

Induksi Tunas *in vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar pada Berbagai Konsentrasi Sukrosa

SITI FATONAH*, MAYTA NOVALIZA ISDA, WAHYU LESTARI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Riau, Pekanbaru 28293
*email: fath0104@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi sukrosa yang paling efektif untuk menginduksi tunas dari eksplan kotiledon *Citrus nobilis* dari Kampar. Eksplan kotiledon dikultur pada medium Murashige dan Skoog (MS) yang mengandung sukrosa pada berbagai konsentrasi tanpa dilengkapi dengan regulator pertumbuhan. Perlakuan terdiri dari lima konsentrasi sukrosa, yaitu 0, 20, 30, 40, 50, 60 g/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua eksplan pada konsentrasi sukrosa yang berbeda memiliki persentase hidup dan persentase induksi tunas yang mencapai 100%. Respon terbaik untuk induksi tunas setelah delapan minggu pengamatan adalah pada media MS yang ditambah dengan 50 g/l sukrosa dengan jumlah tunas sebanyak dua, panjang tunas adalah 4.125 cm, dan jumlah daun adalah 5,74 helai.

Kata kunci: *Citrus nobilis* lour., , *in vitro*, induksi tunas, konsentrasi sukrosa

ABSTRACT

This study aimed to determine the most effective concentration of sucrose for a shoot induction from cotyledon explants of *Citrus nobilis* from Kampar. Cotyledon explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium containing sucrose at various concentrations without supplemented with growth regulators. The treatments consisted of five concentrations of sucrose, i.e. 0, 20, 30, 40, 50, 60 g /l. The result showed that all explants on different concentrations of sucrose treatment had the percentage of living and the percentage of shoot induction reached 100%. The best response for shoot induction after eight weeks of culture was observed on MS medium supplemented with 50 g/l sucrose with the number of shoot was 2, shoot length was 4,125 cm, and leaf number was 5,74 strands.

Key words: *Citrus nobilis* lour., concentration of sucrose, *in vitro*, shoot induction

PENDAHULUAN

Jeruk siam (*Citrus nobilis*) asal Kampar merupakan buah andalan propinsi Riau, yang mempunyai rasa manis, aroma harum, dan berkulit tipis. Saat ini perkebunan jeruk siam di Kabupaten Kampar semakin berkurang karena serangan hama dan penyakit, yang berdampak terhadap perubahan lahan dari perkebunan jeruk ke perkebunan kelapa sawit. Perlu upaya mempertahankan tanaman jeruk siam Kampar yang masih bertahan dan mengembangkannya. Untuk itu perlu pengadaan bibit dalam jumlah banyak. Upaya perbanyak bibit yang umum dilakukan adalah secara vegetatif dengan memanfaatkan tanaman induk melalui cangkok dan okulasi. Keterbatasan tanaman induk menjadi kendala dalam pengadaan bibit jeruk siam dalam skala besar. Teknik kultur jaringan (kultur *in vitro*) dapat dimanfaatkan dalam membantu upaya perbanyak bibit dalam jumlah banyak dan seragam.

Tahap awal pada teknik kultur *in vitro* untuk tujuan propagasi (perbanyak tanaman) adalah induksi tunas dari bahan tanaman (eksplan). Salah satu eksplan yang dapat digunakan untuk inisiasi tunas adalah kotiledon. Biji jeruk umumnya bersifat poliermbrioni, yang bila dikecambahkan menghasilkan dua macam anakan, yaitu anakan generatif yang berasal dari fertilisasi (zigot), dan anakan vegetatif atau disebut anakan nuselar yang berasal dari embrio yang terbentuk dari sebuah atau sekelompok sel pada nuselus maupun integument. Adanya embrio nuselar memungkinkan anakan yang tumbuh dari sel somatik yang mempunyai sifat sama dengan induknya (Setiono & Supriyanto, 2005; Chanana & Gill,

2008). Jumlah embrio nuselar pada biji jeruk dapat mencapai 12 embrio, tetapi yang mampu tumbuh umumnya tidak lebih dari 4 semaian (bibit). Bagian biji yang mengandung embrio nuselar adalah kotiledon (Koltunow, *et al.*, 1996; Jajoo, 2009). Menurut Ramkrishna *et al.* (2005), hasil perbanyakan jeruk menggunakan eksplan kotiledon yang diuji dengan (RAPD) marker menunjukkan sifat yang sama dengan induknya.

Induksi tunas langsung dari eksplan kotiledon telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan, persentase membentuk tunas mencapai 91,67% tanpa pemberian zat pengatur tumbuh. Namun dengan penambahan BAP (*6-Benzylaminopurine*) terjadi penurunan persentase eksplan membentuk tunas, yaitu 75% pada pemberian BAP 1 mg/l. Pemberian BAP di atas 1 mg/l (2-5 mg/l) terjadi penurunan (33,33 sampai 47,67 %). Jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan kotiledon hanya mencapai 1,5 tunas, baik pada media tanpa BAP maupun dengan penambahan BAP 1 mg/l. Pemberian BAP di atas 1 mg/l cenderung menurunkan jumlah tunas yang terbentuk (Fatonah *et al.*, 2012). Dari hasil penelitian tersebut, maka untuk meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk pada inisiasi tunas dari eksplan kotiledon, perlu upaya optimasi media antara lain dengan penambahan sukrosa pada berbagai konsentrasi. Sukrosa merupakan karbohidrat sebagai sumber energi dan senyawa karbon yang dibutuhkan untuk biosintesis metabolit sel. Selama kultur *in vitro*, sukrosa sangat penting karena aktivitas fotosintesis jaringan rendah. Selama tahap inisiasi tunas, dibutuhkan sukrosa dengan kadar yang lebih tinggi. Kadar sukrosa yang ditambahkan pada medium kultur *in vitro* mempengaruhi fisiologi, pertumbuhan dan diferensiasi sel (Rahman *et al.*, 2009).

Dari beberapa hasil penelitian menunjukkan, pemberian sukrosa pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap jumlah tunas yang terbentuk. Menurut Sastra (2006), pemberian sukrosa 40 g/l pada medium MS dari eksplan tunas jahe (*Zingiber officinale* Rosc var. *amarum*) menghasilkan jumlah tunas terbanyak dibandingkan konsentrasi 20, 30, dan 50 g/l. Menurut Srirat (2008), jumlah tunas terbanyak didapatkan pada pemberian sukrosa 60 g/l dari eksplan kuncup rizom *Curcuma longa*. Pada perbanyakan *in vitro* papaya (Saker *et al.*, 1999), jumlah tunas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sukrosa. Jumlah tunas terbanyak didapatkan dari eksplan tunas apikal pada medium MS dengan pemberian sukrosa 60 g/l. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi sukrosa yang paling efektif untuk memacu induksi tunas dari eksplan jeruk siam asal Kampar.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah biji jeruk siam yang diambil dari kebun jeruk di Desa Belimbing 2, Kecamatan Kuok, kabupaten Kampar. Bahan-bahan lain yang dibutuhkan untuk induksi tunas pada kultur *in vitro* antara lain : media MS (Murashige dan Skoog 1962) kemasan 10 liter, agar, sukrosa, dithane M-45, bakterisida, detergen, Na-hipoklorit, alkohol, BAP, 0,1N HCL, 0,1N NaOH dan akuades, plastik, kertas label. Alat yang digunakan antara lain peralatan gelas (botol kultur, gelas ukur, cawan petri, gelas kimia dan *erlenmeyer*), timbangan analitik, *hot plate*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, peralatan diseksi yaitu pinset, gunting, dan *scalpel*, kertas pH indikator, lampu bunsen, spiritus, *sprayer*, rak kultur, batang pengaduk, panci *enamel*, dan *oven*.

Penelitian dirancang secara acak kelompok (RAK). Perlakuan berupa konsentrasi sukrosa pada medium MS yang terdiri dari 5 taraf, yaitu: 20 g/l (S1), 30 g/l (S2), 40 g/l (S3), 50 g/l (S4), dan 60 g/l (S5). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali, sehingga terdapat 25 unit percobaan. Biji jeruk dicuci dengan deterjen dengan merendam selama 15 menit, dan dibilas dengan air mengalir. Biji dimasukkan dalam LAF dan disterilisasi dengan fungisida, kemudian dengan bakterisida, masing-masing dengan konsentrasi 2 g/l selama 10 menit. Selanjutnya biji disterilisasi dengan natrium hipoklorit (NaClO) secara seri, yaitu 10%, 5% dan 1%, masing-masing selama 10 menit, 5 menit dan 1 menit, dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Selanjutnya direndam dengan alkohol selama 0,5 menit dan dibilas dengan akuades steril. Eksplan diletakkan ke dalam cawan petri berisi sedikit akuades yang telah ditetesi 2 tetes betadine. Kulit biji bagian luar, embrio zigotik dilepaskan dari biji, dan kedua bagian kotiledon digunakan sebagai eksplan.

Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian, yaitu delapan minggu setelah kultur (56 hst). Peubah yang diamati adalah potensi morfogenesis (persentase pembentukan tunas dan persentase pembentukan akar), serta pertumbuhan tunas (waktu terbentuknya tunas, waktu terbentuknya akar, jumlah tunas, tinggi tunas dan jumlah daun). Analisis data secara kuantitatif dilakukan menggunakan Anova (*analysis of variance*) berdasarkan uji F taraf 5% dan apabila berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut DMRT taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase eksplan yang hidup dan Potensi Morfogenesis Eksplan Kotiledon pada Berbagai Konsentrasi Sukrosa

Persentase eksplan yang hidup untuk semua perlakuan mencapai 100%. Tidak adanya eksplan yang mati karena eksplan yang digunakan dan prosedur sterilisasi eksplan. Eksplan yang digunakan berupa kotiledon biji jeruk bersifat meristematik karena mengandung embrio nuselar yang akan tumbuh menjadi tunas. Prosedur sterilisasi yang digunakan yaitu menggunakan baktisida, masing-masing dengan konsentrasi 2 g/l selama 10 menit, natrium hipoklorit (NaClO) secara seri(10%, 5% dan 1%, masing-masing selama 10 menit, 5 menit dan 1 menit), dan alkohol selama 0,5 menit belum menyebabkan kerusakan jaringan sehingga tidak terjadi kerusakan jaringan dan kematian eksplan. Semua eksplan yang ditanam pada medium MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh pada berbagai konsentrasi sukrosa mampu membentuk tunas dengan persentase 100%. Sebagian besar eksplan yang ditumbuhkan mampu membentuk akar dengan persentase 50 sampai 100%. Perlakuan sukrosa 50% dan 60% mampu meningkatkan persentase pembentukan akar mencapai 100%. Semua eksplan mampu membentuk tunas dan sebagian besar eksplan mampu membentuk akar karena eksplan kotiledon jeruk mengandung embrio nuselar yang mampu membentuk tunas dan akar. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap persentase hidup eksplan dan potensi morfogenesis eksplan kotiledon dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase eksplan yang hidup, pembentukan tunas dan akar dari eksplan kotiledon jeruk siam asal Kampar pada berbagai konsentrasi sukrosa

Konsentrasi sukrosa (g/l)	Persentase eksplan hidup (%)	Persentase pembentukan tunas (%)	Persentase pembentukan akar (%)
20	100	100	50
30	100	100	75
40	100	100	50
50	100	100	100
60	100	100	100

Pemberian sukrosa pada konsentrasi yang lebih tinggi (50% dan 60%) pada medium MS tanpa zat pengatur tumbuh pemacu pertumbuhan tunas (sitokinin) mampu meningkatkan persentase pembentukan akar mencapai 100%. Ini menunjukkan peningkatan konsentrasi sukrosa menyediakan sumber energi lebih untuk pertumbuhan sel sehingga mamacu kotiledon membentuk akar. Kazemiani *et al.*(2012) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30%, yaitu 40% meningkatkan persentase pembetulan akar pada medum MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh BAP.

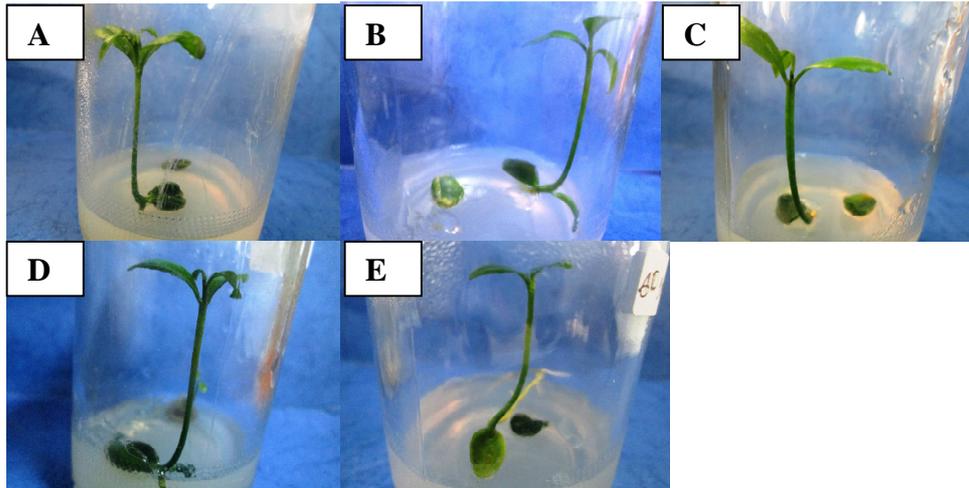
Pertumbuhan Tunas dari Eksplan Nodus pada Berbagai Konsentrasi Sukrosa

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, namun tidak berpengaruh nyata terhadap peubah yang lain. Rerata pengaruh kosentrasi sukrosa terhadap pembentukan tunas dari eksplan kotiledon jeruk siam asal Kampar tersaji pada Tabel 2. Respon pembentukan tunas dari eksplan nodus pada medium MS dengan berbagai konsentrasi sukrosa disajikan pada Gambar 1.

Tabel 2. Waktu terbentuk tunas (hst), jumlah tunas (tunas), panjang tunas (cm) dan jumlah daun (helai) dari eksplan kotiledon jeruk siam asal Kampar pada Medium MS dengan berbagai konsentrasi sukrosa.

Konsentrasi sukrosa (g/l)	Waktu muncul tunas (hari)	Jumlah tunas (tunas)	Tinggi tunas (cm)	Jumlah daun (helai)
20	16.00	1,00 + 0,0 a	3,150 + 2,017	4,00 + 2,828
30	17.75	1,75 + 0,5 b	3,750 + 2,363	4,75 + 2,363
40	7,00	1,25 + 0,0 a	3,675 + 0,275	3,50 + 1,00
50	9,00	2,00 + 0,0 b	4,125 + 0,768	5,74 + 2,062
60	7,00	1,25 + 0,5 a	3,800 + 1,824	3,00 + 0,577

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P> 0,05) pada uji DMRT



Gambar 1. Respon pembentukan tunas dari eksplan nodus pada medium MS dengan berbagai konsentrasi sukrosa: A) 20 g/l, B) 30 g/l, C) 40 g/l, D) 50 g/l, E) 60 g/l.

Konsentrasi sukrosa hanya berpengaruh terhadap jumlah tunas yang terbentuk, namun demikian waktu muncul tunas, panjang tunas dan jumlah daun menunjukkan kecenderungan perbedaan dari angka rerata. Waktu muncul tunas menunjukkan kecenderungan semakin tinggi konsentrasi sukrosa waktu muncul tunas semakin cepat. Pemberian sukrosa pada konsentrasi yang lebih rendah (20 dan 30 g/l) mengakibatkan waktu muncul tunas dari eksplan kotiledon jeruk siam lebih lambat (masing-masing 16 dan 17 hst), sedangkan pemberian sukrosa dengan konsentrasi lebih tinggi mengakibatkan waktu muncul tunas lebih cepat. Waktu muncul tunas yang lebih cepat menunjukkan terbentuknya tunas dari eksplan kotiledon lebih cepat. Kotiledon jeruk umumnya mengandung embrio nuselar yang nantinya akan tumbuh tunas. Menurut Gauchan (2012), konsentrasi gula yang ditambahkan pada medium kultur *in vitro* dipengaruhi oleh jenis dan tahapan pertumbuhan eksplan. Embrio membutuhkan gula pada konsentrasi yang relatif tinggi. Penambahan karbohidrat termasuk sukrosa pada medium kultur dibutuhkan untuk sebagai sumber energi dan sumber karbon, mempengaruhi proses fisiologi dan diferensiasi jaringan, pertumbuhan jaringan dan induksi organ.

Perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap jumlah tunas yang terbentuk. Jumlah tunas paling tinggi terjadi pada konsentrasi sukrosa 20 g/l (1 tunas), sedangkan jumlah tunas paling tinggi terjadi pada perlakuan sukrosa 50 g/l. Sukrosa yang ditambahkan pada medium kultur umumnya 30 g/l, dalam penelitian ini dihasilkan 1,75 tunas. Pemberian sukrosa pada konsentrasi yang lebih rendah (20 g/l) mengakibatkan penurunan jumlah tunas yang terbentuk (1 tunas per eksplan). Peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30 g/l sedikit meningkatkan jumlah tunas hanya pada perlakuan 50 g/l (2 tunas per eksplan), sedangkan perlakuan 40 dan 60 g/l menurunkan jumlah tunas yang terbentuk (1,25 tunas per eksplan).

Pertumbuhan dari tunas yang sudah terbentuk ditunjukkan dengan tinggi tunas dan jumlah daun. Berdasarkan angka rerata, tinggi tunas tertinggi terjadi pada perlakuan 50 g/l sukrosa yaitu 4,125 cm, sedangkan pada perlakuan lainnya menunjukkan tinggi tunas yang hampir sama yaitu mulai 3,15 sampai 3,8 cm. Jumlah daun tertinggi terjadi pada perlakuan 50 g/l yaitu 5,74 daun, sedangkan jumlah daun terendah terjadi pada perlakuan 60 g/l. Hasil ini menunjukkan pemberian sukrosa dengan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 50 g/l mampu memacu inisiasi tunas (jumlah tunas yang terbentuk) dan memacu pertumbuhan tunas (tinggi tunas dan jumlah daun), namun pemberian sukrosa di atas 50 g/l (60 g/l) menghambat inisiasi tunas dan pertumbuhan tunas. Pada pemberian sukrosa konsentrasi 60 g/l dihasilkan 1,25 tunas dengan tinggi 3,800 cm, dan jumlah daun 3,00 helai.

Sumber karbon yang digunakan dalam kultur *in vitro* umumnya adalah sukrosa dengan konsentrasi 20 g/l sampai 50 g/l (Gauchan, 2012). Konsentrasi sumber karbon berpengaruh terhadap morfogenesis pada berbagai spesies tanaman. Sumber karbon menyediakan energi bagi sel tumbuhan, namun sukrosa juga dapat menurunkan potensial osmotik medium kultur. Pemberian sukrosa yang lebih rendah maupun lebih tinggi dari 30 g/l berpengaruh terhadap morfogenesis pada berbagai spesies (Kazemiani, 2012). Dari hasil penelitian ini, peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30 g/l, yaitu pada konsentrasi 50 g/l menunjukkan jumlah tunas lebih tinggi dan pertumbuhan tunas (tinggi tunas dan jumlah daun) lebih tinggi dibandingkan perlakuan konsentrasi lainnya. Beberapa penelitian lain juga

menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30 g/l mampu memacu inisiasi tunas maupun morfogenesis lain. Pemberian sukrosa 40 g/l pada medium MS dari eksplan tunas jahe (*Zingiber officinale* Rosc var. *amarun*) menghasilkan jumlah tunas terbanyak dibandingkan konsentrasi 20, 30 dan 50 g/l (Sastra, 2006). Pemberian sukrosa 60 g/l menghasilkan jumlah tunas terbanyak dari eksplan kuncup rizom *Curcuma longa* (Srirat, 2008). Pada perbanyakan *in vitro* papaya (Saker *et al.*, 1999). Pemberian sukrosa 60 g/l pada medium MS menghasilkan tunas terbanyak dari eksplan tunas apikal papaya (Saker *et al.*, 1999). Namun demikian, beberapa penelitian menunjukkan peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30 g/l menurunkan jumlah tunas yang terbentuk, sedangkan pemberian sukrosa pada konsentrasi yang lebih rendah menunjukkan jumlah tunas dan pertumbuhan tunas yang lebih tinggi. Pemberian sukrosa 20 g/l menunjukkan jumlah nodus kentang cv. Agria lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 30 dan 40 g/l (Kazemiani, 2012). Pemberian sukrosa pada konsentrasi sukrosa yang lebih rendah (2,5 dan 25 g/l) menunjukkan tinggi tunas yang lebih tinggi dari embrio jagung dibandingkan pemberian sukrosa dengan konsentrasi yang lebih tinggi (50 dan 100 g/l) (Gauchan, 2012). Peningkatan konsentrasi sukrosa di atas 30 % menghambat pertumbuhan tunas karena konsentrasi sukrosa yang lebih tinggi menurunkan potensial osmotik yang menghambat penyerapan air, hara dan vitamin yang terkandung dalam medium kultur, sehingga menghambat proses pertumbuhan tunas.

Perlakuan terbaik yang memacu pembentukan tunas adalah perlakuan pemberian sukrosa konsentrasi 50 g/l dengan jumlah tunas (2 tunas), tinggi tunas (4,125) dan jumlah daun (5,74 helai) tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Dalam penelitian sebelumnya (Fatonah *et al.*, 2012) persentase pembentukan tunas tertinggi (75%) dan jumlah tunas tertinggi (1,5 tunas) dari eksplan kotiledon jeruk siam Kampar didapatkan pada medium MS dengan konsentrasi sukrosa 30 g/l tanpa penambahan zat pengatur tumbuh, perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh menurunkan persentase tumbuh tunas. Untuk meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk perlu dilakukan upaya optimalisasi menggunakan perlakuan sukrosa dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin misalnya BAP, untuk mengetahui efektifitas sitokinin dalam memacu inisiasi tunas apabila konsentrasi sukrosa yang ditingkatkan di atas 30 g/l.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semua eksplan pada berbagai perlakuan konsentrasi sukrosa menunjukkan persentase hidup dan persentase pembentukan tunas mencapai 100 %. Perlakuan sukrosa berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk, namun tidak berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas, tinggi tunas dan jumlah daun. Inisiasi tunas terbaik didapatkan pada eksplan kotiledon pada medium MS dengan penambahan sukrosa 50 g/l dengan jumlah tunas 2 tunas, tinggi tunas 4,125 cm dan jumlah daun 5,74 helai.

DAFTAR PUSTAKA

- Chanana, YR., MIS. Gill, 2008. Propagation and Nursery Management. Department of Horticulture Punjab Agricultural University, Ludhiana- 141004.
- Dinas Tanaman Pangan Propinsi Riau, 2006. Seri Data Tanaman Propinsi Riau: Dinas Tanaman Pangan Propinsi Riau. Pekanbaru.
- Fatonah S., MN. Isda, W. Lestari. 2012. Perbanyakan Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar Secara *In vitro* : Induksi Tunas Dari Eksplan Biji, Pembentukan Planlet Dan Multiplikasi Tunas. Laporan Hasil Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Riau.
- Jajoo A. 2010. *In vitro* Propagation of *Citrus limonia* Osbeck Through Nucellar Embryo Culture. *Journal of Biological Sciences* 2(1): 6-8.
- Koltunow AM., T. Hidaka, SP. Robinson, 1996. Polyembryony in *Citrus*. Accumulation of Seed Storage Proteins in Seeds and in Embryos Cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* 11: 599-609.
- Rahman IH., BS. Purwoko, IS. Dewi, 2007. Perbanyakan Jeruk Besar *Citrus maxima* (Burm.) Merr. Kultivar Cikoneng Dengan Eksplan Kotiledon Dan Epikotil. Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian-Institut Pertanian Bogor.
- Saker MM., SA. Bekheet, HS. Taha, AA. Reda, 1999. *In vitro* Propagation of Papaya (*Carica papaya* L.). Plant Cell and Tissue Culture Department, National Research Centre, Dokki, Cairo, Egypt.
- Sastra, D.R., 2005. Multiplikasi *In vitro* Tanaman Jahe (*Zingiber Officinale* Rosc Var. *Amarun*) Pada Berbagai Level Sukrosa, *Jurnal Agrotropika* X(1): 9 – 14.
- Setiono, A. Supriyanto, 2005. Poliembrional dan Seleksi Semaian Vegetatif pada Pembibitan Jeruk, Sirkular Teknoogi Inovasi Jeruk, 3.

- Srirat P., S. Sirisansaneeyakul, P. Parakulsuksatid, S. Prammanee, W. Vanichsriratana, 2008. *In vitro* shoot propagation of *Curcuma longa* L. from rhizome bud explants. The international Conference on fermentation Technology for Value Agricultural Products.
- Gauchan, DP. 2012. Effect Of Different Sugars On Shoot Regeneration Of Maize (*Zea Mays* L.). Kathmandu University Journal Of. Science, Engineering And Technology Vol. 8(I): 119-124.
- Kazemiani S., A. Motallebi-Azar, N. Mohaddes, F. Kiomarsy, F. Yarmohammadi, F. Etedali, 2012. Effect Of Different Concentrations of Sucrose and BAP on Shoot Proliferation on Ms Strength Basal Media in Potato Cv. Agria. J Horti Biol Environ 3(1): pp.63-72.