

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Stroberi adalah salah satu komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan memiliki prospek baik untuk dikembangkan di Indonesia. Daya pikat stroberi terletak pada warna buahnya yang merah mencolok serta rasa manis segar. Stroberi memiliki kandungan senyawa fenolik *ellagic acid* yang mampu menghambat kanker yang disebabkan oleh persenyawaan kimia berbahaya. Kandungan nutrisi dan vitamin banyak terdapat pada buah stroberi seperti vitamin B1, B2, C, A, serta kalsium dan fosfat (Hannum, 2004).

Kegiatan budidaya stroberi di Indonesia masih tergolong dalam skala kecil dan terbatas. Faktor pembatas disini meliputi beberapa faktor antara lain adalah keterbatasan bibit, keterbatasan lokasi penanaman, biaya investasi yang cukup tinggi dan usaha seleksi kultivar yang masih rendah (Gunawan, 1995).

Perbanyakan tanaman stroberi dapat dilakukan melalui biji, stolon dan kultur jaringan (*in vitro*). Cara perbanyakan biji jarang dilakukan karena membutuhkan waktu yang cukup lama. Pada umumnya perbanyakan dengan biji hanya dilakukan oleh *breeder* untuk menguji silangan-silangan yang diperoleh. Perbanyakan dengan anakan dari stolon harus ditumbuhkan beberapa waktu dahulu, baru akan membentuk generasi berikutnya (Budiman dan Desi, 2010). Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi keterbatasan bibit dan juga penyediaan bibit yang bebas patogen dan virus adalah dengan menggunakan perbanyakan dengan teknik kultur jaringan/*in vitro*. Perbanyakan *in vitro* merupakan perbanyakan dengan menggunakan salah satu bagian tanaman dalam media buatan yang aseptik di dalam wadah kecil seperti tabung reaksi atau botol kultur. Dengan menggunakan teknik ini, penyediaan bibit dalam jumlah banyak dapat diperoleh dalam waktu yang relatif singkat karena kecepatan multiplikasi teknik ini jauh lebih cepat jika dibandingkan dengan perbanyakan stolon (Gunawan, 1995).

Kegiatan penyediaan benih yang banyak dilakukan adalah dengan perbanyakan stolon. Kelemahan dari perbanyakan stolon adalah hasil perbanyakan relatif sedikit serta belum tentu terjamin bebas penyakit terutama karena infeksi

virus secara sistemik (Siregar, 2013). Beberapa jenis virus yang menyerang stroberi antara lain adalah *Strawberry Mottle Virus (SMoV)*, *Strawberry Ven Bending Virus (SVBV)*, *Strawberry Mild Yellow Edge Virus (SMYEV)*, dan *Strawberry Crinkle Virus (SCV)*. Virus-virus tersebut menjadi salah satu penyebab penurunan hasil panen dari stroberi.

Kultur meristem adalah kultur jaringan tanaman menggunakan eksplan berupa jaringan meristematik. Jaringan meristem yang digunakan dapat berupa meristem pucuk terminal atau meristem tunas aksilar. Kultur meristem sudah secara luas diterapkan untuk tujuan perbanyakan tanaman, terutama pada tanaman hortikultura. Sel-sel meristem pada umumnya stabil karena mitosis pada sel-sel meristem terjadi bersama dengan pembelahan sel yang berkesinambungan, sehingga ekstra duplikasi DNA dapat dihindarkan. Hal ini menyebabkan tanaman yang dihasilkan identik dengan tanaman induknya. Selain untuk perbanyakan tanaman, aplikasi kultur meristem juga dimanfaatkan untuk eliminasi virus dari jaringan tanaman, dan penyimpanan materi plasma nutfah dalam suhu rendah (teknik kriopreservasi) (Hartman *et al*, 2002).

Pada tahap multiplikasi biasanya digunakan media yang sama seperti pada tahap inisiasi dengan konsentrasi hormon sitokinin yang lebih tinggi (Hartmann *et al*, 2002). Pada fase ini terjadi perkembangan tunas aksilar dan tunas terminal, serta induksi tunas adventif dan embriosomatik. Pucuk aksilar dan terminal dapat dirangsang untuk berkembang terus. Dari satu tunas yang terbentuk dapat terbentuk tunas-tunas baru, sehingga multiplikasi berlangsung terus-menerus. Jumlah multiplikasi berbeda-beda tergantung pada spesies serta metode yang digunakan (Gaspar *et al*, 1996).

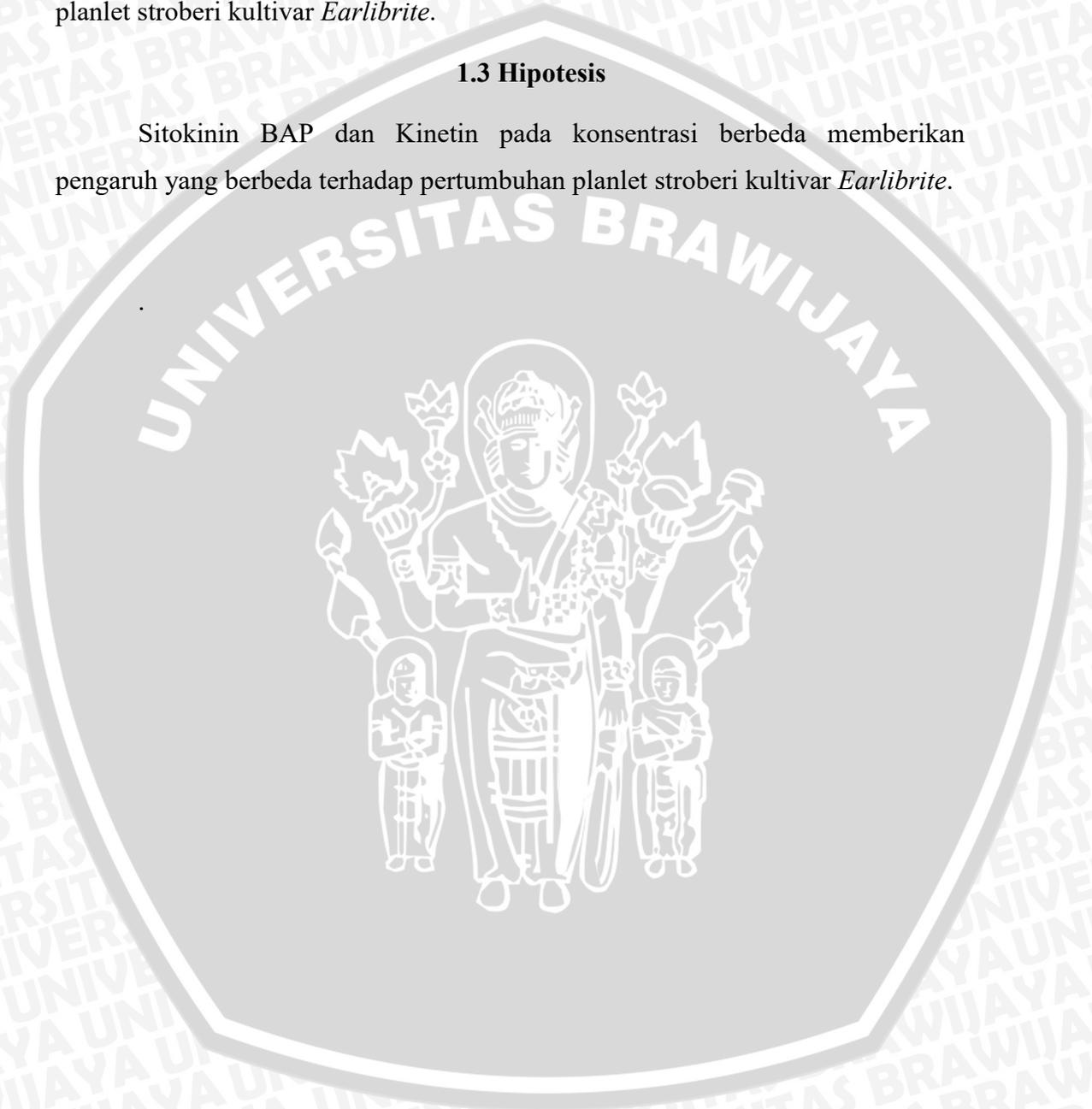
Salah satu cara untuk mengoptimalkan perbanyakan tunas adalah dengan merekayasa konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) di dalam tanaman. Rekayasa yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan penambahan zat pengatur tumbuh sintesis ke dalam media kultur. Zat pengatur tumbuh yang diaplikasikan adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologis tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

### 1.2 Tujuan

Untuk mendapatkan jenis dan konsentrasi terbaik diantara pemberian hormon sitokinin BAP dan Kinetin dengan tujuan multiplikasi tunas dan induksi planlet stroberi kultivar *Earlibrite*.

### 1.3 Hipotesis

Sitokinin BAP dan Kinetin pada konsentrasi berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan planlet stroberi kultivar *Earlibrite*.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Umum Tanaman Stroberi

Menurut Budiman dan Saraswati (2010) tanaman stroberi telah diketahui keberadaannya sejak zaman Romawi, tetapi bukan jenis yang dikenal saat ini. Stroberi yang dibudidayakan saat ini disebut sebagai stroberi modern (komersial) dengan nama ilmiah *Fragaria x ananassa*. Stroberi ini adalah hasil persilangan antara *Fragaria virginiana* L. var *duschenes* dari Amerika Utara dengan *Fragaria chiloensis* L. var *duschenes* dari Chili, Amerika Selatan. Sifat dan ketahanan buah stroberi untuk masing-masing varietas berbeda-beda. Kondisi ini mengakibatkan buah stroberi yang dipanen, baik waktu maupun tingkat kesegaran dan kekerasan buah tidak sama. Oleh karena itu, perlakuan yang diberikan untuk setiap varietas dapat berbeda.

Tanaman stroberi memiliki akar tunggang (*radix primaria*), akarnya terus tumbuh memanjang dan berukuran besar. Panjang akar mencapai 100 cm namun akar tersebut hanya menembus lapisan tanah atas sedalam 15-45 cm, tergantung jenis dan kesuburan tanahnya. Tanaman stroberi dewasa umumnya mempunyai 20-35 akar primer dengan panjang akar sekitar 40 cm. Akar primer dapat bertahan lebih dari 1 tahun. Akar-akar baru menggantikan akar primer tumbuh dari ruas paling dekat dengan akar primer. Hal ini dapat mengurangi kontak akar dengan tanah pada tanaman-tanaman tua. Akar-akar berkumpul dengan panjang 0.5 m. sekitar 90% dari total akar berkumpul di lapisan atas media tanam dengan kedalaman sekitar 15 cm. Pada media yang berdrainase baik, 50% akar berkumpul pada kedalaman antara 15-45 cm (Budiman dan Saraswati, 2010).

Batang utama stroberi sangat pendek. Daun-daun terbentuk disetiap buku. Pada ketiak daun terdapat pucuk aksilar. Internode sangat pendek, sehingga jarak daun yang satu dengan yang lain sangat rapat. Tanaman tampak seperti rumpun tanpa batang. Batang utama dan daun yang tersusun rapat disebut *crown*. Ukuran *crown* berbeda-beda tergantung dari umur, tingkat perkembangan tanaman, kultivar, dan kondisi lingkungan pertumbuhan (Budiman dan Saraswati, 2010).

Daun tanaman stroberi tersusun pada tangkai yang berukuran agak panjang. Tangkai daun berbentuk bulat serta seluruh permukaannya ditumbuhi

oleh bulu-bulu halus. Helai daun bersusun tiga (trifoliat), bagian tepi daun bergerigi, berwarna hijau, dan berstruktur tipis. Daun dapat bertahan hidup selama 1-3 bulan, kemudian akan mengering dan mati (Wijoyo, 2005). Permukaan bawah daun berwarna hijau keabu-abuan dan memiliki 300-400 stomata per mm<sup>2</sup>. Artinya, tanaman ini sangat mudah kekurangan air karena tinggi laju transpirasi pada saat udara panas (Kurnia, 2005).

Stroberi memiliki bunga sempurna (hermaprodit). Struktur bunga terdiri atas 5 kelopak (sepal), 5 daun mahkota (petal), 20-35 benang sari (stamen), dan ratusan putik (pistil). Bunga tersusun dalam malai yang panjang, terletak pada ujung tanaman. Setiap malai bercabang daun, mempunyai empat macam bunga yaitu 1 bunga primer, 2 bunga sekunder, 4 bunga tersier dan 8 bunga kuartiner. Bunga primer adalah bunga yang pertama kali mekar pada setiap malai, kemudian disusul oleh bunga-bunga lainnya. Penyerbukan bunga dibantu oleh serangga dan angin. Setiap malai bunga dapat menghasilkan lebih dari satu buah (Wijoyo, 2005).

Stolon adalah perpanjangan tunas yang tumbuh horizontal sejajar dengan permukaan tanah (menjalar) yang merupakan organ perbanyak vegetatif. Pada stolon terdapat ruas yang mencapai 30 cm. Pada ruas terdapat tunas/pucuk aksilar yang dilindungi oleh *bractea* yang berkembang menjadi anakan-anakan stroberi. Anakan ini membentuk akar pada saat pucuk membentuk daun trifoliat (Budiman dan Saraswati, 2010). Anakan yang terbentuk dari stolon adalah anakan vegetatif yang karakter dan sifatnya akan sama dengan induknya (Kurnia, 2005).

Buah stroberi berwarna merah. Buah yang biasa dikenal adalah buah semu yang sebenarnya merupakan *receptacle* yang membesar. Buah sejati yang berasal dari ovul yang telah diserbuki berkembang menjadi buah kering dengan biji keras. Struktur buah keras ini disebut *achene*. Buah sejati ini berukuran kecil dan menempel pada *receptacle* yang membesar. Ukuran stroberi ditentukan oleh jumlah buah *achene* yang terbentuk. Sementara jumlah buah *achene* yang terbentuk ditentukan oleh jumlah pistil dan keefektifan penyerbukan (Budiman dan Desi, 2010).

Biji stroberi berukuran kecil. Pada setiap buah dihasilkan banyak biji. Biji stroberi terletak diantara daging buah. Potensi biji pada setiap stroberi jumlahnya dapat mencapai 200-300 butir (Wijoyo, 2005).

Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi pertanaman stroberi adalah sebagai berikut :

### **Iklim**

Stroberi merupakan tanaman subtropik yang memiliki daya adaptasi baik di dataran tinggi. Kurnia (2005) menyatakan bahwa hal yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan stroberi adalah temperatur, panjang hari dan kelembaban udara. Ketinggian tempat yang memenuhi syarat iklim tersebut adalah 1000-1500 mdpl dengan curah hujan antara 600-700 mm/tahun. Lama penyinaran yang dibutuhkan adalah 8-10 jam per hari. Sedangkan kelembaban udara yang baik untuk pertumbuhan stroberi antara 80-90 % (Budiman dan Saraswati, 2010).

Stroberi akan tumbuh dengan optimal pada kondisi lingkungan yang sejuk dan dingin, sehingga di Indonesia ditanam pada lahan dataran tinggi atau daerah pegunungan. Fotoperioditas (panjang penyinaran) sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman. Suhu tinggi dengan lama penyinaran panjang mendorong pembentukan stolon, sebaliknya pada hari pendek dan suhu rendah akan membantu pembungaan (Kurnia, 2005).

### **Tanah**

Stroberi dapat tumbuh hampir pada semua jenis tanah, dari tanah berpasir sampai tanah berliat (Kurnia, 2005). Beberapa varietas lebih cocok ditanam pada tanah yang berat dan ada juga varietas yang lebih cocok ditanam di tanah ringan asalkan tersedia humus dan aerasi yang baik. Kurnia (2005) menyatakan bahwa stroberi tumbuh baik pada tanah dengan pH 5-6 dan Stroberi akan tumbuh baik jika ditanam pada tanah yang tinggi bahan organik yang memiliki porositas yang baik sehingga akar dapat tumbuh dengan optimal.

Tempat yang cocok untuk bertanam stroberi adalah lahan berpasir yang mengandung tanah liat dikereng pegunungan. Bila ditanam dikebun, tanah yang dibutuhkan adalah tanah liat berpasir, subur, gembur, dan mengandung banyak

bahan organik. Pengairan dan sirkulasi udara yang baik juga dibutuhkan agar pertumbuhan tanaman optimal (Budiman dan Saraswati, 2010).

## 2.2 Karakteristik Stroberi Kultivar *Earlibrite*

Stroberi kultivar *Earlibrite* merupakan salah satu kultivar stroberi hibrida antara stroberi kultivar *Rosa Linda* dan Stroberi FL 90-38 yang dikembangkan oleh *Gulf Coast Research and Education Center in Dover (GCREC-Dover), University of Florida*. Pada kondisi lingkungan asalnya di Florida, kultivar ini dalam 1 musim tanam mampu menghasilkan 645 gram buah/tanaman. Dan di daerah asalnya, kultivar ini dibudidayakan pada bulan November sampai Februari. Stroberi kultivar *Earlibrite* ini dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan di Florida akan buah stroberi musim dingin yang matang di awal musim ( lebih awal dari biasanya; *early rippening*). Yang ditujukan untuk menggantikan stroberi kultivar *Sweet Charlie* yang merupakan kultivar yang mampu berproduksi tinggi, tekstur buah lembut dan ukuran yang relatif kecil yang hanya dibudidayakan pada musim panas saja. Kultivar *Earlibrite* memiliki tekstur buah yang lebih keras, buah yang berwarna merah terang, beraroma harum, rasa lebih manis dan ukuran yang lebih besar dibanding kultivar *Sweet Charlie*.

Kultivar *Earlibrite* merupakan stroberi hari pendek yang memiliki habitus tanaman lebih rapat dibandingkan kultivar *Sweet Charlie* atau *Camarosa*. Habitus yang rapat membuat buah lebih mudah terlihat sehingga memudahkan proses panen. Namun kelemahannya adalah tanaman ini rentan terhadap terpaan air hujan yang dapat mengakibatkan buah tampak seperti retak atau tergores. Secara morfologis, kultivar *Earlibrite* memiliki panjang petiol sekitar 108 mm dengan diameter 4 mm. Daun-daun di ujung batang berukuran panjang sekitar 81 mm dan lebar 71 mm. Sedangkan daun sekunder berukuran panjang sekitar 75 mm dan lebar 72 mm. Bunga stroberi terdiri dari empat bagian yaitu bunga primer yang terletak di ujung tangkai utama malai, sekunder yang terletak di tangkai cabang (di bawah bunga primer), tersier dan kuartener yang terletak di percabangan malai. Bobot buah yang dimiliki berat rata-rata 20 gram per buah. Buah primer berbentuk *globose* ( ujung bulat) dan *conic* ( ujung runcing) sedangkan buah

sekunder dan tersier berbentuk *conic* dan *wedge* (ujung mendatar) (Chandler, 2002).

### 2.3 Kultur Jaringan Stroberi

Kultur jaringan adalah istilah umum yang ditujukan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas, dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada media buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Hartman *et al*, 2002). Kultur jaringan adalah suatu upaya perbanyakan sel, jaringan organ atau protoplas dengan teknik steril (Nasir, 2002). Sedangkan menurut George dan Sherrington (1984) kultur jaringan pada dasarnya merupakan suatu sistem pertumbuhan sel-sel yang belum terdiferensiasi, sehingga mampu menghasilkan bagian-bagian tanaman seperti daun, batang dan akar. Sifat totipotensi adalah kemampuan sel yang apabila diletakkan dalam lingkungan yang sesuai dapat tumbuh menjadi individu baru yang sempurna. Untuk itu diperlukan medium yang tepat untuk pertumbuhan sel, yaitu medium yang mengandung nutrisi dan hormon tumbuh. Selain kondisi steril, kedua hal tersebut adalah kunci pokok bagi keberhasilan kultur jaringan. Potensi kultur jaringan dalam pemuliaan tanaman somaklonal mencakup semua teknik kultur sel dan jaringan yang meliputi perbanyakan, pengamatan dan manipulasi genetik tanaman tanpa melibatkan siklus seksual.

Tanaman stroberi memiliki kerentanan terhadap beberapa penyakit virus seperti *Strawberry Mottle Virus* (SMoV), *Strawberry Mild Yellow Edge Virus* (SMYEV), *Strawberry Crinkle Virus* (SCV) dan *Strawberry Ven Binding Virus* (SVBV). Tujuan penerapan teknik kultur jaringan pada tanaman stroberi selain untuk memperoleh bibit yang banyak dalam waktu singkat juga bertujuan untuk mengeliminasi penyakit virus yang kemungkinan besar terdapat pada tanaman (Zebrowska, 2004).

Istilah meristem digunakan untuk menyebutkan ujung tunas dari tunas apikal atau lateral. Meristem sebenarnya adalah *apical dome* dengan primordia daun terkecil, biasanya berdiameter kurang dari 2 mm. Keuntungan penggunaan

meristem adalah kemungkinan besar bebas dari patogen internal dan meminimalisasi terjadinya variasi kimera pada kultur. Kerugian utamanya adalah sangat rentan terhadap kerusakan dan memerlukan pengerjaan yang sangat detil/teliti di bawah mikroskop. Prasyarat kultur sama dengan eksplan yang lebih besar, hanya ketidakberhasilan kultur awal mungkin cukup. Menurut Taji *et al.* (2002) kultur meristem adalah perbanyakkan tanaman dengan mengkulturkan potongan tunas dengan ukuran sangat kecil yang terdiri atas satu kubah meristem dengan dua atau tiga primordial daun dibawahnya. Kultur meristem terutama dimanfaatkan dalam program eliminasi penyakit, terutama penyakit yang disebabkan oleh partikel virus.

Untuk mendukung tingkat keberhasilan kultur tanaman stroberi yang akan dikulturkan berupa jaringan muda yang sedang dalam kondisi tumbuh. Jaringan yang akan dikulturkan berupa tunas, ujung akar atau daun muda. Jaringan yang diambil dan ditumbuhkan melalui kultur jaringan disebut eksplan. Sejak diambil dari tumbuhan induk sampai dengan dikulturkan, eksplan harus berada dalam keadaan steril. Pesiapan eksplan sampai penanaman dalam media buatan harus dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) (Rahardja dan Wiryanata, 2003).

Umur fisiologis dan umur eksplan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan perbanyakkan tanaman secara *in vitro*. Eksplan dari jaringan tanaman yang masih muda secara fisiologis umumnya lebih baik daripada jaringan tanaman tua. Eksplan dari tanaman muda memiliki daya regenerasi sel yang lebih tinggi daripada tanaman tua. Kondisi lingkungan yang menentukan keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan meliputi cahaya, suhu dan komponen atmosfer. Cahaya dibutuhkan untuk mengatur proses morfogenetik tertentu (Yusnita, 2003).

#### 2.4 Media Kultur Jaringan

Keberhasilan dalam teknologi penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang semakin berkembang mengenai kebutuhan hara dari sel dan jaringan yang dikulturkan. Hara terdiri dari komponen utama dan komponen pendukung tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral,

sumber karbon (gula), vitamin dan zat pengatur tumbuh. Komponen pendukung antara lain adalah senyawa nitrogen organik, metabolit dan ekstrak tambahan tidak mutlak, tetapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyakannya (Yusnita, 2003).

Media Murashige dan Skoog (Media MS) merupakan media yang paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan, hal ini disebabkan karena media MS mempunyai keuntungan yang sangat efektif pada pertumbuhan beberapa varietas tanaman dikotil dan monokotil (Hartman *et al*, 2002).

Media kultur jaringan dapat berupa medium padat atau cair, tergantung pada kebutuhan. Komponen dasar dari medium kultur dapat bermacam-macam, secara umum medium kultur jaringan harus mengandung unsur-unsur sebagai berikut:

**a. Unsur makro**

Air merupakan zat terbanyak pada tubuh tumbuhan, oleh karena itu air juga merupakan bagian terbesar didalam medium kultur. Air selain sebagai bahan untuk membentuk material tubuh, juga sebagai medium untuk reaksi biokimia. Air juga berguna untuk transport dan distribusi zat-zat yang terlarut didalamnya. Pada medium kultur jaringan digunakan air murni yang sudah mengalami demineralisasi, deionisasi dan didestilasi dengan gelas dua kali. Kebutuhan garam-garam mineral didalam jaringan kurang lebih sama dengan tanaman utuh. Garam-garam mineral merupakan gabungan unsur-unsur esensial makro dan mikro. Konsentrasi optimum dari tiap-tiap komponen untuk mencapai kecepatan pertumbuhan yang maksimal sangat bervariasi. Unsur makro dibutuhkan dalam jumlah cukup besar, pada umumnya diberikan dalam bentuk persenyawaan. George dan Sherrington (1984) menyebutkan beberapa persenyawaan makronutrien yang umum digunakan pada medium kultur jaringan, antara lain:  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NaNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KCl}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4$ .

**b. Unsur mikro**

Unsur hara mikro adalah unsur yang diperlukan dalam jumlah sedikit. Fungsinya belum diketahui secara pasti, tetapi tidak adanya zat-zat ini dapat

menyebabkan kelainan pertumbuhan. Air dan bahan kimia yang tingkat kemurniannya rendah seringkali terkontaminasi oleh unsur hara mikro. Bentuk persenyawaan hara mikro yang umum digunakan pada beberapa medium kultur menurut George dan Sherrington (1984) adalah:  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; KI;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; NaFeEDTA;  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ ; Fe III tartrate.

### c. Zat Organik

Zat-zat organik adalah persenyawaan yang mengandung karbon, ditambahkan pada medium kultur jaringan berupa gula, myo-Inositol, vitamin, asam-asam amino dan zat pengatur tumbuh. Zat-zat organik tersebut biasanya tidak diberikan pada tanaman karena tanaman dapat mensintesis sendiri, tetapi pada kultur *in vitro*, karena eksplan yang digunakan umumnya berukuran sangat kecil dan tidak mampu mensintesis sendiri semua zat-zat organik tersebut, maka zat-zat organik harus ditambahkan pada medium.

Disamping unsur-unsur dan bahan organik yang disebutkan diatas, bahan-bahan lain yang digunakan didalam proses pembuatan media MS antara lain adalah substansi organik kompleks, pH medium dan bahan pematat (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

### 2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Selain nutrisi, zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan, perkembangan dan diferensiasi. Zat pengatur tumbuh aktif pada konsentrasi rendah dan diproduksi didalam tubuh tanaman itu sendiri (endogen). Untuk keperluan kultur jaringan telah dibuat zat pengatur tumbuh sintetik, tanpa zat pengatur tumbuh pertumbuhan, eksplan akan terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Zat pengatur tumbuh dikelompokkan dalam beberapa kelompok yaitu Auksin, Sitokinin, Gibberellin, Abscisic acid, dan Ethylene. Zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini akan dijelaskan sebagai berikut :

### a. Sitokinin

Sitokinin adalah senyawa-senyawa yang berasal dari senyawa yang mengandung nitrogen, yaitu adenin. Sitokinin alami dihasilkan pada jaringan yang tumbuh aktif terutama pada akar, embrio dan buah. Menurut Hartman *et al.* (2002) sitokinin mempunyai beberapa fungsi, antara lain memacu pembelahan sel dalam jaringan meristematik, merangsang diferensiasi sel-sel yang dihasilkan dalam meristem, mendorong pertumbuhan tunas samping, dominasi apikal dan perluasan daun serta pada beberapa spesies tumbuhan, peningkatan pembukaan stomata. Menurut Bozena (2001), kombinasi penggunaan zat pengatur tumbuh yang biasa diaplikasikan pada kultur jaringan tanaman stroberi adalah 1-6-Benzylaminopurine (BAP) dengan Naphthaleneacetic acid (NAA). Sitokinin disintesis melalui modifikasi biokimia dari adenin, terjadi pada ujung akar dan biji yang tumbuh. Pengaruh sitokinin dipengaruhi oleh konsentrasi auksin. Adanya meristem apikal, maka auksin menekan pertumbuhan tunas aksilar. Meristem apikal dibuang, konsentrasi sitokinin meningkat, merangsang pertumbuhan tunas aksilar. Sitokinin berperan dalam menghambat pertumbuhan akar melalui peningkatan konsentrasi etilen. Sitokinin menghambat pembentukan akar lateral melalui pengaruhnya pada sel periskel dan memblokir program pengembangan pembentukan akar lateral (Santoso, 2013).

Sitokinin ditransport melalui xylem dari akar ke pucuk. Sitokinin hanya aktif jika ada auksin, pemberian sitokinin bersama auksin pada media kultur dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin mempengaruhi transport auksin, pertumbuhan kuncup lateral (mematahkan dominasi apikal), perkembangan daun, menghambat proses penuaan daun dan mempengaruhi perkembangan kloroplas. Sitokinin sintetik seperti N6-benzylaminopurine (BAP) lebih sering digunakan pada medium kultur jaringan. *Phenylurea*, substansi aktif yang terdapat pada air kelapa mempunyai efek yang sama dengan zeatin, penggunaannya memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi. Thidiazuron (N-phenyl-N-1,2,3-thiazol-5-ylurea), yang secara komersial digunakan sebagai defoliant, karena kemampuannya untuk menstimulasi produksi ethylene, dapat digunakan untuk memacu pembentukan dan proliferasi tunas *in vitro*. Substansi lain yang mempunyai aktifitas seperti sitokinin adalah endosperm

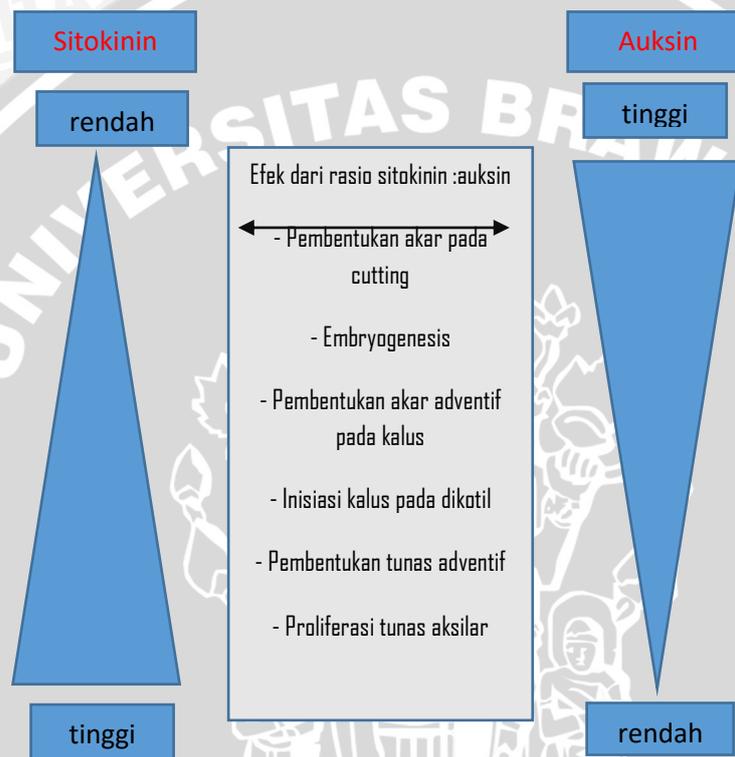
cair pada kecambah jagung. Diferensiasi selular dan morfogenesis *in vitro* terutama dikendalikan oleh interaksi antara konsentrasi auksin dan sitokinin yang diberikan pada medium kultur. Manipulasi rasio auksin : sitokinin dapat mempengaruhi organogenesis, pada perbandingan auksin/sitokinin tinggi memacu pembentukan akar, perbandingan yang sebaliknya akan memacu pembentukan tunas. Jika perbandingan auksin sitokinin seimbang hanya terbentuk kalus (Hartmann *et al.* 2002).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh BAP pada kultur tunas stroberi menunjukkan pengaruh terhadap parameter jumlah tunas, jumlah akar, jumlah daun, berat eksplan. Namun tidak berpengaruh nyata terhadap parameter umur muncul tunas, muncul akar, tinggi tunas dan panjang akar (Sitepu, 2007). Dalam percobaan induksi tunas dari tunas pucuk menggunakan zeatin, persentase tertinggi eksplan menghasilkan tunas dan jumlah tunas yang terbentuk per eksplan diperoleh pada media MS yang mengandung 4 pM zeatin. Frekuensi tinggi tunas regenerasi dari daun stroberi menggunakan konsentrasi dan kombinasi BAP dan TDZ yang berbeda dicapai pada media MS yang mengandung 4 pM TDZ, tanpa BAP (Haddani, 2009). Pada penelitian yang dilakukan oleh Sitepu (2007), aplikasi auksin NAA dengan konsentrasi 0,5 ppm yang dikombinasikan dengan sitokinin BAP 1 ppm mampu memberikan hasil yang lebih baik dibanding kombinasi yang lain dalam perbanyak tunas pada stroberi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pengaruh nyata sitokinin dan berbagai turunannya untuk diferensiasi sel, memacu pertumbuhan tunas dan akar. Sesuai dengan pernyataan Hartman *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa sitokinin berfungsi untuk memacu pembelahan sel dan pembentukan organ, menunda penuaan dan meningkatkan aktifitas wadah penampung hara, memacu perkembangan pucuk samping tanaman dikotil, memacu pembesaran sel terhadap kotiledon dan daun tumbuhan dikotil, memacu perkembangan kloroplas dan sintesa klorofil.

### **Auksin**

Istilah auksin digunakan untuk sekelompok senyawa kimia yang memiliki fungsi mendorong pemanjangan kuncup yang sedang berkembang. Beberapa

auksin dihasilkan secara alami oleh tumbuhan, misalnya IAA (*indoleacetic acid*), PAA (*Phenylacetic acid*), 4-chloroIAA (*4-chloroindole acetic acid*) dan IBA (*indolebutyricacid*) dan beberapa lainnya merupakan auksin sintetik, misalnya NAA (*naphthaleneacetic acid*), 2,4 D (*2,4 dichlorophenoxyacetic acid*) dan MCPA (*2-methyl-4chlorophenoxyacetic acid*). Indole-3-acetic acid (IAA) merupakan salah satu auksin alami yang terdapat pada sebagian besar tumbuhan. Disintesis dari tryptophan terutama di primordial daun, daun muda dan pada kecambah.



Gambar 1 : Efek sitokinin + auksin (George dan Sherrington, 1984).

IAA ditransport dari sel ke sel dengan arah basipetal (dari pucuk ke akar). IAA berperan dalam mempengaruhi pemanjangan sel; pembelahan sel; diferensiasi jaringan vaskuler; inisiasi pembentukan akar; mempengaruhi dominasi apikal; zona absisi pada daun dan buah; pembungaan; pemasakan buah, dll. IAA mudah larut dalam alkohol. Penggunaan IAA pada medium kultur kerap kali kurang menguntungkan karena mudah rusak oleh cahaya, oksidasi enzimatis dan pemanasan pada saat proses sterilisasi dengan autoklaf.

Penggunaan auksin sintetik lebih menguntungkan karena lebih stabil. Auksin sintetik yang umum digunakan pada medium adalah: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); 1-naphthaleneacetic acid (NAA) dan indole-

3-butyric acid (IBA). Beberapa persenyawaan seperti dicamba (3,6-dichloro-O-anisic acid) dan picloram (4-amino-3,5,6-trichloro-2-pyridinecarboxylic acid) pada konsentrasi tinggi merupakan herbisida, digunakan sebagai auksin substitusi. Kultur *in vitro* tumbuhan yang pada mulanya memerlukan auksin eksogen untuk pertumbuhannya, secara gradual atau bahkan secara tiba-tiba dapat hilang dan tidak memerlukan auksin lagi, hal yang demikian disebut sebagai habituasi terhadap auksin. Penggunaan auksin secara tunggal pada umumnya sudah cukup mampu untuk menginduksi pembentukan dan pertumbuhan kalus. Untuk beberapa tanaman yang rekalsitran akan lebih membantu jika menggunakan lebih dari satu jenis auksin secara simultan. Hasil penelitian menunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi 2,4-D dan NAA, tingkat induksi kalus meningkat secara signifikan. 2,4-D menghasilkan hasil yang lebih baik untuk inisiasi kalus bila digunakan secara tunggal (Biswas *et al*, 2010). Pada kultur jaringan tanaman monokotil, terutama rumput-rumputan dan palem, juga pada kultur *in vitro* umbi akar wortel, memerlukan auksin sintetik seperti 2,4-D dengan dosis yang cukup tinggi. Penghilangan atau pengurangan kadar auksin pada sub-kultur berikutnya dapat memacu produksi embrio somatik atau organ adventif. Pertumbuhan kultur juga dapat dipacu dengan penambahan substansi yang dapat mengatur tingkatan IAA endogen misalnya, dopamine dapat menghambat aktifitas IAA oksidase sehingga tidak terjadi oksidasi terhadap IAA, akibatnya pertumbuhan jaringan dan organ pada kultur *in vitro* menjadi lebih baik. Penghambat sintesis auksin seperti 5-hydroxy-nitrobenzyl bromide (HNB) dan 7-azaindole memacu embryogenesis somatik pada kultur kalus citrus yang telah mengalami habituasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Auksin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah indole-3-acetic acid (IAA),  $\alpha$ -naphthylacetic acid ( $\alpha$ -NAA), dan 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D). Jenis-jenis auksin yang lain seperti 2,4,5-trichlorophenoxyacetid acid (2,4,5-T), indole-3-butyric acid (IBA), dan *P*-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA) juga merupakan senyawa yang efektif, tetapi penggunaannya tidak sebanyak tiga jenis auksin yang disebut terlebih dahulu. 2,4,5-T dapat meningkatkan pembentukan kalus pada kultur *in vitro* tanaman biji-bijian, sedangkan IBA sangat efektif untuk menginduksi perakaran IAA

merupakan auksin yang disintesis secara alamiah di dalam tubuh tanaman, namun senyawa ini mudah mengalami degradasi akibat pengaruh cahaya dan oksidasi enzimatik. Oleh karena itu, IAA biasanya diberikan pada konsentrasi yang relatif tinggi (1-30 mg L<sup>-1</sup>). Sementara itu  $\alpha$ -NAA yang merupakan auksin sintetis tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti halnya IAA. Senyawa tersebut dapat diberikan pada medium kultur pada konsentrasi yang lebih rendah, berkisar antara 0,1-2,0 mg L<sup>-1</sup> (Zulkarnain, 2009). Eksplan yang berasal dari jaringan meristem dan dikulturkan pada media MS dengan perlakuan 6-benzyladenine (4.0  $\mu$ M) dan  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (0.1  $\mu$ M) memberikan tingkat keberhasilan pembentukan eksplan sebesar 94.4% dan juga menghasilkan tunas sebanyak jumlah tunas (22,3) per eksplan. Dari sitokinin diuji, 6-benziladenin ditemukan lebih efektif daripada kinetin dan N<sup>6</sup>- ( $\gamma$ ,  $\gamma$  dimethylamylamine) purine (Bhatt dan Dhar, 2000).



### 3. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan, Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balijestro), Tlekung, Junrejo, Batu. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2015.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, gelas ukur, petridish, scalpel, pinset, lampu Burnsen, *laminar air flow cabinet* (LAFC), oven, *handsprayer*, timbangan, pemanas, pH meter, batang pengaduk, gelas erlenmeyer, botol kultur, aluminium foil, kertas steril, label, penggaris, kamera, dan alat-alat lain yang dibutuhkan dalam penelitian.

Bahan-bahan yang digunakan adalah planlet hasil subkultur dari meristem batang stroberi kultivar *Earlibrite* dengan ukuran panjang 5-7 mm, media MS (Murashige dan Skoog) *powder*, ZPT (zat pengatur tumbuh) NAA, BAP dan Kinetin, alkohol 70% dan 96%, HCl 1 N, NaOH 1 N, myoinositol, agar sukrosa, aquades, detergen, spiritus dan bahan-bahan lain yang dibutuhkan dalam penelitian.

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan dan pengulangan sebanyak 3 kali dan ditambah 2 ulangan cadangan setiap ulangan. Jumlah eksplan yang gunakan adalah 2 eksplan per ulangan nya. Eksplan meristem stroberi yang ditanam di media MS kemudian dipindah ke media MS yang telah diberikan perlakuan kombinasi ZPT (zat pengatur tumbuh) sitokinin BAP dan Kinetin dengan auksin NAA. Botol disusun per ulangan dan sampel yang diambil sebanyak 2 eksplan per perlakuan. Kombinasi ZPT yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan.

Perlakuan	Kombinasi ZPT (mg/L)
A	Kontrol ( Tanpa ZPT)
B	BAP 0,25 + NAA 0,025
C	BAP 0,5 + NAA 0,025
D	BAP 0,75 + NAA 0,025
E	BAP 1 + NAA 0,025
F	Kinetin 0,25 + NAA 0,025
G	Kinetin 0,5 + NAA 0,025
H	Kinetin 0,75 + NAA 0,025
I	Kinetin 1 + NAA 0,025

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penanaman harus dalam keadaan steril agar terbebas dari hal-hal yang dapat menimbulkan kontaminasi. Sterilisasi diawali dengan pencucian semua alat dengan detergen dan dicuci dengan air mengalir. Setelah dikeringkan, alat-alat seperti scalpel, pinset, cawan petri, kertas merang, kertas tisu, aluminium foil terlebih dahulu dibungkus dengan kertas sampul setelah itu disterilisasikan dalam autoklaf dengan suhu 121°C, pada tekanan 15 psi selama 60 menit. Alat tanam seperti pinset dan gunting serta pisau dapat juga disterilkan dengan pembakaran atau pemanasan dalam oven pada suhu 121°C selama 30 menit, sementara untuk *laminar air flow cabinet* (LAFC) dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol 96% dan lampu UV.

Bahan yang digunakan seperti aquades dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil, kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada tekanan 15 psi, pada temperatur 121° C selama 60 menit.

#### Pengambilan eksplan

Bahan tanam diambil dari planlet hasil kultur meristem tanaman stroberi kultivar *Earlibrite* yang telah tumbuh selama 4 bulan. Eksplan yang digunakan dipilih dulu dengan kriteria bebas kontaminasi dari jamur dan bakteri dan tumbuh dengan baik.

### **Pembuatan Media**

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS yang dikombinasikan sesuai dengan perlakuan zat pengatur tumbuh BAP, Kinetin dan NAA yang telah ditentukan. Urutan pembuatan media adalah sebagai berikut.

- Timbang semua bahan (gula, myoinositol, agar, MS) sesuai dengan kebutuhan untuk pembuatan media. Kemudian larutkan selama 5 menit. Kemudian setelah dilarutkan, tambahkan aquades sampai dengan 900 ml. Dan stirer lagi selama 5 menit.
- Siapkan Erlenmeyer yang telah di isi dengan BAP, Kinetin dan NAA sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan.
- Setelah bahan yang telah dicampur dan dilarutkan selesai di strirer, tuangkan ke dalam tabung Erlenmeyer masing-masing 100 ml.
- Stirer lagi sambil mengukur pH 5.8. jika pH-nya terlalu rendah maka ditambahkan NaOH 1N dan jika pH-nya terlalu tinggi maka ditambahkan HCl 1N, setelah itu ditambahkan agar-agar sebanyak 0,9 g/100 ml.
- Setiap media perlakuan dituangkan ke dalam botol kultur yang telah berlabel dan ditutup dengan aluminium foil atau plastik. Media selanjutnya disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C, tekanan 15 psi selama 15 menit lalu media diletakkan di rak pada ruang kultur.

### **Inokulasi**

*Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) disterilkan terlebih dahulu dengan alkohol 96 % dengan menggunakan tisu yang bersih. Eksplan diambil dari tempat penyimpanan (botol kultur) eksplan yang sudah steril kemudian diletakkan di cawan petri. Penanaman dilakukan dengan menggunakan pinset untuk mengeluarkan bahan eksplan stroberi dari botol kultur. Eksplan dipotong dengan ukuran antara 0,5 – 0,7 cm. Setiap botol kultur berisi dua eksplan stroberi. Kemudian ditutup dengan menggunakan kertas aluminium foil. Setelah itu botol media dikembalikan ke dalam ruang kultur.

## Pemeliharaan

Botol-botol kultur yang telah ditanami eksplan disusun di rak kultur didalam ruangan inkubasi. Ruangan ini dijaga agar tetap steril. Botol-botol kultur dan rak-rak kultur disemprotkan dengan alkohol 96% setiap hari agar terhindar dari kontaminasi. Kultur di inkubasi pada ruangan yang bersuhu 21° C dengan penyorotan lampu *fluorencent* (neon) dengan intensitas cahaya 10.000-30.000 lux.

### 3.5 Pengamatan Penelitian

#### 1. Persentase Eksplan Hidup dan Terkontaminasi per Minggu (%)

Diamati jumlah eksplan yang secara visual tumbuh dan berkembang. Dilakukan pada 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 HST. Jumlah eksplan yang hidup dihitung jumlahnya kemudian dibagi total jumlah eksplan per perlakuan kemudian dikali 100 %.

#### 2. Saat Muncul Tunas

Eksplan diamati hingga hari pertama terbentuk tunas, dengan kriteria telah memiliki satu helai daun yang membuka sempurna. Waktu muncul tunas ditentukan dalam HST (hari setelah tanam). Pengamatan dilakukan pada hari ke 7,14,21,28,35,42,49,56 HST.

#### 3. Jumlah Tunas

Jumlah tunas dihitung dengan cara menghitung jumlah tunas yang tumbuh dari seluruh eksplan. Pengamatan jumlah tunas dilakukan pada akhir pengamatan yaitu 56 HST .

#### 4. Saat Muncul Akar

Eksplan diamati hingga hari pertama terbentuk akar, dengan kriteria telah muncul tonjolan berwarna putih kekuningan pada bagian bawah dan samping eksplan. Waktu muncul akar ditentukan dalam HST (hari setelah tanam). Pengamatan dilakukan pada hari ke 7,14,21,28,35,42,49,56 HST.

#### 5. Jumlah Akar

Jumlah akar dihitung secara visual dengan menghitung jumlah akar terbentuk. Pengamatan Jumlah Akar dilakukan di akhir pengamatan yaitu 56 HST.

6. Panjang Akar  
Panjang akar dihitung menggunakan jangka sorong digital. Pengamatan Jumlah Akar dilakukan di akhir pengamatan yaitu 56 HST.
7. Jumlah Daun (Helai)  
Jumlah daun dihitung dengan cara menghitung jumlah daun yang terbentuk dari satu eksplan, dengan kriteria telah membuka sempurna. Pengamatan dilakukan pada 56 HST.
8. Diameter Klaster Planlet  
Diameter klaster dihitung dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengamatan dilakukan pada 56 HST.
9. Tinggi Planlet  
Tinggi planlet dihitung dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengamatan dilakukan pada 56 HST.

### 3.6 Analisis Data

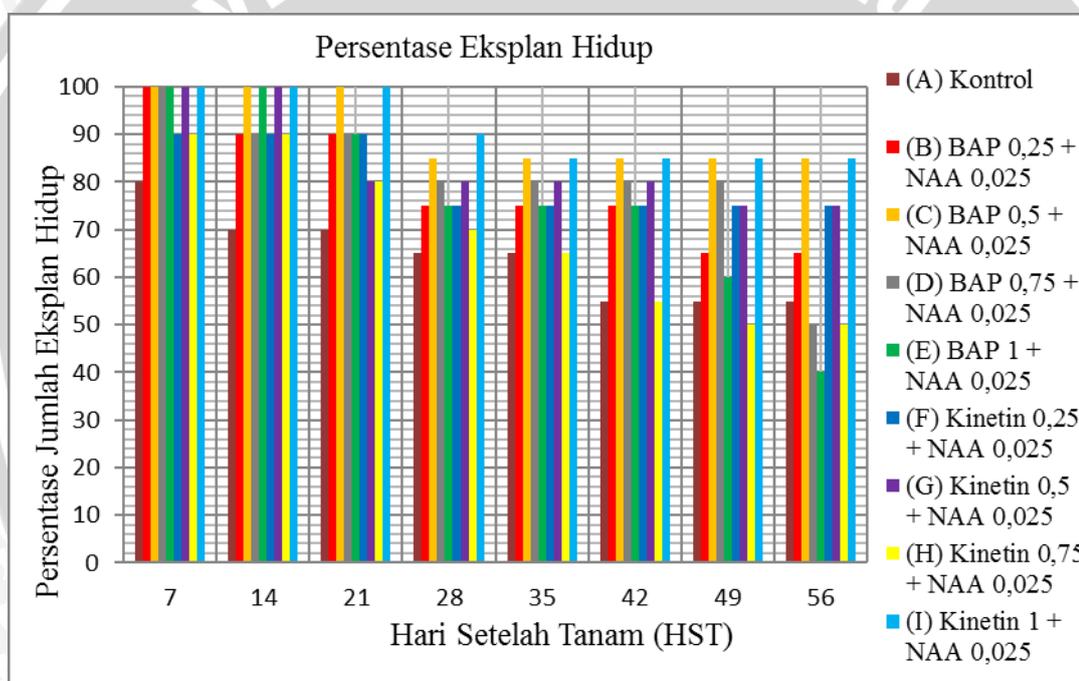
Data yang diperoleh dirata-ratakan dan dianalisa dengan Analisis varians. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka akan dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan di antara perlakuan.

## 4. HASIL PENELITIAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan yang hidup dari setiap perlakuan pemberian hormon BAP dan Kinetin di minggu pertama pengamatan (7 HST) berada pada kisaran 80-100%. Kemudian persentase hidup terus menurun pada minggu-minggu berikutnya. Pada minggu terakhir pengamatan (56 HST), dari semua eksplan yang diberikan perlakuan BAP dan Kinetin, persentase hidup setiap perlakuan berada pada kisaran 40-85%. Persentase hidup per minggu dari setiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



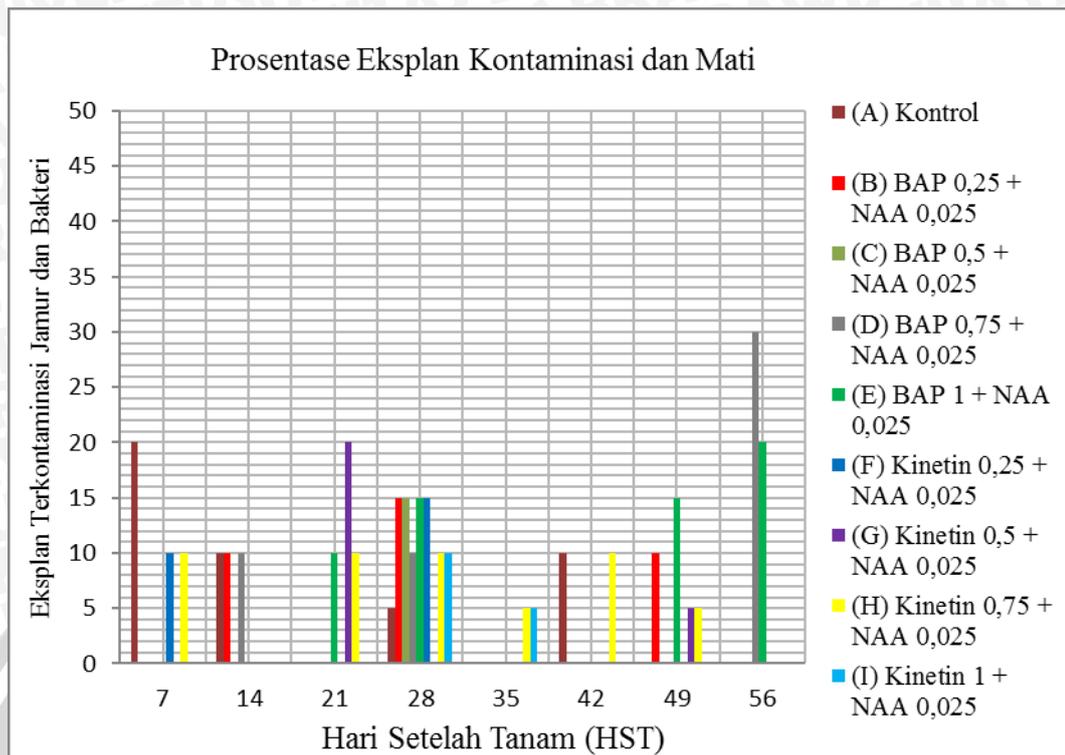
Gambar 2. Histogram persentase eksplan hidup

Pada Gambar 2, dapat dilihat bahwa setiap minggu pengamatan kecenderungan jumlah eksplan yang hidup terus menurun. Pada 7 HST pengamatan, rata-rata persentase hidup masih tinggi yaitu 80-100%. Perlakuan kontrol memiliki persentase paling rendah yaitu 80%. Sedangkan perlakuan lainnya berada diatas 90%. Kemudian pada 14 HST, terjadi penurunan persentase hidup dibanding minggu sebelumnya pada perlakuan A, B, dan D dengan penurunan sebesar 10% pada ketiga perlakuan tersebut. Pada 21 HST, penurunan

persentase terjadi pada perlakuan A dengan penurunan 5%, perlakuan E dan H dengan penurunan 10 %, dan perlakuan G dengan penurunan 20 %. Kemudian pada 28 HST, hampir semua perlakuan mengalami penurunan persentase hidup. Perlakuan A mengalami penurunan 5 %, H, I mengalami penurunan 10 % dan D, B, C, E, F mengalami penurunan 15 %. Pada minggu ke -4 ini, hanya perlakuan G yang persentasenya tetap seperti minggu sebelumnya. Pada 35 HST, hanya perlakuan H dan I yang mengalami mengalami penurunan persentase hidup sebesar 5%. Kemudian pada 42 HST, persentase hidup eksplan relatif stabil seperti minggu sebelumnya, penurunan persentase hanya terjadi pada perlakuan A dan H dengan penurunan sebesar 10 % dibanding minggu sebelumnya. Pada 49 HST, terjadi penurunan pada beberapa perlakuan, yaitu perlakuan B dengan penurunan 10 %, E dengan penurunan 15 %, G dan H dengan penurunan 5 %. Kemudian pada 56 HST terjadi penurunan persentase hidup yang cukup tinggi pada perlakuan D dan E. Perlakuan D dengan penurunan 30 %, E dengan penurunan 20 %. Sedangkan perlakuan yang lain, persentasenya sama dengan minggu sebelumnya.

Hasil pengamatan setiap minggu, menunjukkan tidak ada perlakuan yang mampu mempertahankan hidup eksplan secara sempurna. Hasil di akhir pengamatan menunjukkan kecenderungan persentase hidup eksplan terus menurun setiap minggunya. Perlakuan E memiliki persentase terendah dibandingkan dengan semua perlakuan yaitu sebesar 40 %. Sedangkan perlakuan C dan I mampu mempertahankan hidup eksplan dengan persentase yang paling tinggi dibanding perlakuan lain dengan persentase masing-masing 85 %.

Persentase terjadinya kontaminasi serta tanaman yang mati pada perlakuan hormon BAP dan Kinetin pada minggu pertama pengamatan ditemukan pada beberapa perlakuan. Kontaminasi yang ditemukan disebabkan oleh jamur dan bakteri, Kemudian semakin meningkat pada 14 dan 21 HST. Kemudian pada 28 HST, hampir semua perlakuan mengalami kontaminasi. Kontaminasi yang terjadi berlangsung sampai dengan pengamatan terakhir yaitu pada 56 HST. Persentase terjadinya kontaminasi dan tanaman mati per minggu dari eksplan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Histogram persentase eksplan terkontaminasi

Dari Gambar 3 dapat dilihat pada 7 HST pengamatan telah terjadi kontaminasi pada beberapa perlakuan yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Pada perlakuan A, kontaminasi yang terjadi sebesar 20 %, kemudian pada perlakuan F dan H masing-masing 10%. Sedangkan pada perlakuan yang lain, tidak ditemukan adanya tanaman yang mengalami kontaminasi dan mati. Pada 14 HST, ditemukan kontaminasi pada perlakuan A, B, dan D dengan persentase masing-masing 10%. Kemudian pada 21 HST, eksplan yang terkontaminasi dan mati ditemukan pada perlakuan E dan H sebesar 10 % dan perlakuan G sebesar 20 %. Pada 28 HST, hampir semua perlakuan mengalami kontaminasi. Perlakuan A ditemukan kontaminasi sebesar 5 %, kemudian perlakuan B, C, E, F sebesar 15 % dan perlakuan D, H, I sebesar 10 %. Kontaminasi diduga disebabkan oleh perubahan temperatur ruang penyimpanan yang meningkat pada 28 HST. Kemudian pada 35 HST, tingkat kontaminasi menurun dibanding minggu sebelumnya, pada minggu ini kontaminasi hanya ditemukan pada perlakuan H dan I masing-masing sebesar 5%. Kemudian pada 42 HST, kontaminasi hanya ditemukan pada perlakuan A dan H masing-masing sebesar 10 %. Kemudian pada 49 HST, jumlah perlakuan yang didapati terkontaminasi kembali meningkat,

kontaminasi terjadi pada perlakuan B sebesar 10 %, E sebesar 15 % , G dan H masing-masing sebesar 5 %. Pada 56 HST, jumlah perlakuan yang terkontaminasi tidak sebanyak minggu sebelumnya, namun memiliki persentase yang lebih tinggi, kontaminasi terjadi pada perlakuan D sebesar 30 % dan perlakuan E sebesar 20 %.

Dari pengamatan mingguan yang dilakukan, intensitas terjadinya kontaminasi pada setiap perlakuan cenderung fluktuatif karena banyak faktor yang mempengaruhi terjadinya kontaminasi. Dari pengamatan mingguan tersebut, diperoleh hasil perlakuan E memiliki kerentanan yang tinggi terkontaminasi bakteri dan jamur serta eksplan mati dibanding perlakuan yang lain dengan tingkat kontaminasi 60%. Sedangkan perlakuan C dan I mampu memberikan hasil paling baik, karena sampai dengan minggu akhir pengamatan, tingkat kontaminasi yang terjadi hanya 15 %.

#### 4.1.2 Waktu Muncul Tunas HST

Tabel 2. Rerata Waktu Muncul Tunas HST Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Waktu Muncul Tunas	
	HST	
Kontrol (A)	13,33	
BAP 0,25 mg/L (B)	11,00	
BAP 0,50 mg/L (C)	9,33	
BAP 0,75 mg/L (D)	11,95	
BAP 1 mg.L (E)	12,50	
Kinetin 0,25 mg/L (F)	11,85	
Kinetin 0,50 mg/L (G)	12,91	
Kinetin 0,75 mg/L (H)	12,70	
Kinetin 1 mg/L (I)	12,33	
BNJ 5%	tn	
KK	22,30 %	

Keterangan: tn: tidak nyata; dan HST = hari setelah tanam.

Perlakuan hormon BAP dan Kinetin tidak berbeda nyata terhadap waktu muncul tunas pada uji F taraf 5%. Data pengamatan waktu muncul tunas ditampilkan pada Tabel 2.

#### 4.1.3 Jumlah Tunas

Dalam kultur jaringan jumlah tunas dapat diindikasikan sebagai keberhasilan dalam multiplikasi. Semakin banyak tunas yang terbentuk maka

dapat disimpulkan bahwa jenis dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang diberikan cocok dan mampu meningkatkan aktivitas pembelahan sel. Pada penelitian ini jumlah tunas yang dihitung adalah semua tunas yang muncul, baik yang sudah memiliki daun maupun yang masih kuncup. Jumlah tunas dihitung pada akhir pengamatan (56 HST).

Tabel 3. Rerata Jumlah Tunas pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Jumlah Tunas
	56 HST
Kontrol (A)	6,00ab
BAP 0,25 mg/L (B)	6,66ab
BAP 0,50 mg/L (C)	12,33c
BAP 0,75 mg/L (D)	4,33ab
BAP 1 mg.L (E)	7,66b
Kinetin 0,25 mg/L (F)	4,33ab
Kinetin 0,50 mg/L (G)	3,00a
Kinetin 0,75 mg/L (H)	4,66ab
Kinetin 1 mg/L (I)	3,00a
BNJ 5%	4,47
KK	27,06%

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ $\alpha$  = 5%; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

Pada penelitian ini eksplan yang digunakan sebagai bahan penelitian tidak memiliki tunas pada saat ditanam. Pemberian berbagai level hormon BAP dan Kinetin pada media kultur eksplan tanaman stroberi memberikan hasil yang berbeda sangat nyata pada uji F taraf 5%. Perlakuan C dengan konsentrasi BAP 0,50 mg/L + NAA 0,025 mg/L memberikan hasil jumlah tunas lebih banyak dibanding dengan perlakuan lainnya dengan rata-rata sejumlah 12,33 tunas, sedangkan untuk jumlah tunas paling sedikit terdapat pada perlakuan G dan I dengan konsentrasi masing-masing Kinetin 0,50 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan dengan rata-rata kedua perlakuan tersebut menghasilkan masing-masing 3 tunas. Pada pengamatan jumlah tunas, pemberian hormon sitokinin BAP + NAA memiliki kecenderungan yang mampu menghasilkan tunas lebih banyak jika dibandingkan dengan pemberian hormon sitokinin Kinetin + NAA.

#### 4.1.4 Waktu Muncul Akar

Waktu muncul akar adalah jumlah hari yang dibutuhkan eksplan untuk membentuk akar dengan satuan hari setelah penanaman (HST). Pada saat inisiasi, akar berwarna putih kekuningan dan arah pertumbuhannya searah dengan arah gravitasi.

Tabel 4. Rerata Waktu Muncul Akar HST Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Waktu Muncul Akar
	HST
Kontrol (A)	24,16b
BAP 0,25 mg/L (B)	34,41c
BAP 0,50 mg/L (C)	36,76c
BAP 0,75 mg/L (D)	21,25ab
BAP 1 mg.L (E)	41,33c
Kinetin 0,25 mg/L (F)	25,16b
Kinetin 0,50 mg/L (G)	14,75a
Kinetin 0,75 mg/L (H)	15,06a
Kinetin 1 mg/L (I)	12,66a
BNJ 5%	8,73
KK	12,32%

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji  $BNJ\alpha = 5\%$ ; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

Hormon BAP dan Kinetin yang digunakan sebagai perlakuan pada media kultur eksplan stroberi memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap waktu muncul akar pada uji F taraf 5%. Perlakuan G, H dan I dengan konsentrasi masing-masing Kinetin 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L, Kinetin 0,75 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L mampu menunjukkan waktu muncul akar lebih cepat dibanding perlakuan lain yaitu dengan rata-rata akar muncul masing-masing pada 14,75, 15,06 dan 12,66 HST, sedangkan untuk waktu muncul paling lambat pada perlakuan E dengan konsentrasi pemberian BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan rata-rata muncul akar pada 41,33 HST. Pada parameter waktu muncul akar, penggunaan hormon Kinetin pada beberapa level konsentrasi lebih mampu untuk memicu proses pembentukan akar yang lebih cepat dibanding dengan penggunaan hormon BAP.

#### 4.1.5 Jumlah Akar

Pengamatan jumlah akar dilakukan pada saat akhir pengamatan yaitu 56 HST dengan menghitung jumlah akar yang muncul dari pangkal batang eksplan.

Pada saat pengamatan akhir, akar banyak bergerombol dan tidak teratur, untuk menghitung jumlah, akar harus di luruskan dengan pinset secara hati-hati untuk dapat mengetahui jumlah secara akurat. Hasil penelitian ini semua perlakuan hormon BAP dan Kinetin yang diberikan mampu menginduksi akar.

Tabel 5 . Rerata Jumlah Akar pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Jumlah Akar	
	56 HST	
Kontrol (A)	2,65abc	
BAP 0,25 mg/L (B)	1,93ab	
BAP 0,50 mg/L (C)	1,22a	
BAP 0,75 mg/L (D)	3,07bcd	
BAP 1 mg.L (E)	1,17a	
Kinetin 0,25 mg/L (F)	2,55abc	
Kinetin 0,50 mg/L (G)	3,63cd	
Kinetin 0,75 mg/L (H)	4,05cd	
Kinetin 1 mg/L (I)	4,55d	
BNJ 5%	1,57	
KK	19,90 %	

Keterangan: Data yang ditampilkan adalah data hasil transformasi; angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ $\alpha$  = 5%; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

Perbedaan konsentrasi pemberian hormon BAP dan Kinetin pada media kultur memberikan hasil berbeda sangat nyata pada uji F taraf 5%. Perlakuan I dengan konsentrasi Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L mampu memberikan hasil jumlah akar yang lebih banyak dibanding perlakuan lain dengan jumlah rata-rata 4,55, sedangkan untuk jumlah akar paling sedikit terdapat pada perlakuan C dan E dengan konsentrasi masing-masing BAP 0,50 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan hasil akhir jumlah akar masing-masing 1,22 dan 1,17. Pada parameter ini terdapat kecenderungan penambahan konsentrasi hormon Kinetin memberikan jumlah akar yang lebih banyak dibanding dengan penambahan hormon BAP yang fluktuatif terhadap jumlah akar yang dihasilkan.

#### 4.1.6 Panjang Akar

Pengamatan panjang akar dilakukan bersamaan dengan pengamatan jumlah akar yaitu pada akhir pengamatan (56 HST). Panjang akar diukur dari pangkal eksplan sampai dengan ujung terpanjang dari akar dengan menggunakan satuan centimeter (cm). Sebelum diukur, akar terlebih dahulu ditarik ujungnya

agar lurus sehingga mempermudah pengukuran. Kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Tabel 6 . Rerata Panjang Akar pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Panjang Akar (cm)
	56 HST
Kontrol (A)	1,61abcd
BAP 0,25 mg/L (B)	1,15abc
BAP 0,50 mg/L (C)	0,95ab
BAP 0,75 mg/L (D)	1,90cd
BAP 1 mg.L (E)	0,81a
Kinetin 0,25 mg/L (F)	1,76bcd
Kinetin 0,50 mg/L (G)	2,03cd
Kinetin 0,75 mg/L (H)	2,07d
Kinetin 1 mg/L (I)	2,50d
BNJ 5%	0,91
KK	19,39%

Keterangan: Data yang ditampilkan adalah data hasil transformasi; angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ  $\alpha = 5\%$ ; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

Perbedaan level konsentrasi penambahan hormon BAP dan Kinetin memberikan hasil berbeda sangat nyata pada uji F taraf 5%. Perlakuan I dengan pemberian Kinetin 1 mg/L+ NAA 0,025 mg/L memberikan hasil rata-rata panjang akar paling tinggi dibanding dengan perlakuan lainnya, dengan panjang 2,50 cm. Sedangkan untuk akar paling pendek terdapat pada perlakuan E dengan konsentrasi 1 mg/L BAP + 0,025 mg/L NAA dengan rata-rata panjang akar 0,81 cm. Kecenderungan yang muncul pada parameter panjang akar adalah penambahan hormon Kinetin sampai dengan 1 mg/L +NAA 0,025 mg/L memberikan hasil panjang akar yang semakin tinggi. Berbeda dengan penambahan hormon BAP + NAA yang hasilnya fluktuatif pada panjang akar yang diperoleh.

#### 4.1.7 Jumlah Daun

Pengamatan parameter jumlah daun dilakukan pada akhir penelitian (56 HST). Semua daun yang terdapat di eksplan dihitung baik yang sudah terbuka sempurna dan masih terbuka setengah dan kuncup. Perlakuan BAP dan Kinetin terhadap parameter jumlah daun memberikan hasil berbeda nyata pada uji F taraf 5%.

Perlakuan C dengan konsentrasi pemberian BAP 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L memiliki jumlah daun yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu dengan rata-rata 20,66 helai daun, sedangkan jumlah daun paling sedikit terdapat pada perlakuan F dengan konsentrasi pemberian Kinetin 0,25 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan rata-rata 8,33 helai daun. Formasi daun yang terbentuk akan mempengaruhi fase perkembangan berikutnya dari eksplan.

Tabel 7. Rerata Jumlah Daun pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Rerata Jumlah Daun	
	56 HST	
Kontrol (A)	11,00ab	
BAP 0,25 mg/L (B)	14,00ab	
BAP 0,50 mg/L (C)	20,66b	
BAP 0,75 mg/L (D)	13,30ab	
BAP 1 mg.L (E)	9,00a	
Kinetin 0,25 mg/L (F)	8,33a	
Kinetin 0,50 mg/L (G)	10,33ab	
Kinetin 0,75 mg/L (H)	15,33ab	
Kinetin 1 mg/L (I)	11,00ab	
BNJ 5%	10,68	
KK	29,76 %	

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ $\alpha$  = 5%; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

#### 4.1.8 Diameter Klaster Planlet

Parameter diameter klaster planlet diukur pada akhir pengamatan (56 HST). pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Bagian dari eksplan yang diukur adalah pangkal batang paling bawah. Perlakuan diantara hormon BAP dan Kinetin memberikan hasil berbeda nyata pada uji F taraf 5%. Perlakuan G dengan konsentrasi Kinetin 0,50 mg/L memiliki diameter lebih besar dibanding perlakuan lain dengan rata-rata 2,416 mm, sedangkan diameter terkecil terdapat pada perlakuan A (kontrol) dengan diameter rata-rata 1,543 mm. Perbandingan hasil yang diperoleh antara perlakuan hormon BAP dengan Kinetin menunjukkan bahwa pemberian hormon tidak memberikan hasil yang signifikan diantara kedua jenis hormon sitokinin tersebut.

Tabel 8. Rerata Diameter Klaster Planlet pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Rerata Diameter Klaster Planlet (mm)	
	56 HST	
Kontrol (A)	1,543a	
BAP 0,25 mg/L (B)	1,856ab	
BAP 0,50 mg/L (C)	1,683ab	
BAP 0,75 mg/L (D)	1,843ab	
BAP 1 mg.L (E)	1,646ab	
Kinetin 0,25 mg/L (F)	2,283ab	
Kinetin 0,50 mg/L (G)	2,416b	
Kinetin 0,75 mg/L (H)	1,830ab	
Kinetin 1 mg/L (I)	2,056ab	
BNJ 5%	0,863	
KK	15,81 %	

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ  $\alpha = 5\%$ ; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

#### 4.1.9 Tinggi Eksplan

Pengamatan parameter tinggi eksplan dilakukan pada akhir pengamatan (56 HST). Tinggi eksplan diukur dari pangkal batang sampai dengan bagian tertinggi dari eksplan. Satuan untuk mengukur tinggi eksplan adalah centimeter (cm). Pengukuran tinggi eksplan menggunakan jangka sorong agar diperoleh hasil yang akurat.

Tabel 9 . Rerata Tinggi Eksplan pada Perlakuan BAP dan Kinetin

Perlakuan	Tinggi Eksplan (cm)	
	56 HST	
Kontrol (A)	3,83ab	
BAP 0,25 mg/L (B)	3,13ab	
BAP 0,50 mg/L (C)	1,94ab	
BAP 0,75 mg/L (D)	3,43ab	
BAP 1 mg.L (E)	1,59a	
Kinetin 0,25 mg/L (F)	2,52ab	
Kinetin 0,50 mg/L (G)	4,52b	
Kinetin 0,75 mg/L (H)	3,29ab	
Kinetin 1 mg/L (I)	4,63b	
BNJ 5%	2,70	
KK	29,35 %	

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNJ  $\alpha = 5\%$ ; KK = koefisien keragaman; dan HST = hari setelah tanam.

Pada parameter tinggi eksplan, perlakuan pemberian hormon BAP dan Kinetin memberikan hasil berbeda nyata pada uji F taraf 5%. Perlakuan I dengan

pemberian Kinetin 1 mg/L+ NAA 0,025 mg/L memberikan hasil eksplan yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu dengan rata-rata tinggi 4,63 cm, sedangkan untuk hasil tinggi eksplan paling pendek diantara semua perlakuan ditunjukkan pada perlakuan E dengan konsentrasi 1 mg/L BAP + 0,025 mg/L NAA yang memberikan hasil rata-rata tinggi 1,59 cm.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Persentase Eksplan Hidup

Persentase eksplan yang hidup menunjukkan keberhasilan pada saat proses pembuatan media, sterilisasi eksplan hingga proses penanaman di dalam laminar. Tingkat ketelitian pada tahap-tahap tersebut akan mempengaruhi persentase eksplan tanaman yang hidup per minggunya. Pada Gambar 2 dapat dilihat histogram perkembangan dari persentase eksplan yang hidup setiap minggunya memiliki kecenderungan terus menurun pada sebagian besar perlakuan. Penyebab menurunnya persentase eksplan hidup setiap minggunya adalah kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Penelitian yang dilakukan oleh Susilowati (2001) juga menunjukkan meskipun semua kegiatan subkultur dilakukan didalam LAFC yang telah disterilisasi dengan alkohol 70% dan penyinaran UV selama 1-2 jam, namun ternyata masih terjadi kontaminasi setelah masa inkubasi 3 hari. Kemudian faktor lingkungan didalam laboratorium seperti temperatur, intensitas cahaya, tingkat kelembaban juga mempengaruhi persentase hidup pada penelitian ini. Hasil pada Gambar 2 menunjukkan hasil yang berbeda antar perlakuan pada persentase eksplan yang hidup setiap minggunya. Pada akhir pengamatan yaitu pada 56 HST, tidak ada perlakuan yang memiliki tingkat keberhasilan eksplan hidup 100 %.

Dari keseluruhan eksplan yang ditanam, rata-rata persentase eksplan hidup pada akhir pengamatan (56 HST) berada pada kisaran 40-80 %. Perlakuan BAP 0,5 mg/L dan perlakuan Kinetin 1 mg/L menunjukkan angka persentase hidup yang paling tinggi yaitu 80 %. Sedangkan perlakuan BAP 1 mg/L menunjukkan angka persentase hidup paling rendah yaitu 40 %. Hal ini terjadi karena kemampuan eksplan untuk berkembang berbeda-beda dikarenakan ketersediaan unsur pendukung pertumbuhan pada media tumbuhnya yang

berbeda. Ketersediaan unsur penunjang pertumbuhan yang terdapat pada media serta kesesuaian unsur tersebut terhadap kebutuhan eksplan menjadi faktor penting bagi pertumbuhan eksplan disamping faktor kesesuaian lingkungan. Penelitian Haddani (2010) menyatakan bahwa ketersediaan zat pengatur tumbuh yang berbeda akan memberikan hasil yang beragam pada kegiatan multiplikasi serta respon yang berbeda yang diberikan oleh eksplan terhadap kombinasi unsur didalam media tumbuhnya tersebut. Kemudian Gaspar *et al.* (1996) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh jarang bekerja sendiri untuk sebagian besar proses fisiologis, zat pengatur tumbuh saling berinteraksi untuk menghasilkan hasil efek bagi pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Menurut Odutayo *et al.* (2007) kontaminasi merupakan faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan yang dapat berasal dari (1) bahan tanaman baik eksternal maupun internal, (2) organisme kecil yang masuk ke dalam media, (3) botol kultur dan peralatan yang kurang steril, (4) lingkungan kerja dan ruang kultur, dan (5) kecerobohan dalam pelaksanaan. Pada minggu pertama (HST 7) penelitian ini ditemukan kultur yang terkontaminasi jamur dan bakteri dan juga eksplan yang mati. Hal ini diduga akibat proses sterilisasi alat yang digunakan pada saat penanaman kurang baik berjalan baik dan ukuran dari beberapa eksplan yang kurang memenuhi syarat. Pada pertumbuhan jaringan meristem, jaringan yang mati dapat disebabkan terlalu kecilnya ukuran eksplan, sehingga kemampuan tumbuhnya tidak dapat dipertahankan. Penyebab lain adalah pemotongan jaringan yang kurang hati-hati sehingga sebagian sel-sel jaringan meristem rusak. Sel-sel tersebut dapat juga mati karena pengaruh panas dari alat-alat yang digunakan pada waktu pemotongan atau penanaman eksplan. Pengaruh lingkungan di ruang penyimpanan terhadap terjadinya kontaminasi pada eksplan yang dikulturkan perlu untuk diperhatikan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Gunawan (1995) bahwa sumber kontaminasi dapat berasal dari eksplan tumbuhan, organisme kecil yang masuk ke dalam media, alat yang tidak steril dan lingkungan kerja yang kotor. Sehingga harus dilakukan sterilisasi lingkungan kerja, alat-alat, media dan bahan tanaman.

Pada umur 28 HST, semua perlakuan mengalami kontaminasi, diduga karena temperatur didalam ruang penyimpanan yang meningkat dari awalnya pada

19°C naik menjadi sekitar 24°C. Temperatur ruang penyimpanan serta kelembaban yang tidak stabil ini menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya kontaminasi. Perubahan temperatur ruang penyimpanan ini diduga memicu perubahan aktivitas fisiologis eksplan serta unsur biologis lain didalam ruang penyimpanan sehingga menyebabkan terjadinya kontaminasi bakteri dan juga jamur yang terjadi hampir pada semua perlakuan pada umur 28 HST. Hal ini diperkuat dengan terjadinya kontaminasi pada kultur lain yang bukan bagian dari penelitian ini namun disimpan di tempat penyimpanan yang sama. Pada penelitian ini, dalam setiap minggu pengamatan, hampir selalu ditemukan botol yang terkontaminasi bakteri maupun jamur. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sinta *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa udara didalam ruang penanaman dan penyimpanan menjadi salah satu sumber kontaminan namun tidak menjadi faktor utama penyebab kontaminasi. Kemudian hasil penelitian Odutayo *et al.* (2007) menyatakan bahwa pada laboratorium di daerah tropis, lingkungan dan pelaksana kultur merupakan salah satu sumber kontaminan. Sehingga *good laboratory practices* dalam proses kultur jaringan mutlak diperlukan untuk menghindari dan menurunkan tingkat kontaminasi.

#### **4.2.2 Waktu Muncul dan Jumlah Tunas**

Saat muncul tunas ditandai dengan munculnya tunas adventif sebesar ujung jarum yang berwarna hijau. Tunas ini dapat berkelompok maupun tunggal yang muncul dari ketiak daun dan pangkal batang. Tunas yang terbentuk merupakan hasil diferensiasi dari eksplan. Pada penelitian dengan menggunakan sitokinin BAP dan Kinetin ini, perlakuan yang diberikan tidak memberikan hasil yang berbeda nyata.

Jumlah tunas yang tumbuh dapat diindikasikan sebagai keberhasilan dalam kegiatan kultur jaringan yang tujuannya adalah untuk kegiatan multiplikasi. Semakin banyak tunas yang terbentuk maka semakin baik. Penambahan hormon sitokinin serta unsur hara yang tersedia pada media tidak secara mutlak mempengaruhi pembentukan tunas, karena pada setiap tanaman pada umumnya memiliki hormon sitokinin endogen yang mampu memicu pertumbuhan tunas dengan sendirinya. Pada penelitian ini semua jenis perlakuan mampu untuk

menghasilkan tunas. Jumlah tunas diamati pada akhir penelitian yaitu 56 HST. Rata-rata jumlah tunas eksplan tanaman stroberi pada perlakuan konsentrasi BAP dan Kinetin dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan pada Tabel tersebut, dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah tunas pada perlakuan C dengan konsentrasi BAP 0,5mg/L + NAA 0,025 mg/L mampu memberikan rata-rata hasil jumlah tunas paling tinggi sejumlah 12,33 tunas. Sedangkan untuk perlakuan G dengan konsentrasi Kinetin 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan I dengan konsentrasi Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memiliki rata-rata jumlah tunas paling sedikit dengan rata-rata sejumlah 3 tunas.



Gambar 4. Tunas yang terbentuk

Hal ini diduga disebabkan hormon sitokinin endogen yang terdapat pada eksplan telah mampu mendorong pembentukan tunas, sehingga tidak membutuhkan hormon sitokinin eksogen dalam konsentrasi yang terlalu tinggi. Kemudian dari perlakuan BAP 0,5mg/L + NAA 0,025 mg/L yang memberikan hasil tunas paling banyak menunjukkan bahwa komposisi sitokinin BAP dan auksin NAA yang diberikan mampu memicu pertumbuhan tunas lebih baik dibanding komposisi sitokinin Kinetin + auksin NAA pada kultivar *Earlibrite* ini. Penggunaan sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin akan bekerja secara spesifik terhadap tujuan dari kultur dan memberikan hasil yang bervariasi terhadap berbagai konsentrasi dan jenis sitokinin yang digunakan. Hal ini didukung oleh pernyataan George dan Sherrington (1984) bahwa peningkatan jumlah tunas adventif dengan menggunakan sitokinin saja sudah efektif tetapi jumlah tunas akan lebih optimal jika sitokinin dikombinasikan dengan auksin

dengan konsentrasi auksin yang lebih rendah. Kemudian dijelaskan oleh Hartmann dan Kester (2002) bahwa hubungan antara rasio sitokinin dan auksin pada organogenesis dalam kultur jaringan menunjukkan bahwa rasio sitokinin yang lebih tinggi dibanding auksin akan memicu pertumbuhan tunas, sedangkan jika rasio auksin lebih tinggi daripada sitokinin maka akan memicu pertumbuhan akar, maka dari itu harus ada rasio yang seimbang untuk memicu pertumbuhan dari tunas maupun akar. Konsentrasi dari pemberian hormon BAP yang tidak terlalu tinggi namun mampu memicu multiplikasi tunas yang lebih banyak juga ditunjukkan pada penelitian Sorvari *et al.* (1993) yang menunjukkan bahwa perlakuan BAP dengan konsentrasi BAP 3 mg/L + IBA 0,1 mg/L mampu memberikan jumlah tunas paling tinggi dibanding dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan konsentrasi sitokinin dan auksin sangat mempengaruhi aktivitas pembentukan tunas. Kemudian hasil penelitian Haddadi *et al.* (2010) menunjukkan bahwa dari kombinasi perlakuan TDZ dan BAP yang diberikan pada media, hasil tunas terbanyak tidak terdapat pada konsentrasi pemberian hormon yang paling tinggi, akan tetapi diperoleh dari rasio konsentrasi yang seimbang antara TDZ dan BAP. Kemudian jenis eksplan serta perbedaan karakter genetik pada kultivar memungkinkan untuk menghasilkan respon pertumbuhan tunas yang berbeda.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa hormon BAP lebih mampu untuk memperbanyak tunas jika dibanding dengan Kinetin secara spesifik pada eksplan stroberi kultivar *Earlibrite*, Penelitian Maulida (2005) menunjukkan hasil bahwa BAP bersifat lebih mampu merangsang multiplikasi tunas dibanding Kinetin. Penelitian Siregar (2013) menunjukkan jumlah tunas adventif yang paling banyak diperoleh pada media perlakuan BAP 1,0 mg/L + NAA 0,025 mg/L serta BAP 1,0 mg/L pada kultivar *Festival*. Hal ini diduga karena tingkat kebutuhan hormon yang berbeda pada eksplan serta pengaruh dari karakter genetik eksplan yang berbeda dalam merespon dan menyerap hormon eksogen yang di berikan. Menurut Bhojwani dan Rhazdan (1983) perubahan kemampuan penggandaan diduga oleh berubahnya fisiologi sel. Pada awal subkultur, sel masih sangat sensitif terhadap zat pengatur tumbuh namun setelah memasuki beberapa subkultur, sel mengalami perubahan sitologi menjadi tidak stabil sehingga kurang

sensitif terhadap zat pengatur tumbuh. Kemudian penelitian Roussos *et al.*(2015) menunjukkan bahwa penggunaan BAP dalam tujuan untuk perbanyak tunas memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan penggunaan hormon jenis Kinetin, 2iP, FCF dan TDZ.

#### 4.2.3 Waktu Muncul, Jumlah dan Panjang Akar

Keberadaan akar bagi pertumbuhan tanaman memegang peranan yang penting dalam fase awal pertumbuhan, vegetatif maupun generatif, karena pada kegiatan kultur jaringan, nutrisi dalam media tanam hanya dapat diserap melalui akar dan kemudian di bagi ke jaringan tumbuhan. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa akar berfungsi sebagai alat untuk menyerap unsur hara dan nutrisi serta sebagai penopang tubuh tanaman. Selain itu, akar juga berfungsi sebagai pengangkut dan tempat penyimpanan makanan. Keberadaan akar sangat dibutuhkan tanaman, oleh karena itu pada pembiakan vegetatif termasuk kultur jaringan, dilakukan berbagai upaya untuk membentuk perakaran. Pada penelitian ini, semua perlakuan BAP dan Kinetin mampu menginisiasi akar, namun kemampuan antar hormon dan konsentrasi dalam memicu pembelahan sel yang membentuk perakaran berbeda. Kesesuaian jenis hormon dan konsentrasi yang diberikan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap waktu muncul akar.

Hasil yang ditampilkan pada Tabel 4 menunjukkan pada perlakuan konsentrasi BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memiliki waktu muncul akar paling lama yaitu pada 40,50 HST. Sedangkan pada perlakuan hormon Kinetin, konsentrasi Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memberikan hasil saat muncul akar tercepat yaitu 12,66 HST. Jika dibandingkan antara hormon BAP dan Kinetin, terdapat perbedaan yang sangat signifikan diantara kedua jenis hormon tersebut. Penggunaan Kinetin + NAA lebih mampu menginduksi perakaran dibanding dengan penggunaan BAP + NAA. Kombinasi antara sitokinin Kinetin dan auksin NAA direspon dengan baik oleh eksplan kultivar *Earlibrite* dan memberikan hasil yang signifikan terhadap proses inisiasi akar. Hasil penelitian Aini (2012) menunjukkan bahwa penggunaan Kinetin 0,5 mg/L + IBA 0,5 mg/L mampu untuk memicu waktu muncul akar paling cepat. Kemudian menurut George dan Sherrington (1984), perkembangan akar pada kultur jaringan sangat

dipengaruhi oleh keberadaan auksin dalam eksplan. Kesesuaian auksin yang tersedia akan memberikan pembentukan formasi akar yang paling baik, namun penambahan hormon auksin sintesis yang berlebih, dapat menghambat dan meracuni eksplan.

Jumlah akar yang muncul dan tumbuh akan mempengaruhi tingkat penyerapan unsur yang dibutuhkan oleh eksplan dari media yang untuk berkembang dan membentuk sel, jaringan dan organ sehingga dapat menjadi tanaman utuh. Interaksi yang terjadi antara BAP, Kinetin dan NAA sebagai hormon eksogen dengan fitohormon (hormon endogen) yang ada dalam jaringan eksplan menghasilkan suatu jumlah yang sesuai untuk pembelahan sel perakaran.



Gambar 5. Akar yang terbentuk

Dari tabel 5 dapat dilihat hasil dari perlakuan yang diberikan, perlakuan I dengan konsentrasi pemberian Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memberikan jumlah akar yang lebih banyak dibanding semua perlakuan. Sedangkan perlakuan BAP 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memberikan hasil jumlah akar paling sedikit dibanding dengan perlakuan lainnya. Perbedaan yang sangat signifikan dapat dilihat dari kedua jenis sitokinin yang diberikan. Dimana sitokinin Kinetin yang dikombinasikan dengan auksin NAA lebih mampu dan memberikan perbedaan yang sangat nyata dalam menghasilkan jumlah akar dibandingkan dengan sitokinin BAP yang dikombinasikan dengan auksin NAA. Menurut Hartmann *et al.* (2002) pembelahan sel dipengaruhi oleh nisbah sitokinin dan auksin yang ditambahkan ke dalam media. Dalam penelitian

ini kombinasi Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L menghasilkan jumlah akar paling tinggi. Hasil penelitian Ashrafuzzaman *et al.* (2013) menunjukkan pemberian auksin dalam konsentrasi yang lebih rendah (0,5mg/L) mampu untuk menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak dibandingkan pemberian dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Kecenderungan Kinetin dalam menginisiasi perakaran yang lebih optimal dibanding BAP menunjukkan bahwa pada stroberi kultivar *Earlibrite* penggunaan kombinasi sitokinin Kinetin dengan auksin NAA akan sangat efektif pada fase pembentukan formasi perakaran.

Kemudian untuk pengamatan panjang akar, hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan kecenderungan yang sejalan dengan hasil pengamatan jumlah akar. Dimana penggunaan kombinasi Kinetin + NAA menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan jika dibandingkan dengan penggunaan kombinasi BAP + NAA. Pada Tabel 7 dapat dilihat penambahan konsentrasi Kinetin yang meningkat sampai dengan 1 mg/L memberikan hasil panjang akar yang semakin tinggi. Perlakuan Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memiliki rata-rata panjang akar tertinggi sebesar 2,50 cm. Sedangkan perlakuan BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L memiliki rata-rata panjang akar paling pendek dibanding semua konsentrasi perlakuan dengan panjang 0,81 cm. Menurut Haddadi (2009), kemampuan jaringan dalam membentuk akar bergantung pada konsentrasi hormon auksin eksogen yang ditambahkan ke dalam media. Pemberian auksin pada kultur jaringan memperhatikan fungsi dari setiap jenis auksin tersebut. Penambahan konsentrasi auksin jenis tertentu dapat menstimulasi pembentukan kalus namun menghambat elongasi akar. Pada penelitian ini, konsentrasi auksin yang digunakan sama untuk semua perlakuan yaitu 0,025 mg/L. Pengaruh dari kultivar, jenis bahan tanam serta konsentrasi BAP dan Kinetin yang diberikan diduga menjadi faktor yang mempengaruhi kerja auksin NAA dalam proses induksi akar. Hasil penelitian Rostiana (2007) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pemberian auksin NAA tidak memberikan hasil panjang akar yang semakin meningkat, namun malah menimbulkan efek penghambatan pada perpanjangan akar.

#### 4.2.4 Pengaruh Perlakuan Terhadap Komponen Pertumbuhan Eksplan

##### A. Jumlah Daun

Pada parameter pengamatan jumlah daun, hasil yang berbeda nyata ditunjukkan antara perlakuan BAP 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan perlakuan BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L dan Kinetin 0,25 mg/L + NAA 0,025 mg/L. Perlakuan BAP 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L memberikan hasil rerata jumlah daun tertinggi (Tabel 8). Pada penelitian ini peningkatan jumlah tunas yang muncul diikuti dengan jumlah daun yang terbentuk. Penelitian Julianto dan Suyadi (2009) menunjukkan bahwa interaksi antara sitokinin Kinetin dengan auksin NAA pada konsentrasi yang sesuai bagi eksplan mampu memicu pertumbuhan dan jumlah tunas dan daun yang optimal. Kemudian penelitian Siregar (2013) menunjukkan bahwa pada multiplikasi tunas stroberi kultivar *Festival*, kombinasi antara sitokinin BAP 0,5 mg/L + auksin NAA 0,025 mg/L mampu memberikan hasil yang optimal pada jumlah tunas dan jumlah daun yang terbentuk. Secara umum interaksi ZPT pada media dan jaringan eksplan akan menentukan arah perkembangan dari kultur tersebut. Tanaman yang berbeda dapat merespon ZPT (auksin dan sitokinin) dalam berbagai konsentrasi secara berbeda.

##### B. Diameter Klaster Planlet

Dari semua perlakuan pada parameter pengamatan diameter klaster planlet, hasil yang berbeda nyata ditunjukkan antara kontrol dengan perlakuan Kinetin 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L. Sedangkan antar perlakuan yang lain tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel 9). Penelitian Adak (2011) juga menunjukkan hasil bahwa pemberian kombinasi hormon sitokinin BAP + IAA + GA tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan baik dari faktor penambahan konsentrasi hormon maupun kultivar yang digunakan. Kemudian penelitian Fauzana (2012) juga menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan fisik seperti intensitas cahaya dan perbedaan temperatur ruang dengan perlakuan BAP + IAA memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap diameter batang eksplan. Hal ini diduga karena secara fisiologis eksplan stroberi yang memiliki

faktor pembatas genetik menyebabkan penambahan hormon tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perkembangan batang eksplan.

### C. Tinggi Eksplan

Pengaruh yang nyata pada parameter pengamatan tinggi eksplan ditunjukkan antara perlakuan hormon BAP 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan Kinetin 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L. Perlakuan Kinetin mampu memberikan rata-rata tinggi eksplan tertinggi. Namun perlakuan Kinetin tidak menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan jika dibanding dengan kontrol (Tabel 10). Pertambahan tinggi pada tanaman diduga karena aktivitas fisiologis sel yang disebabkan oleh interaksi yang terjadi antara penambahan ZPT. Menurut Chesworth *et al.* (1998), Terikatnya auksin pada membran sel tumbuhan akan mengaktifkan pompa proton yang menyebabkan sekresi proton dari dalam sel menuju dinding sel. Keadaan ini akan mengaktifasi enzim yang menghidrolisis polisakarida pada dinding sel atau melemahkan ikatan hidrogen antara komponen penyusun dinding sel dan mengakibatkan dinding sel menjadi meregang. Hal ini dikatakan bahwa auksin mampu merangsang proses pemanjangan sel. Efek yang terjadi adalah proses pemanjangan batang yang membuat tanaman mampu tumbuh tinggi.

Penelitian Nugroho (2012) menunjukkan bahwa perlakuan IAA tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan. Sedangkan perlakuan Kinetin secara tunggal berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan, sedangkan kombinasi IAA dengan Kinetin memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap tinggi eksplan. Penelitian Sukmadjaja dan Mulyana (2011) juga menunjukkan bahwa formulasi penambahan hormon IBA dan NAA pada media memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi eksplan dengan media kontrol yang tidak diberikan penambahan hormon. Hal ini terjadi karena formulasi media serta tingkat kebutuhan eksplan terhadap penambahan hormon eksogen menjadi faktor yang sangat menentukan tingkat kebutuhan eksplan terhadap penambahan ZPT sintetik.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa perlakuan BAP dengan konsentrasi 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L menunjukkan hasil terbaik terhadap multiplikasi tunas dan jumlah daun. Sedangkan perlakuan Kinetin dengan konsentrasi 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L menunjukkan hasil terbaik terhadap pembentukan perakaran, pembentukan klaster dan tinggi planlet. Kesimpulan pada penelitian ini adalah penggunaan hormon sitokinin BAP dan Kinetin memberikan arah perkembangan yang berbeda terhadap pertumbuhan eksplan. Penggunaan hormon sitokinin BAP memberikan hasil terbaik untuk tujuan multiplikasi tunas dan pembentukan daun. Sedangkan penggunaan hormon sitokinin Kinetin memberikan hasil terbaik pada pembentukan perakaran, pembentukan klaster dan tinggi planlet.

### 5.2 Saran

Perlakuan sitokinin BAP diberikan pada fase awal kultur yang ditujukan untuk multiplikasi tunas, dan sitokinin Kinetin diberikan pada fase pembentukan perakaran dengan dikombinasikan dengan auksin NAA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adak, N. 2011. Studies on determining the appropriate hormone concentrations on meristem culture of some strawberry (*Fragaria* spp.) cultivar. Elmalı Vocational School of Higher Education, Greenhouse Program, Akdeniz University. Antalya, Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 9(2):341-344.
- Afticha, F. 2012. Studi Pengaruh Jenis Penutup Botol Kultur dan Perendaman Air Terhadap Pertumbuhan Eksplan *Stevia rebaudiana* Bertoni M. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aini, S. 2012. Multiplikasi Tunas Jeruk Keprok Tawangmangu (*Citrus nobilis* L.) dengan Variasi Konsentrasi IBA dan Kinetin. Skripsi. Universitas Negeri Surakarta. Surakarta
- Ashrafuzzaman, M., S.M. Faisal., D. Yadav., D. Khanam, and F. Raihan. 2013. Micropropagation of Strawberry (*Fragaria ananassa*) Through Runner Culture, Bangladesh. *Journal Agricultural Resources*. 38(3):467-472.
- Bhatt, I.D., and U. Dhar. 2000. Micropropagation of Indian wild Strawberry. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 60(2) : 83-88.
- Bhojwani, S.S., and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practise* Elsevier. Amsterdam. Oxford, New York, Tokyo.
- Bozena, B. 2001. Morphological and Physiological Characteristics of Micropropagation Strawberry Plants Rooted in Vitro or ex Vitro. *Scienta Horticulture*. 8(9): 195-206.
- Biswas, M.K., U.K. Roy., R. Islam, and M. Hossain. 2010. Callus culture from leaf blade, nodal, and runner segments of three strawberry (*Fragaria* sp.) clones. *Turkey Journal Biology*. (34):75-80.
- Budiman, S. dan S. Desi. 2010. *Berkebun Stroberi Secara Komersial*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Chesworth, J.M., T. Stuchbury, and J.R. Scaife. 1998. *An Introduction to Agricultural Biochemistry*, Chapman and Hall, London.
- Gaspar, T., C. Kevers., C. Penel., H. Greppin., D.M. Reid, and T.A. Thorpe. 1996. *Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture*. In *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 3(2):272-289.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetis Ltd., England.
- Gunawan, L.W. 1995. *Teknik Kultur In Vitro Dalam Hortikultura*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Haddadi, F. and M.A. Aziz. 2010. Micropropagation of Strawberry cv. Camarosa: Shoot Regeneration from In Vitro Shoot Tips Using TDZ with N6-benzylamino-purine. *Horticulture science*. 45(3):453–456.
- Haddadi, F. 2009. Development of A Plant Regeneration System and Analysis of 101 Heat Shock Protein in Strawberry Cv. Camarosa Following Gene Bombardment. Disertasi. Universiti Putra Malaysia. Malaysia.
- Hannum, S.M. 2004. Potential impact of strawberries on human health. *Crit. Rev. Food Science Nutrition*. 4(4): 1-17.
- Hartmann H.T., D.E. Kester., F.T. Davies, and R. L. Geneve. 2002. *Plant Propagation Principles and Practices*, 7th Edition. Prentice Hall. New Jersey.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Media)*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Julianto, A.S. dan Teguh. 2009. Mikropropagasi Duku (*Lancium domesticum* L., cv. Kalikajar) Melalui Kultur pucuk. Fakultas Pertanian dan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Purwokerto. *Agritech*. 11(1):33–44.
- Kurnia, A. 2005. *Petunjuk Praktis Budi Daya Stroberi*. Jakarta : Agro Medika Pustaka.
- Maulida. 2005. Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IBA dan BAP pada Perbanyak Tanaman Jarak Kaliki (*Ricinus communis* L.) Varietas Bangkok secara In Vitro. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nasir, M. 2002. *Bioteknologi Potensi Dan Keberhasilannya dalam bidang Pertanian*. Jakarta. Grafindo Persada.
- Nugroho, K. 2012. Pengaruh Penambahan IAA dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) Varietas Pitaloka Secara In Vitro . Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Raharja, P.C. dan W. Wiryanta. 2003. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman*. Depok : Penerbit Agro Media Pustaka.
- Rostiana, O. dan D. Seswita. 2007. Pengaruh Indole Butyric Acid dan Naphtaleine Acetic Acid Terhadap Induksi Perakaran Tunas Pireterum [*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.)Vis.] Klon Prau 6 Secara In Vitro. *Buletin Littro*. 18(1):39-48.
- Roussos, P.A., A. Archimandriti and Ioulia. 2015. Improving in Vitro Multiplication of Juvenile European Chestnut (*Castanea sativa* Mill) Explants by the use of Growth Retardants. Agricultural University of Athens, Dept. of Crop Science, Laboratory of Pomology. *Horticulturae*. 19(8):254–256.

- Santoso, B. 2013. Zat Pengatur Tumbuh Dalam Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. Skripsi. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Siregar, A.S. 2013. Proliferasi Tunas Stroberi Secara In Vitro Menggunakan Eksplan Batang Planlet Hasil Kultur Meristem. Widyariset. 16(3):473-480.
- Sitepu, H.G. 2007. Mikropropagasi Tunas Stroberi (*Fragaria sp.*) dengan Pemberian NAA dan BAP pada Media MS. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sorvari, S., S. Ulvinen., T. Hietaranta, and H. Hiirsalmi. 1993. Preculture Medium Promotes Direct Shoot Regeneration from Micropropagated Strawberry Leaf Disks. Agricultural Research Center, Institute of Horticulture, SF-21500 Piikkiö, Finland. Hortscience. 28(1):55-57.
- Sukmadjaja, D. dan A. Mulyana. 2011. Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum L.*) secara In Vitro. Jurnal AgroBiogen. 7(2):106-118.
- Susilowati, A., dan L. Shanti. 2001. Keanekaragaman Jenis Mikroorganisme Sumber Kontaminasi Kultur In Vitro di Sub-Lab. Biologi Laboratorium MIPA pusat UNS. Biodiversitas. 2 :110-114.
- Taji, A.M., P. Kumar, and P. Lakshmanan. 2002. In Vitro Plant Breeding. New York: Haworth Press, Inc.
- Wijoyo, M., dan Padmiarso. 2005. Rahasia Budi Daya Dan Ekonomi Stroberi. Agromedia Pustaka.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Żebrowska, A., and W. Pilis. 2004. The Effects of Graded Exercise on Prostate Specific Markers Activity and Reproductive Hormonal Profiles. Dept. of Physiology, Academy of Physical Education, Katowice, Poland. Biology Sport. (2)1:93-102.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya. Bumi Aksara. Jakarta.

**Lampiran 1.****Komposisi Media MS ( Sigma Aldrich® MS Powder)**

<b>Component</b>	<b>mg/L</b>
Ammonium nitrate	1650.0
Boric acid	6.2
Calcium chloride anhydrous	332.2
Cobalt chloride • 6H <sub>2</sub> O	0.025
Cupric sulfate • 5H <sub>2</sub> O	0.025
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.26
Ferrous sulfate • 7H <sub>2</sub> O	27.8
Magnesium sulfate	180.7
Manganese sulfate • H <sub>2</sub> O	16.9
Molybdc acid (sodium salt) • 2H <sub>2</sub> O	0.25
Potassium iodide	0.83
Potassium nitrate	1900.0
Potassium phosphate monobasic	170.0
Zinc sulfate • 7H <sub>2</sub> O	8.6
Grams of powder to prepare 1 L	4.3
pH 1 0.5 at room temperature	3.9

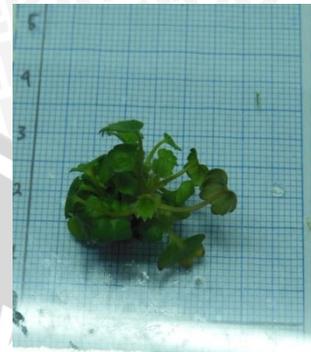
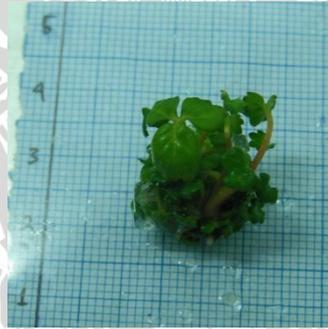
## Lampiran 2.

## Dokumentasi Hasil Penelitian

## 1. Tunas Terbentuk



Perlakuan A (Kontrol)

Perlakuan B (BAP 0,25 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan C (BAP 0,50 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan D (BAP 0,75 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan E (BAP 1,00 + NAA 0,025)  
mg/LPerlakuan F (Kinetin 0,25 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan G (Kinetin 0,50 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan H (Kinetin 0,75 + NAA  
0,025) mg/LPerlakuan I ( Kinetin 1,00 + NAA  
0,025) mg/L

2. Formasi Akar

 <p>Perlakuan A (Kontrol)</p>	 <p>Perlakuan B (BAP 0,25 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan C (BAP 0,50 + NAA 0,025) mg/L</p>
 <p>Perlakuan D (BAP 0,75 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan E (BAP 1,00 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan F (Kinetin 0,25 + NAA 0,025) mg/L</p>
 <p>Perlakuan G (Kinetin 0,50 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan H (Kinetin 0,75 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan I (Kinetin 1,00 + NAA 0,025) mg/L</p>

3. Komponen Pertumbuhan ( Tinggi dan Diameter Batang,JumlahDaun)

 <p>Perlakuan A (Kontrol)</p>	 <p>Perlakuan B (BAP 0,25 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan C (BAP 0,50 + NAA 0,025) mg/L</p>
 <p>Perlakuan D (BAP 0,75 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan E (BAP 1,00 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan F (Kinetin 0,25 + NAA 0,025) mg/L</p>
 <p>Perlakuan G (Kinetin 0,50 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan H (Kinetin 0,75 + NAA 0,025) mg/L</p>	 <p>Perlakuan I ( Kinetin 1,00 + NAA 0,025) mg/L</p>

**Lampiran 3. Analisis Ragam**

Anova Waktu Muncul Akar

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
PERLAKUAN	2498,547963	8	312,3185	33,48429	2,8730 **
Residual	167,8916667	18	9,327315		
Total	2666,43963	26	102,5554		

C.V. (%): 12,2389258500946

S.E.M.: 1,76326541912204

S.E.D.: 2,49363386978586

LSD (p<0.05): 5,23893035732467

LSD (p<0.01): 7,17777665498342

Anova Waktu Muncul Tunas

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
PERLAKUAN	35,03296296	8	4,37912	0,611791	0,756764
Residual	128,8416667	18	7,15787		
Total	163,8746296	26	6,30287		

C.V. (%): 22,3020472018797

S.E.M.: 1,54465426232651

S.E.D.: 2,18447100695957

LSD (p<0.05): 4,58940328478888

LSD (p<0.01): 6,28786975795647

Anova Jumlah Tunas

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
PERLAKUAN	204,6666667	8	25,58333	10,46591	2,225 **
Residual	44	18	2,444444		
Total	248,6666667	26	9,564103		

C.V. (%): 27,0600909220583

S.E.M.: 0,90267093384844

S.E.D.: 1,27656947700845

LSD (p<0.05): 2,68197295014603

LSD (p<0.01): 3,67452924888388



Anova Panjang Akar

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
PERLAKUAN	84,4930963	8	10,56164	6,596168	0,000451	**
Residual	28,8212	18	1,601178			
Total	113,3142963	26	4,358242			

C.V. (%): 49,2293465001867

S.E.M.: 0,730565483667224

S.E.D.: 1,03317561520385

LSD (p<0.05): 2,17062142142136

LSD (p<0.01): 2,97393450624936

Anova Jumlah Daun

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
PERLAKUAN	349,3333333	8	43,66667	3,127321	0,021195	*
Residual	251,3333333	18	13,96296			
Total	600,6666667	26	23,10256			

C.V. (%): 29,7613658775225

S.E.M.: 2,15738753766084

S.E.D.: 3,05100671505466

LSD (p<0.05): 6,40992725258174

LSD (p<0.01): 8,7821412112106

Anova Diameter Batang

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
PERLAKUAN	2,059066667	8	0,257383	2,832308	0,031716	*
Residual	1,635733333	18	0,090874			
Total	3,6948	26	0,142108			

C.V. (%): 15,8104861958037

S.E.M.: 0,174044126659568

S.E.D.: 0,246135564373341

LSD (p<0.05): 0,51711163207912

LSD (p<0.01): 0,708486570272585



Anova Tinggi Eksplan

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
PERLAKUAN	26,75636296	8	3,344545	3,751017	0,009445 **
Residual	16,04946667	18	0,891637		
Total	42,80582963	26	1,646378		

C.V. (%): 29,3587796491971

S.E.M.: 0,545171849675875

S.E.D.: 0,770989423635648

LSD (p<0.05): 1,61978867290887

LSD (p<0.01): 2,21924716104626

Anova Jumlah Akar

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
PERLAKUAN	1111,851852	8	138,9815	10,570	2,077 **
Residual	236,6666667	18	13,14815		
Total	1348,518519	26	51,8661		

C.V. (%): 42,19957466917

S.E.M.: 2,09349374237964

S.E.D.: 2,96064724321649

LSD (p<0.05): 6,2200890466524

LSD (p<0.01): 8,52204685037634

