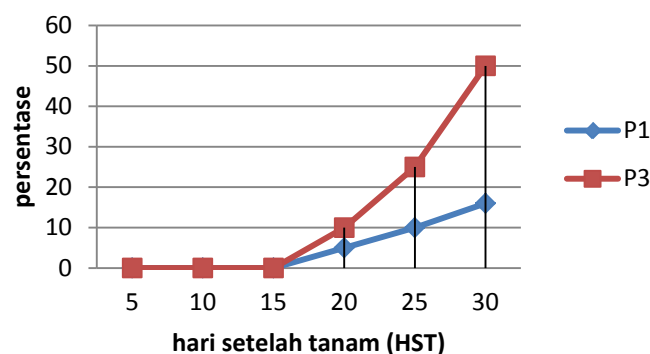
Perlakuan	Variabel			
	Saat pelengkungan (hari)	Saat pembengkakan (hari)	Persentase pelengkungan (%)	Persentase pembengkakan (%)
P0	3,6 b	8,1 b	83,5 ab	66,7 b
P1	2,6 a	6,5 a	100 a	100 a
P2	2,6 a	6,3 a	100 a	100 a
P3	3 ab	7,1 a	94,4 ab	77,8 b
P4	3,6 b	7,8 ab	77,8 b	72,2 b
P5	4 b	8,8 b	77,8 b	72,2 b
BNT 5%	0,63	0,89	20,18	15,63

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($p \geq 0,05$) sedangkan angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p \leq 0,01$) berdasarkan uji BNT 5%

Tabel 2 menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (IBA + BAP) terhadap variabel persentase pelengkungan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan. Persentase pelengkungan tertinggi (100%) terdapat pada perlakuan P₁ dan perlakuan P₂ sedangkan kontrol (P₀) yaitu 83,5%. Persentase pelengkungan terendah pada perlakuan P₄ dan P₅ yaitu hanya 77,8 %.

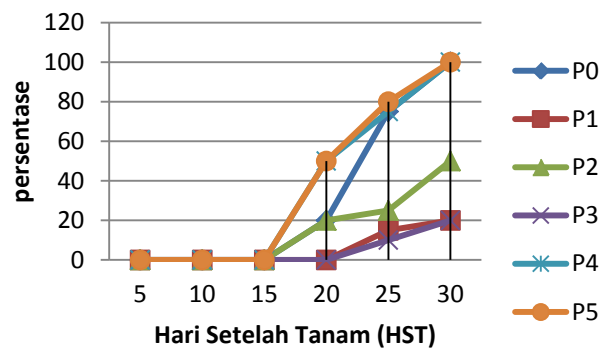
Persentase pembengkakan, pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (IBA+BAP) terhadap variabel persentase pembengkakan antar perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Persentase pembengkakan terbaik terjadi pada perlakuan P₁ dan pada perlakuan P₂ yaitu 100% berbeda nyata dengan kontrol (P₀) (66,7%), P₃ (77,8%), P₄ (77,2%), dan P₅ (77,2%). Kontrol (P₀) persentase paling sedikit antar perlakuan dari persentase pembengkakan.

Kegagalan dalam kultur jaringan biasanya ditandai dengan terjadinya kontaminasi dan browning. Data persentase browning pada perlakuan P₁ dan P₃ disajikan pada Gambar 1 terlihat pada gambar grafik browning terjadi setelah di hari ke 15. Persentase kontaminasi terlihat pada Gambar 2 terjadinya kontaminasi setelah



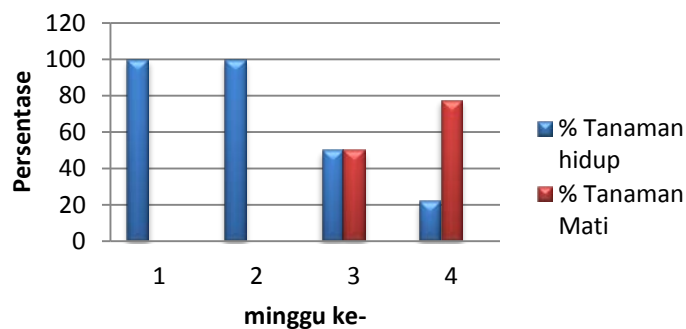
hari ke 15.

Gambar 1. Persentase Browning pada Eksplan Daun Stroberi



Gambar 2. Persentase Kontaminasi pada Eksplan Daun Stroberi

Bahwa terjadinya browning pada Gambar1 terbanyak pada perlakuan P₃. Perlakuan yang mengalami kontaminasi tertinggi (100%) terjadi pada perlakuan P₀, P₄, dan P₅. Persentase pertumbuhan eksplan selama periode kultur disajikan dalam Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Persentase pertumbuhan eksplan daun stroberi

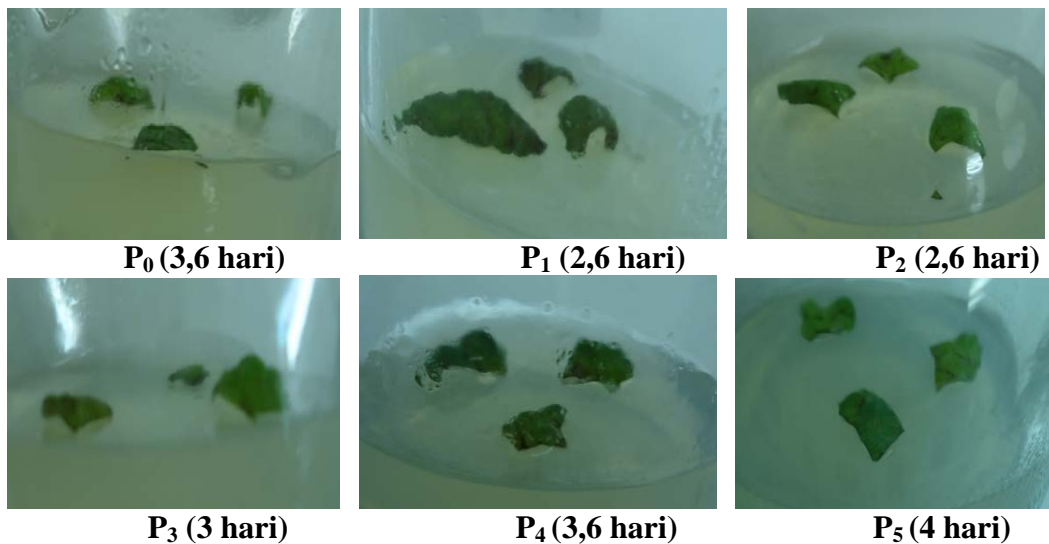
3.2 Pembahasan

Auksin dan sitokinin adalah kombinasi zat pengatur tumbuh yang umumnya digunakan untuk menumbuhkan tunas atau akar dan kalus dari eksplan kultur in vitro. Zat pengatur tumbuh auksin yang digunakan adalah IBA merupakan salah satu auksin paling baik yang digunakan sebagai memicu pertumbuhan dibandingkan dengan IAA dan NAA, kandungan kimianya lebih stabil dan daya kerjanya lebih lama (Kusumo,1994). Zat pengatur tumbuh sitokinin yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel dalam kultur jaringan tanaman, BAP paling sering digunakan dalam kultur jaringan karena memiliki sifat yang tahan terdegradasi dibandingkan jenis sitokinin lainnya (Abidin, 1985 dalam Fitriani, 2006).

Proses pembentukan kalus diawali dengan proses pelengkungan, pembengkakan, dan pembentukan kalus. Kalus adalah sekumpulan sel amorphous

yang terjadi dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri secara terus menerus (Santoso, 2001). Tumbuhnya kalus merupakan masa proliferasi (Pembiakan yang subur) masa jaringan yang belum terdiferensiasi terbentuk karena adanya sel-sel yang kontak dengan media terdorong menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka. Thomas dan Davey (1975) dalam George and Sherington (1993), mengemukakan bahwa pembelahan sel yang mengarah pada terbentuknya kalus terjadi dari adanya respon terhadap luka dan suplai hormon alamiah atau buatan dari luar ke dalam eksplan.

Hasil penelitian ini menunjukkan saat pelengkungan eksplan daun terdapat pada semua perlakuan namun ada perbedaan hari pelengkungan. Hasil pelengkungan terbaik pada perlakuan P_1 dan P_2 (2,6 hari), sedangkan pada P_0 (kontrol) dan perlakuan P_4 menunjukkan pelengkungan terlama (3,6 hari) pelengkungan dapat dilihat pada Gambar 4.4, adanya perbedaan dalam pertumbuhan pelengkungan terjadi karena perbedaan jumlah konsentrasi yang diberikan pada perlakuan. Menurut Audus (1963) dalam Hidayat (2009) bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda untuk setiap tanaman jenis tanaman bahkan berbeda pula antar varietas dalam suatu spesies. Perbedaan konsentrasi tersebut menyebabkan pelengkungan dibberapa perlakuan tidak optimal. Pelengkungan terjadi 3 - 4 hari setelah tanam dikarenakan hormon IBA yang dikombinasikan dengan BAP mempengaruhi permeabilitas sehingga air masuk secara osmosis kedalam sel dan menyebabkan kekakuan pada bagian daun yang mengalami pelukaan (Yuyun, 2010).

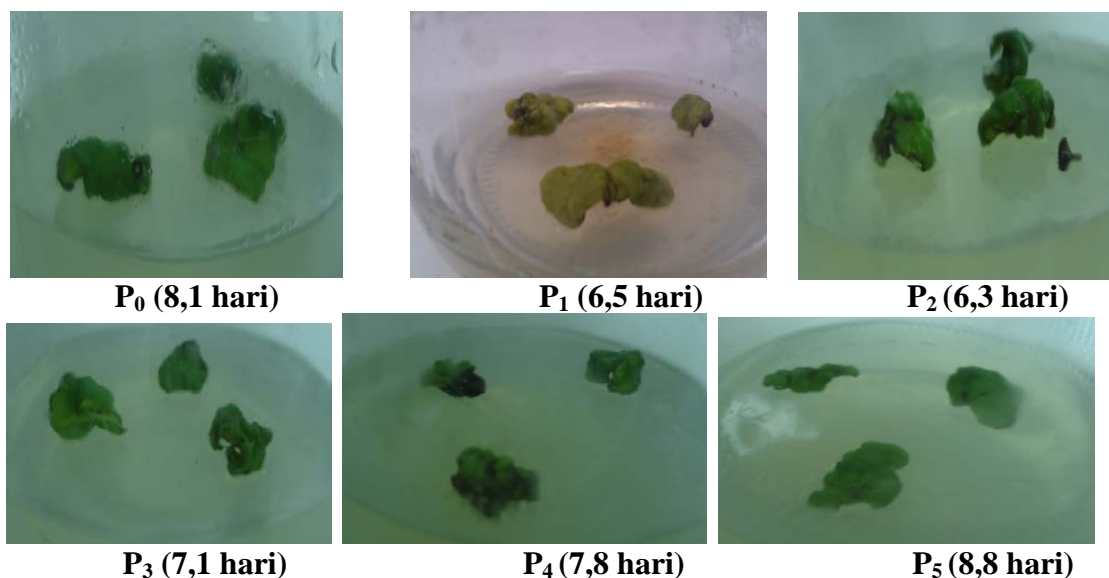


Gambar 4. Eksplan yang mengalami pelengkungan

Setelah pelengkungan selanjutnya terjadi pembengkakan, menurut hasil penelitian pembengkakan terjadi setelah 6 - 8 hari setelah tanam. Pembengkakan tercepat terdapat pada perlakuan P_2 (6,3 hari) dan yang terlama terdapat pada perlakuan P_5 (8,8 hari) dapat dilihat pada Gambar 4.5 Pembengkakan tercepat terjadi dikarenakan konsentrasi yang diberikan pada eksplan optimal dalam konsentrasi

yang digunakan. Menurut Gunawan (1992) bahwa pengaruh penggunaan auksin (IBA) terhadap pertumbuhan jaringan tanaman yaitu dengan cara menginduksi sekresi H^+ ke luar sel melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan susunan matrix dinding sel merenggang, akibatnya air menjadi masuk ke dalam sel, sehingga sel membesar. Pembengkakan eksplan ditandai dengan perubahan pada bekas pelukaan yang membuat jaringan bagian pinggir dari eksplan menebal dikarenakan secara anatomi, pembesaran jaringan ini disebabkan oleh terjadinya penambahan ukuran dan jumlah sel-sel eksplan tampak lebih besar didaerah abaksial, sehingga terjadinya pembengkakan (Hedrayono dan Wijayani, 1994).

Pemberian IBA memberikan pengaruh yang baik terhadap pembengkakan, hal ini disebabkan karena ZPT tersebut dapat juga meningkatkan rangsangan pada daerah meristematik sehingga dengan IBA akan lebih memperpendek waktu untuk pembengkakan. Menurut Wattimena (1991), apabila auksin yang terdapat pada daerah meristematik tanaman dirangsang lagi dengan auksin eksogen seperti IBA maka auksin yang terdapat pada tanaman akan terangsang lagi untuk memacu pertumbuhan tanaman. Auksin banyak terbentuk pada ujung-ujung meristem. Pemberian auksin dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tanaman seperti pada tunas dan akar apabila sesuai dengan kebutuhan tanaman (Gardner, dkk. 1991).



Gambar 5. Eksplan yang mengalami pembengkakan

Tingkat keberhasilan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh (IBA dan BAP) pada dasarnya tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Dimana konsentrasi ini diharapkan dapat menghasilkan pertumbuhan yang tercepat. Menurut George dan Sherrington (1984), perkembangan pada kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media dan zat pengatur tumbuh yang terdapat dalam sel-sel yang dikulturkan.

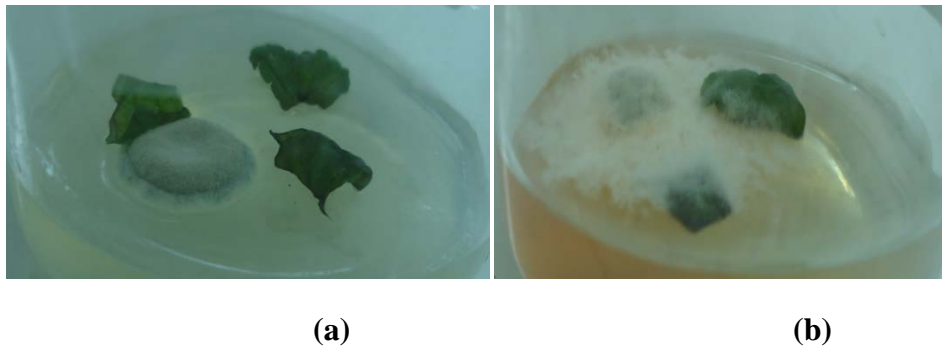
Audus (1963) dalam Hidayat (2009) menyatakan bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda untuk setiap jenis tanaman bahkan berbeda pula antar varietas dalam suatu spesies. Demikian pula halnya dengan kisaran konsentrasi yang tidak tepat dapat menimbulkan efek yang tidak diharapkan. Dalam konsentrasi yang berbeda, zat pengatur tumbuh dapat menghambat pertumbuhan tanaman, bahkan dapat menyebabkan keracunan pada seluruh tanaman.

Keberhasilan pelaksanaan kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor antara lain komposisi zat pengatur tumbuh, sumber eksplan dan jenis tanaman. Zat pengatur tumbuh berguna untuk menstimulasi pembentukan kalus dan organ tanaman (Vasil, 1987). Penggunaan konsentrasi yang belum tepat kalus tidak akan tumbuh, karena untuk menumbuhkan kalus embriogenesis hanya dibutuhkan media normal dengan unsur hara makro dan mikro yang lengkap (Monnier, 1990). Kegagalan pertumbuhan kalus lainnya disebabkan karena terjadinya kontaminasi dan browning.

Pada penelitian ini terjadi kontaminasi sekitar 20 % - 100 % pada perlakuan P₀, P₄, dan P₅ dikarenakan oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi kultur oleh bakteri ditandai dengan adanya lendir berwarna putih susu dan lapisan seperti kerak pada permukaan media atau eksplan, sedangkan kontaminasi jamur terdapat gumpalan kecil berwarna putih-hitam. Kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme endofitik (mikroorganisme yang hidup di dalam sel atau ruang antar sel tanam) yang sering merupakan biota dari tanaman sumber eksplan, sulit diatasi dengan sterilisasi permukaan (Yusnita, 2003). Kontaminasi yang disebabkan oleh infeksi eksternal dapat diatasi dengan sterilisasi permukaan bahan tanam. Bahan yang sering digunakan untuk sterilisasi bahan tanam adalah kalsium atau natrium hipoklorit. Bahan tanam juga dicelupkan sebentar ke dalam alkohol 70% untuk menghilangkan lapisan lilin sebelum masuk ke dalam sterilan.

Kontaminasi yang terjadi dikarenakan oleh bakteri tidak saja ada pada bahan tanam tapi kadang-kadang ada pada bagian dalam bahan tanam. Biasanya bila ada bakteri di permukaan respon kontaminasinya sangat cepat, dalam waktu dua kali 24 jam sudah bisa terlihat kontaminasi, tetapi bila bersifat internal responnya muncul setelah beberapa hari bahkan kadang-kadang bisa sampai satu bulan sehingga hasilnya akan mengecewakan (Santoso dan Nursadi, 2001). Kontaminasi yang disebabkan oleh infeksi internal adalah ditemukannya mikroorganisme atau bakteri hidup dalam ruang antar sel sehingga tidak dapat dibunuh dengan sterilisasi permukaan. Cara mengatasi hal seperti ini adalah dengan menambahkan antibiotik (Dyah, 2004).

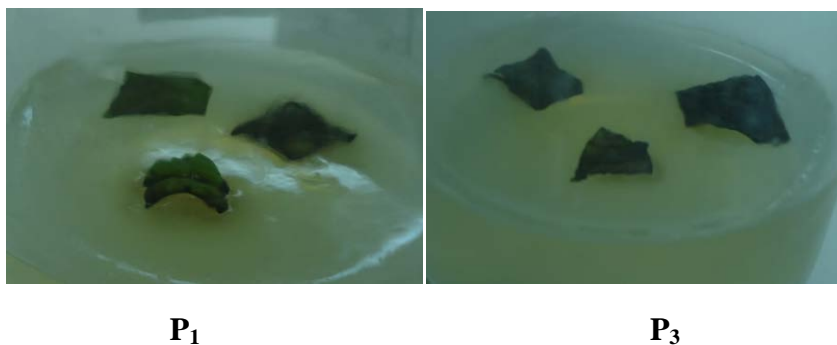
Menurut Santoso dan Nursadi (2001) kontaminasi juga dapat disebabkan oleh media tanam, munculnya gangguan ini bila dipahami secara mendasar adalah merupakan sesuatu yang wajar sebagai konsekuensi penggunaan media diperkaya.



Gambar 6. (a) kontaminasi yang di sebabkan oleh jamur, (b) kontaminasi yang di sebabkan dari bakteri

Masalah lain yang terjadi pada kultur jaringan adalah browning (Gambar 4.7). Menurut Santoso dan Nursadi (2001) pencoklatan atau browning adalah suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang sering membuat tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Eksplan yang mengalami browning terjadi pada perlakuan P_1 (16,7%) dan P_3 (50%)

Browning merupakan gangguan dalam kegiatan kultur jaringan, karena dengan terjadinya browning berarti telah muncul tanda-tanda kemunduran fisiologis eksplan dan tidak jarang berakhir dengan kematian eksplan, browning disebabkan karena adanya senyawa fenol yang bersifat toksik, menghambat pertumbuhan dan dasar mematikan jaringan eksplan (Santoso dan Nursadi, 2001).



Gambar 7. Eksplan yang mengalami browning (20 hari setelah tanam)

Pada penelitian ini beberapa hal sudah dilakukan untuk menghindari pencoklatan : (1) Mengeluarkan senyawa fenol, yaitu dengan cara membilas terus menerus dengan atau aquades, melakukan sub kultur berulang, mengabsorpsi dengan arang aktif, mengabsorpsi dengan polyvinylpirolidone (PVP), (2) Pengaturan pH rendah, ini dapat dilakukan karena enzim polyphenol oksidase kerja optimalnya pada pH 6,5 dan menurun seiring dengan turunnya pH, (3) Penggunaan ruang gelap, karena enzim polyphenol oksidase kerja efektivitasnya dipengaruhi oleh cahaya, untuk penggunaan ruang gelap minimal 14 hari setelah penanaman eksplan, (4) Mengurangi agen yang menyebabkan terjadinya pencoklatan, yang paling umum

biasanya yaitu dengan mengurangi jumlah karbohidrat medium, mengurangi atau meniadakan kontak dengan oksigen (Santoso dan Nursadi, 2001).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pelengkungan eksplan pada perlakuan 0,5 ppm IBA + 0,5 ppm BAP (P₁) dan 1 ppm IBA + 1 ppm BAP (P₂) lebih cepat (2,6 hari) dengan persentase 100%. Pelengkungan terlambat terjadi pada perlakuan 2,5 ppm IBA + 2,5 ppm BAP (P₅) yaitu 4 hari dengan persentase 77,8%.
2. Pembengkakan tercepat terjadi pada perlakuan 1 ppm IBA + 1 ppm BAP (P₂) 6,3 hari dengan persentase 100%. Pembengkakan terlama terjadi pada perlakuan 2,5 ppm IBA + 2,5 ppm BAP (P₅) yaitu 8,8 hari dengan persentase 72,2%.
3. Kalus tidak terbentuk atau belum terbentuk sampai akhir pengamatan

5. Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan yaitu perlu mengkaji metode sterilisasi untuk meminimalisasi kontaminasi dan browning pada eksplan daun stroberi dan alat yang digunakan dan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan konsentrasi yang tepat dengan kombinasi IBA dan BAP untuk mendapatkan kalus.

Daftar Pustaka

- Abbas, B. 2011. Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan. Alfabeta Bandung. Bandung
- Dyah, W. D. 2004. Seri Agri Menghasilkan Anggrek Silangan. PT Penebar Swadaya. Jakarta
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun "Skripsi Biologi FMIPA UNS". Semarang
- George, E.F. and P.D. Sherington, 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directionary of Commercial Laboratories. Exgenetic Ltd. England
- George, E.F. and P.D. Sherington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, the Technology Part. I* 2 nd (ed). Exegetics. Limited, England. p. 591-601.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayat, T. 2009. Pengantar Bioteknologi. UPI. Bandung
- Karjadi, A.K. dan Buchory A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. Cet 4. Jurnal Hortikultura. Hal; 380-384
- Kusumo, S. 1994. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. CV Yasaguna, Jakarta.
- Moega JP. 1991. *Dasar-dasar Genetika Pemuliaan Tanaman*. Jakarta: Erlangga

- Monnier, M. 1990. Zygotic embryo culture. S.S.Bhojwani (editor). Development in crop science 19 plant tissue culture (applications and limitations). Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, Netherlands. Pp. 336-390.
- Rohmayanti, M. 2013. Budidaya Stroberi Di Lahan Sempit. Infra Pustaka. Bandung
- Santoso, U. & F. Nursandi. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*, Malang
- Sudarmadji. 2003. *Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara In Vitro*. Buletin Teknik Pertanian Vol. 8, NO. 1. Hal 28-30.
- Suryowinoto, M. 1996. Pemuliaan Tanaman Secara *In vitro*. Kanisius, Yogyakarta.
- Vasil, I. K. 1987. Developing Cell and Tissue Culture System for The Improvement of Cereal and Crops. J. Plant Physiol
- Vickery, M.L., B. Vickery. 1981. Secondary plants metabolism, The Macmillan Press, London, 255-288
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan : Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Yuyun, F. 2010. Teknik Sterilisasi dan Efektifitas 2,4 D Terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun nilan in vitro. Universitas udayana. Denpasar