

**Pengaruh Perlakuan BA dan NAA terhadap Pembentukan Akar Nenas  
(*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv. *Smooth Cayenne* Secara *In Vitro***

(Effect Of BA and NAA Treatments on rooting formation of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv. *Smooth Cayenne* by In Vitro Culture)

Rosmaina

Department of Agrotechnology, Faculty of Agricultural and Animal Science, State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau, UIN SUSKA Campus at Panam, PO Box 1004, Pekanbaru 28293, Riau, Indonesia, Tel.+62-761-562051, Fax +62-761-562052.  
E-mail: rosmainabarat@yahoo.com

**ABSTRACT**

The objectives of this research are to study the effect of shoot multiplication media and subculture on root formed and survive of plantlet during acclimatization. Plant material was used that explants of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv *Smooth Cayenne* which resulting from multiplication with several concentrations of BA and NAA which are subculture two times. The results of this research showed that all treatments of multiplication medium do not difference significance on explants capability to root formed and survive during acclimatization, but re-subculture effect on plantlet survival during acclimatization which all treatments at first subculture showed result better than second subcultures. It's showed

Keywords: Pineapple, Benzyl Adenine (BA),  $\alpha$ -Naphthyl alenea Acetic Acid (NAA), root formation

**PENDAHULUAN**

Nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang penting karena bernilai ekonomis dan mempunyai nilai gizi yang tinggi. Nenas memiliki banyak macam dan jenis, Smith dan Downs (1979) mengelompokkan nenas berdasarkan karakteristik daun dan buahnya, menjadi lima kelompok yaitu : *Cayenne*, *Spanish*, *Queen*, *Abacaxi*, dan *Maipure*.

Nakasone dan Paull (1999) menyatakan bahwa nenas *Cayenne* merupakan jenis yang paling banyak ditanam di dunia, seperti di Filipina, Thailand, Hawaii, Kenya, Meksiko, dan Taiwan Wee dan Thongtham (1992). Sedangkan di Indonesia Nenas yang banyak ditanam adalah kelompok *Cayenne* dan *Queen*, seperti di Subang Jawa Barat, Palembang, Lampung, Solok, Semarang, dan Barabai (Lombok) (Deptan, 2005).

Nenas jenis *Cayenne* disebut juga *Smooth Cayenne* karena sepanjang daunnya tidak berduri kecuali di ujung daun saja. Nenas jenis ini selain dikonsumsi segar juga diproduksi dalam bentuk olahan, berupa buah kaleng, *juice*, dan keripik buah nenas.

Kendala yang dihadapi dalam pengembangan agroindustri nenas adalah terbatasnya penyediaan bibit dalam jumlah besar, seragam, cepat, dan kontinyu. Namun

sampai sejauh ini tanaman nenas kultivar *Smooth Cayenne* diketahui memiliki jumlah anakan di lapang yang sedikit (maksimal 3-4 anakan), berbeda dengan jenis *Queen* yang dapat mencapai 20 anakan (PKBT, 2004).

Teknik perbanyakan mikro (*in vitro*) merupakan alternatif yang dapat dikembangkan untuk menghasilkan bibit nenas dalam jumlah besar dan dalam waktu yang relative singkat. Teknik kultur jaringan telah digunakan dalam perbanyakan tanaman nenas, antara lain dilaporkan oleh Zepeda dan Sagawa (1981); Firoozabady dan Gutterson (2003); Kiss *et al.*, (1995), Firoozabady dan Moy (2004); Sripoaraya *et al.* (2003), Gangopadhyay *et al.*, (2005); Fernadez dan Pomilia (2003); Teng (1997), dan Escalona *et al.*, (1999).

Pada umumnya nenas yang diperbanyak secara *in vitro* belum memiliki sistem perakaran yang baik. Penggunaan sitokinin pada konsentrasi tinggi pada beberapa tanaman menghambat pembentukan akar, dan pemanjangan tunas (Chang dan Chang 2000), menghasilkan tunas hiperhidrik (Konan *et al.* 1997), Membentuk kalus pada bagian dasar eksplan (Lakshamana *et al.* 1997), dan dapat menyebabkan fitrifikasi atau suatu kondisi fisiologis *in vitro* yang menyebabkan disorganisasi seluler (Ziv , 1991).Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh sistem perakaran planlet nenas yang kompak secara *in vitro* pada media perakaran, sehingga diperoleh planlet nenas dengan keragaan yang bagus dan

perakaran yang kompak dan berdampak pada pertumbuhan tanaman nenas di lapang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan BA dan NAA terhadap kemampuan eksplan untuk membentuk akar pada media perakaran.

## BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah planlet yang berasal dari media multiplikasi BA dan NAA pada berbagai taraf konsentrasi di Laboratorium Kultur Jaringan PKBT (Pusat Kajian Buah-buahan Tropika) IPB. Bahan kimia yang dibutuhkan adalah media dasar Murashige and Skoog (1962), yang dilengkapi dengan 30 g/l gula dan 6 gr/l agar, zat pengatur tumbuh (NAA), pH media diatur 5.6-5.8. Alat yang digunakan adalah peralatan tanam kultur jaringan, pH meter, timbangan, LAFK (*Laminar Air Flow Cabinet*), dan autoklaf. Untuk aklimatisasi digunakan media kompos : pasir (3:1)

Penelitian ini dibagi dalam 2 tahapan yaitu: (1) Induksi akar pada media perakaran (2). Aklimatisasi planlet yang telah berhasil membentuk akar. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah eksplan hasil perbanyakan dari perlakuan BA dengan 5 taraf konsentrasi yaitu 0.00  $\mu\text{M}$ , 4.44  $\mu\text{M}$ , 8.88  $\mu\text{M}$ , 13.32  $\mu\text{M}$ , dan 17.76  $\mu\text{M}$ . Faktor kedua adalah eksplan yang berasal dari media multiplikasi NAA dengan 4 taraf konsentrasi yaitu 0.00  $\mu\text{M}$ , 0.50  $\mu\text{M}$ , 1.00  $\mu\text{M}$  dan 2.00  $\mu\text{M}$ . Terdapat 20 kombinasi perlakuan, dengan 6 kali ulangan untuk setiap kombinasi perlakuan, sehingga terdapat 120 satuan percobaan. Setiap satu satuan percobaan terdiri dari 1 botol kultur dengan 3 eksplan per botol kultur.

### Induksi Akar Pada Media Perakaran

Eksplan dari perlakuan BA dan NAA dipindahkan ke media MS0 (media untuk pembesaran dan pemanjangan tunas) selama 30 hari. Selanjutnya eksplan dipindahkan ke media induksi akar yaitu MS + 0.50  $\mu\text{M}$  NAA selama  $\pm$  30-35 hari. Pengamatan pada media induksi akar dilakukan setiap minggu (1-5 MST). Peubah yang diamati meliputi jumlah akar, persen tanaman berakar, jumlah tunas, persen tanaman bertunas,

sedangkan panjang akar, dan jumlah daun dihitung pada saat minggu terakhir.

### Aklimatisasi

Media pengakaran planlet dikeluarkan dari botol kultur, kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa agar yang menempel pada akar, kemudian ditanam pada media aklim yaitu kompos:pasir (3:1) dan di letakkan dalam *screen house* selama  $\pm$  3 bulan sebelum dipindah kelapang. Pada saat aklimatisasi pengamatan dilakukan terhadap persentase hidup planlet, jumlah daun dan tinggi tanaman.

Data yang diperoleh dilakukan uji *anova*, Jika hasilnya berbeda nyata maka dilakukan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Semua analisis dilakukan dengan menggunakan program SAS System.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Inisiasi dan Pembentukan Akar*

Tahap multiplikasi dapat merupakan tahap pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar yang tumbuh dari mata tunas adventif secara bersama-sama. Tahap berikutnya adalah tahap pengakaran dari tunas adventif yang telah dihasilkan untuk mendapatkan planlet. Morfologi tanaman pada media perakaran ditunjukkan pada Gambar 1. Daun-daun baru yang terbentuk berwarna hijau hampir pada semua perlakuan. Akar mulai terbentuk pada 2 MST dengan morfologi yang kompak serta kuat.

Persentase eksplan berakar, jumlah akar dan tinggi tanaman tidak dipengaruhi oleh BA, NAA dan interaksi keduanya. Hal ini diduga karena pemindahan eksplan pada media dasar MS merubah rasio auksin/sitokinin endogen pada eksplan. Pada subkultur 1 dan subkultur 2, 83.3%-100% eksplan mampu membentuk akar, dengan rata-rata 3,6-5,4 akar/eksplan pada subkultur 1 dan 2,9-4,6 akar/eksplan pada subkultur 2. Demikian juga dengan tinggi tanaman, rata-rata tinggi tanaman berkisar 4,3-6,2 cm pada subkultur 1 dan 4,0-5,6 cm pada subkultur 2.



Gambar 1. Morfologi tanaman pada media perakaran pada 5 MST.

### Panjang Akar

Rata-rata panjang akar dalam media pengakaran ditunjukkan pada Tabel 1. Pada subkultur 1 perlakuan 17.76  $\mu\text{M}$  BA + 2.00  $\mu\text{M}$  NAA menghasilkan rata-rata akar terpanjang yaitu 4.20 cm per eksplan, berbeda nyata dengan perlakuan 13.32  $\mu\text{M}$  BA + 0.0-1.0  $\mu\text{M}$  NAA, 4.44  $\mu\text{M}$  BA + 2.0  $\mu\text{M}$  NAA dan 0.5  $\mu\text{M}$  NAA tanpa BA, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pada subkultur 2 akar terpanjang diperoleh pada kontrol, yaitu 4.01 cm dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 4.44  $\mu\text{M}$  BA, sedangkan akar terpendek adalah 2.01 cm diperoleh dari perlakuan 13.32  $\mu\text{M}$  BA + 0.5  $\mu\text{M}$

NAA. Nursandi (2005) melaporkan bahwa penambahan BAP lebih dari 8.88  $\mu\text{M}$  menyebabkan pemanjangan tunas terhambat dan tidak berakar.

Rataan panjang akar dari subkultur 1 secara umum (hampir pada semua perlakuan) lebih tinggi dibandingkan subkultur 2, hal ini diduga karena eksplan dari subkultur 2 lebih lama berada dalam media yang mengandung sitokinin dibandingkan subkultur 1 sehingga kandungan sitokinin endogen pada eksplan juga lebih tinggi. Hal inilah yang mungkin menyebabkan tinggi tanaman, jumlah akar dan jumlah daun pada subkultur 2 lebih rendah dari subkultur 1.

Tabel 1. Pengaruh Subkultur 1 dan Subkultur 2 terhadap Panjang Akar dalam Media Pengakaran pada 5 MST.

Subkultur	BA ( $\mu\text{M}$ )	Rata-rata panjang akar			
		NAA ( $\mu\text{M}$ )			
		0.00	0.50	1.00	2.00
1	0.00	3.10 abcd	2.80 bdc	3.70 abc	3.10 abcd
	4.44	3.80 ab	3.30 abcd	3.50 abc	2.60 dc
	8.88	3.40 abcd	3.20 abcd	3.20 abcd	2.90 abcd
	13.32	2.30 d	3.40 abcd	2.90 bdc	3.20 abcd
	17.76	3.50 abc	3.00 abcd	3.00 abcd	4.20 a
2	0.00	4.01 a	3.20 bc	3.00 bcde	2.30 ef
	4.44	3.50 ab	2.80 bcde	3.10 bcd	3.10 bcd
	8.88	2.90 bcde	2.80 bcde	2.80 cdef	3.20 bc
	13.32	-	2.10 f	2.90 bcde	3.10 bcd
	17.76	2.50 def	2.70 cdef	-	-

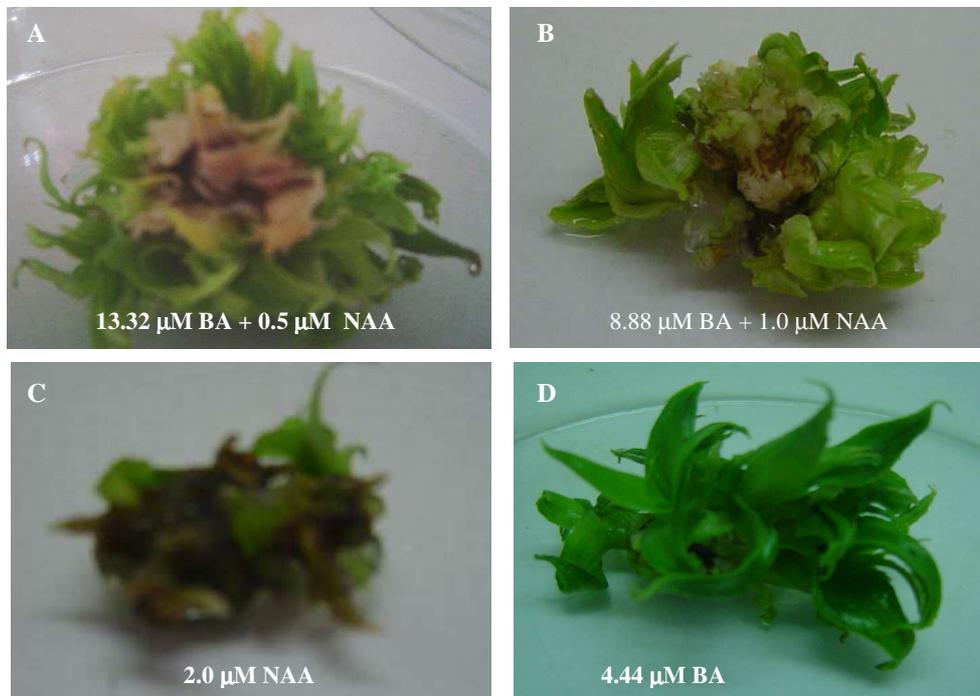
Keterangan : Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%. – tidak ada pengamatan.

Pendeknya akar yang diperoleh diduga karena eksplan masih membawa pengaruh sitokinin (BA) dari media multiplikasi tunas sebelumnya. Fenomena ini secara umum sejalan dengan konsep klasik Skoog dan Miller (1957) tentang pengontrolan organogenesis *in vitro*, yaitu bahwa ratio yang tinggi antara sitokinin dengan auksin merangsang multiplikasi tunas tetapi menghambat pengakaran, sedangkan

kondisi sebaliknya akan merangsang pengakaran tetapi menghambat pembentukan tunas. Dari hasil percobaan ini ditemukan bahwa panjang akar yang pendek terdapat pada eksplan yang memiliki multiplikasi yang relatif tinggi yaitu perlakuan 8.88  $\mu\text{M}$  BA + 0.5  $\mu\text{M}$  NAA dan 13.32  $\mu\text{M}$  BA + 0.5  $\mu\text{M}$  NAA (Gambar 2). Pada Gambar 2A dan 2B terlihat eksplan yang memiliki laju multiplikasi yang tinggi, tetapi jika di

hubungkan dengan jumlah daun dan panjang akar, perlakuan ini menghasilkan jumlah daun yang relatif sedikit dan perakaran yang lebih pendek. Sedangkan pada Gambar 2D, tunas yang dihasilkan normal dengan ukuran sedang, tetapi multiplikasinya tidak terlalu banyak, dan

jika dihubungkan dengan panjang akar dan jumlah daun, perlakuan ini menghasilkan akar yang panjang dan jumlah daun yang lebih banyak.



Gambar 2. Multiplikasi pada tanaman nenas. [A-B] tunas dengan multiplikasi yang tinggi, [C] tunas tidak normal, primordia tunas dan akar tidak bisa dibedakan, [D] tunas normal.

### Jumlah Daun

Rata-rata jumlah daun terbanyak pada subkultur 1 diperoleh dari perlakuan 13.32  $\mu\text{M}$  BA tanpa NAA yaitu 9.0 helai/eksplan, tidak berbeda nyata dengan 8.88  $\mu\text{M}$  BA tanpa NAA yaitu 7.80 helai/eksplan dan 17.76  $\mu\text{M}$  BA tanpa NAA yaitu 7.30 helai/eksplan, sedangkan jumlah daun terendah diperoleh pada perlakuan 4.44  $\mu\text{M}$  BA tanpa NAA yaitu 5.70 helai/eksplan (Tabel 2). Planlet yang lebih vigor, adalah planlet yang memiliki jumlah dan lebar daun yang tinggi sehingga akan lebih tahan terhadap stres *ex vitro* (Olmedo- gonzalez *et al.* 2005).

Pada media perakaran tidak terlihat perbedaan yang mencolok terhadap peubah yang diamati antar perlakuan, baik pada subkultur 1 maupun subkultur 2. Hal ini diduga karena sebelum diakarkan, eksplan terlebih dahulu dipindah ke media dasar MS untuk pembesaran dan pemanjangan, sehingga kandungan atau nisbah fitohormon berubah, diduga hal ini yang menyebabkan keseragaman yang diperoleh pada media perakaran.

Tabel 2. Pengaruh Subkultur 1 terhadap Jumlah Daun pada Media Perakaran 5 MST

BA ( $\mu\text{M}$ )	Rata-rata jumlah daun			
	NAA ( $\mu\text{M}$ )			
	0.00	0.50	1.00	2.00
0.00	5.90 bc	6.70 bc	6.80 bc	6.70 bc
4.44	5.70 c	7.70 abc	6.50 bc	6.30 bc
8.88	7.80 abc	7.70 abc	5.70 c	7.00 abc
13.32	9.00 a	7.50 abc	6.10 bc	6.30 bc
17.76	7.30 abc	6.30 bc	6.30 bc	8.10 ab

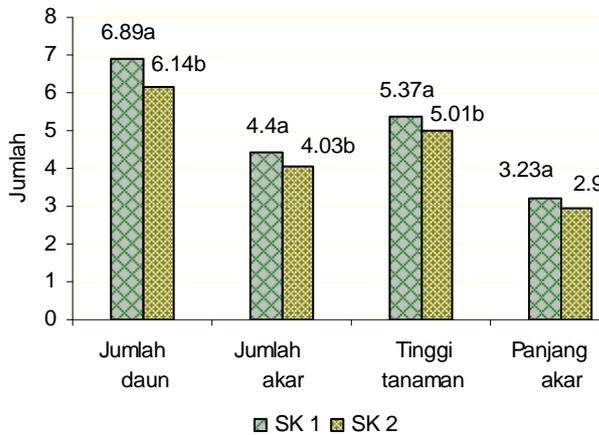
Keterangan : Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

### Pengaruh Subkultur Pada Media Pengakaran

Pengaruh subkultur terhadap jumlah daun, jumlah akar, panjang akar dan tinggi tanaman sangat berbeda nyata antara subkultur 1 dan subkultur 2. Subkultur 1 memiliki nilai yang lebih tinggi terhadap semua peubah yang diamati dibandingkan subkultur 2 (Gambar 2).

Secara umum semakin lama eksplan berada dalam media yang mengandung BA dan NAA, semakin banyak jumlah tunas yang dihasilkan, tetapi semakin rendah kualitas tanaman yang dihasilkan. Rendahnya kualitas

tanaman dilihat dari jumlah akar, jumlah daun, tinggi tanaman dan panjang akar yang terbentuk.



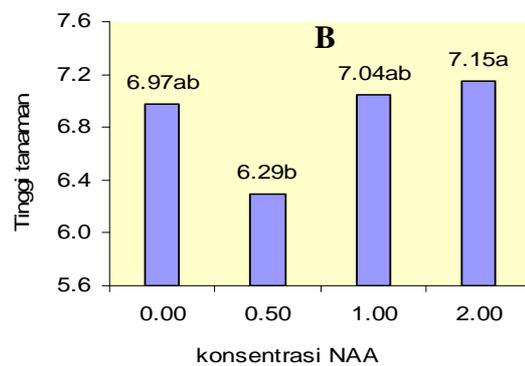
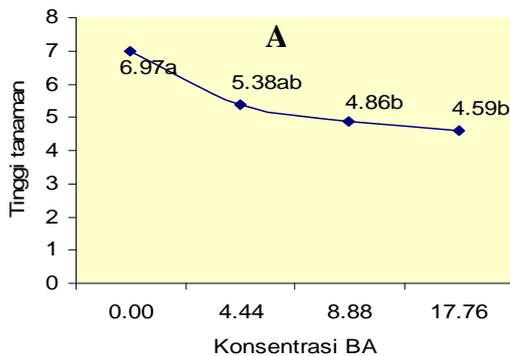
Gambar 2. Rata-rata jumlah daun, jumlah akar, tinggi tanaman dan panjang akar antar subkultur pada media pengakaran.

Semakin lama eksplan berada dalam media yang mengandung sitokinin, diduga kandungan sitokinin endogen eksplan akan semakin tinggi. Costa dan Dolan (2000) melaporkan bahwa sitokinin yang tinggi akan

menyebabkan pemanjangan tunas terhambat dan tanaman sulit berakar. Pada tanaman Lentil (*Lens culinaris*) dilaporkan planlet yang berasal dari media yang mengandung 1.25  $\mu\text{M}$  BAP dan 1.25  $\mu\text{M}$  TDZ tidak membentuk akar saat dipindah ke media MS tanpa zat pengatur tumbuh (Fratini dan Ruiz, 2002). Jumlah akar, panjang akar, jumlah daun dan tinggi tanaman sangat berkaitan dengan vigoritas dan kemampuan planlet dalam penyerapan hara, dan kemampuan hidup planlet saat diaklimatisasi. Yusnita (2003) menyatakan bahwa ukuran eksplan berpengaruh nyata terhadap keberhasilan kultur jaringan. Eksplan yang berukuran besar lebih tahan saat dipindahkan ke dalam kondisi lapang dan memiliki pertumbuhan lebih cepat.

### Aklimatisasi

Aklimatisasi dapat didefinisikan sebagai proses penyesuaian suatu organisme untuk beradaptasi pada lingkungan yang baru. Proses adaptasi ini sangat penting karena akan menentukan apakah tanaman yang berasal dari *in vitro* dapat bertahan atau tidak pada kondisi *in vivo*. Umumnya hasil kultur jaringan yang akan diaklimatisasi harus mempunyai perakaran dan pertunasan yang proporsional.



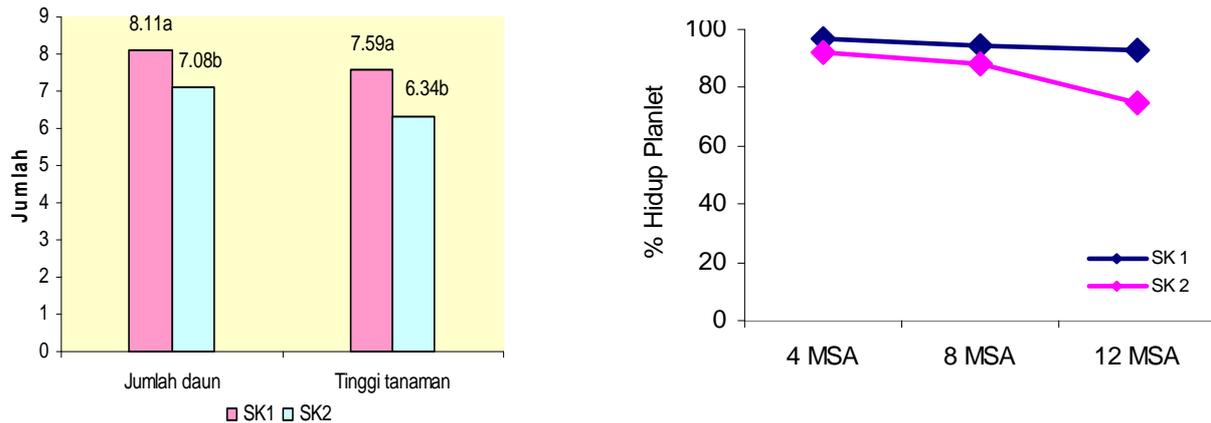
Gambar 3. Tinggi tanaman pada subkultur 2. [A] pengaruh konsentrasi BA ( $\mu\text{M}$ ), [B] Pengaruh konsentrasi NAA ( $\mu\text{M}$ ).

Aklimatisasi dilakukan setelah 5 minggu planlet berada dalam media pengakaran. Rata-rata jumlah daun pada subkultur 1 adalah 8.0 helai/planlet. Jumlah daun yang dihasilkan berkisar dari 5.6-10.0 helai/planlet. Sedangkan pada subkultur 2 jumlah daun yang dihasilkan lebih sedikit yaitu berkisar 3.3-9.1 helai.

### Persen Hidup

Pada subkultur 1 sampai 12 MSA, persen hidup planlet berkisar 77.7-100%. Dimana persen hidup terkecil diperoleh dari

perlakuan 17.76  $\mu\text{M}$  BA + 0.5  $\mu\text{M}$  NAA, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada subkultur 2 persen hidup planlet dipengaruhi oleh konsentrasi NAA. Perlakuan 0.5  $\mu\text{M}$  NAA menghasilkan persen hidup planlet terkecil yaitu 44.4%, sedangkan perlakuan 1.0  $\mu\text{M}$  NAA menghasilkan persen hidup planlet yang tinggi yaitu 88.8% dan tidak berbeda nyata dengan tanaman kontrol yang memiliki 83.3% (Gambar 4B).



Gambar 4. Pengaruh subkultur pada saat Aklimatisasi [3A] Jumlah daun dan tinggi tanaman pada Subkultur 1 dan Subkultur 2. [3B] persen hidup planlet pada subkultur 1 dan subkultur 2.

### Tinggi Tanaman

Pada subkultur 1, rata-rata tinggi tanaman pada 12 MSA adalah 7.6 cm. Tinggi tanaman yang dihasilkan berkisar dari 6.1-8.5 cm. Pada subkultur 2 tinggi tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi BA dan NAA faktor tunggal. Semakin tinggi konsentrasi BA yang ditambahkan, semakin pendek tanaman yang dihasilkan (Gambar 3A).

Perlakuan kontrol memberikan rataan tinggi tanaman tertinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 4.44  $\mu$ M BA. Pada NAA faktor tunggal tanaman terendah diperoleh dari penambahan 0.5  $\mu$ M NAA, tidak berbeda nyata dengan tanaman kontrol dan penambahan 1.0  $\mu$ M NAA yang menghasilkan tanaman lebih tinggi (Gambar 4B).

### Pengaruh Subkultur Pada Saat Aklimatisasi

Subkultur 1 memberikan tinggi tanaman, jumlah daun dan persen hidup yang lebih tinggi dibandingkan subkultur 2. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama eksplan berada dalam media multiplikasi BA dan NAA, maka kualitas tunas yang dihasilkan semakin rendah dan persen hidup atau kemampuan planlet untuk survive juga semakin rendah.

Persen hidup planlet dipengaruhi oleh kondisi planlet seperti panjang akar, jumlah akar, jumlah daun dan tinggi tanaman. Panjang dan jumlah akar akan berpengaruh terhadap kemampuan tanaman dalam menyerap unsur hara, sedangkan jumlah daun dan tinggi tanaman berpengaruh terhadap kemampuan tanaman berfotosintesis dan vigoritas

Pada tanaman *Ixora cocinea* L. dilaporkan subkultur berulang pada media BA menyebabkan terjadinya akumulasi sitokinin, dan menyebabkan tunas kerdil dan kumpulan tunas

tidak normal (Lakshmanan *et al.* 1997). Pada konsentrasi tinggi, sitokinin mendorong proliferasi, sebaliknya menghambat pembentukan akar. Pada *Cymbidium sinensis* willd sitokinin pada konsentrasi tinggi menghambat pemanjangan tunas dan inisiasi akar (Chang dan Chang 2000).

### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan secara umum perlakuan media multiplikasi tidak berpengaruh terhadap kemampuan eksplan untuk membentuk akar dan survive pada saat aklimatisasi, tetapi subkultur berulang lebih berpengaruh terhadap kemampuan eksplan untuk survive pada saat aklimatisasi. Hal ini terlihat pada semua perlakuan eksplan berhasil membentuk akar, walaupun pada SK-1 interaksi BA dan NAA berpengaruh nyata terhadap panjang akar dan jumlah daun sedangkan pada SK-2 BA, NAA dan interaksi keduanya mempengaruhi panjang akar. Tetapi pada saat aklimatisasi planlet dari SK-1 lebih survive dari SK-2 hal ini terlihat dari tinggi tanaman, jumlah daun dan persen hidup planlet SK-1 lebih tinggi dari SK-2.

### DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Pertanian Tanaman Pangan. 2005. Penuntun Budidaya Hortikultura (Nanas). Proyek Peningkatan Produksi Tanaman Pangan. Dinas Pertanian Tanaman Pangan. Propinsi Daerah Tingkat I Bengkulu. 238p.
- Escalona, M., J. C. Lorenzo, B. Gonzales, M. Daquinta, J. L. Gonzales, Y. Desjardins, C. G. Torroto. 1999. Pineapple (*Ananas*

- comosus* L. Merr.) micropropagation in temporary immersion system. *Plant Cell Reports* 18:743-748.
- Fernandez, G. and Alicia B. P. 2003. Optimized growth condition and determination of the catalytic type of peptidase complex from a novel callus culture of pineapple (*Ananas comosus*). *Molecular Medicinal Chemistry* 1:39-49.
- Firoozabady, E. and Y. Moy. 2004. Regeneration of pineapple plants via embryogenesis and organogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 40:67-74.
- Firoozabady, E. and N. Gutterson. 2003. Cost-effective *in vitro* propagation methods for pineapple. *Plant Cell Rep.* 21:844-850.
- Fratini R, Ruiz MR. 2002. Comparative study of different cytokinin in the induction of morphogenesis in lentil (*Lensculinaris medik*). *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 38:46-51.
- Gangopadhyay, G., Tanoy, B., Ramid, P., Sagita, G. and Kalyan, K. M. 2005. *Current Science* 88:972-977.
- Kiss, E., J. Kiss, G. Glylai and L. E. Hezky. 1995. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience* 30(1):127-129.
- Lakshmanan P, Lee CL, Goh CJ. 1997. An efficient *in vitro* method for mass propagation of a woody ornamental *Ixora coccinea* L. *Plant Cell Reports* 16: 572-577
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15: 473-497.
- Nakasone, H. Y. and R. E. Paull. 1999. Pineapple, p. 239-269. In Jeff Atherton and Alun Raes (Eds.). *Tropical Fruits*. CAB International Publishing. London.
- Konan NK, Schopke C, Carcamo R, Beachy RN, Fauquet C. 1997. An efficient mass propagation system for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) based on nodal explants and axillary bud derived meristem. *Plant Cell Reports* 16:444-449
- Nursandi F. 2005. Perbanyak in vitro tanaman nenas (*Ananas comosus* L. Merr.) dan analisis kestabilan genetik berdasarkan karakter morfologi, isozim dan RAPD. [Desertasi] Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Olmedo-Gonzalez JL, Fundora Z, Molina LA, Abdunour J, Desjardins Y and Escolena M. 2005. New contribution to propagation of Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) in temporary immersion bioreactors. *In Vitro Cell. dev. Biol.-Plant* 41:87-90
- PKBT, IPB. 2004. Pengembangan Teknologi Produksi Nenas, Laporan Kemajuan Tahap I RUSNAS, Pengembangan Buah-buahan Unggulan Indonesia, IPB, Bogor.
- Skoog, F. dan C. O. Miller. 1957. The biological action of growth substances. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-130.
- Smith, L. B. and Downs, R. J. 1979. Bromelioidees (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, New York Botanical Garden. New York.
- Sripaoraya, S., Robert Meerchant, J., Brian Power, and Michael, R. D. 2003. Plant regeneration by somatic embryogenesis and organogenesis in commercial pineapple (*Ananas comosus* L.). *In Vitro Cell. Dev. Biol.-plant* 39:450-454.
- Teng, W. L. 1997. An alternative propagation method of *Ananas* through nodul culture. *Plant Cell Reports* 16:454-457.
- Wee, Y. C. and M. L. C. Thongtham. 1997. *Ananas comosus* L. Merr, p. 68-76. In Verheij, E.W. M. and R. E. Coronel (Eds.). *PROSEA : Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2. Buah – Buah yang Dapat Dimakan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hal.
- Zepeda, C. and Y. Sagawa. 1981. *In vitro* propagation of pineapple. *Hortscience* 16(4):495.
- Zip M. 1991. Quality of micropropagated plants-vitrification. *In Vitro Cell Dev Biol* 27: 64-69