

KONSERVASI TANAMAN LADA (*Piper nigrum* L.) SECARA *IN VITRO*

YELNITTIS dan NURLIANI BERMAWIE

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

RINGKASAN

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi penting. Kendala utama dalam budidaya lada adalah serangan penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* yang dapat menyebabkan kematian tanaman. Konservasi plasma nutfah lada selama ini dilakukan dalam bentuk tanaman hidup di lapang, sehingga mudah hilang akibat erosi genetik yang disebabkan oleh serangan hama dan penyakit maupun bencana alam. Penelitian pelestarian tanaman lada secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan, Balitro dari bulan April 1998 sampai Maret 1999. Batang satu buku yang berasal dari biakan steril digunakan sebagai eksplan. Eksplan ditumbuhkan dalam media dasar Murshige dan Skoog (MS). Perlakuan yang diuji adalah media (MS penuh dan MS ½) yang dikombinasikan dengan zat penghambat tumbuh paclobutrazol (paclo) (0, 1, 3, dan 5 mg/l). Penelitian disusun dengan menggunakan rancangan acak faktorial dengan 10 kali ulangan. Parameter yang diamati meliputi jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan penampakan biakan (bentuk ruas, ukuran dan warna daun). Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat interaksi yang nyata antara perlakuan media dengan paclo terhadap jumlah tunas. Pengaruh yang nyata terlihat pada parameter tinggi tunas, jumlah daun dan penampakan biakan. Semakin tinggi konsentrasi paclo yang digunakan semakin tinggi penekanannya terhadap pertumbuhan tinggi tunas dan jumlah daun. Laju pertumbuhan paling lambat dengan tinggi 2.10 cm dan jumlah daun paling sedikit (9) ditunjukkan oleh perlakuan media MS1/2 dikombinasikan dengan paclo 5 mg/l. Kultur memiliki daun hijau, segar dan tegar. Media ini merupakan media terbaik untuk penyimpanan biakan lada LDL. Uji regenerasi tunas setelah penyimpanan pada media MS dengan penambahan B.A 0.3 mg/l mampu membentuk tunas adventif. Dengan demikian penyimpanan lada secara *in vitro* dengan paclo tidak mempengaruhi kemampuan tumbuh tanaman. Teknik ini dapat digunakan sebagai alternatif pelestarian tanaman lada.

Kata kunci : *Piper nigrum* L., pelestarian, *in vitro*, paclobutrazol

ABSTRACT

In vitro conservation of black pepper (*Piper nigrum* L.)

Black pepper (*Piper nigrum* L.) is one of the economically important spices. The major constraint in black pepper cultivation and conservation in field is foot rot disease caused by *Phytophthora capsici* which could cause plants die. Conservation of black pepper germplasms as living collections in field is risky due to pests and natural disaster. The experiment on *in vitro* conservation of black pepper var. LDL was conducted at the laboratory of Plant Genetic Resources and Breeding, Research Institute for Spice and Medicinal Crops (RISMC) Bogor from April 1998 to Maret 1999. Single node cuttings from sterile culture were used as explants. The explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium on full and half strength concentration supplemented with paclobutrazol (paclo) (0, 1, 3 and 5 mg/l). The experiment was performed in a randomized complete block design arranged factorially with 10 replications. The result showed that the medium supplemented with paclo on both full MS and MS ½ medium could suppress vegetative growth until 12 months. There was no significant interaction between medium and paclo on shoot initiation. The effect was significant on shoot height, number of leaves and culture performances. Increasing paclo concentration caused higher suppression of plant growth. MS ½ medium

supplemented with paclo 5 mg/l showed the slowest growth with shoot height 2.10 cm and number of leaves 9. Culture performance was fresh, with green leaves and vigorous. Adventive shoots were able to regenerate on the medium supplemented with BA 0.3 mg/l. *In vitro* conservation of black pepper with paclo did not change plant regeneration ability. Therefore, this technique may be used as an alternative method for black pepper conservation.

Key words : *Piper nigrum* L., conservation, *in vitro*, paclobutrazol.

PENDAHULUAN

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman rempah dan obat yang mempunyai peranan penting sebagai sumber devisa negara dan sumber pendapatan petani. Setiap tahun kebutuhan akan lada dunia terus meningkat. Pada tahun 1998 luas pertanaman lada di Indo-nesia mencapai 123 584 ha dengan produksi sebesar 49 660 ton. Sebagian besar produk lada yaitu 38 727 ton (77.9% dari total produksi) diekspor dengan nilai 188 919 000 US \$ yang merupakan 4.57% dari seluruh ekspor komoditi perkebunan (4 132 402 000 US \$) dan menempati urutan ke enam sesudah karet, kelapa sawit, kopi, kakao dan kelapa (ANON., 1999). Sebagai tanaman yang memiliki nilai ekonomi, keberadaan plasma nutfah lada, sebagai sumber genetik dalam perakitan varietas unggul perlu terus dipertahankan.

Saat ini koleksi plasma nutfah lada yang ada di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat mencapai 54 nomor, 7 nomor diantaranya telah dilepas sebagai varietas unggul dan beberapa nomor merupakan koleksi eksotik hasil introduksi dari luar negeri. Semua nomor tersebut peka terhadap penyakit busuk pangkal batang (BPB) kecuali beberapa lada liar yang tahan (NURYANI dan MANOHARA, 1992).

Seluruh koleksi plasma nutfah lada dikonservasi dalam bentuk tanaman hidup di lapang (field collection) dan di rumah kaca. Pelestarian dengan cara ini mempunyai beberapa kelemahan antara lain memerlukan tempat yang luas, membutuhkan pemeliharaan yang intensif sehingga membutuhkan biaya yang banyak, rentan terhadap serangan hama dan penyakit dan tidak tertutup kemungkinan kehilangan akibat bencana alam, seperti kekeringan, kebakaran dll. Serangan penyakit BPB yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* pada pertanaman lada, sampai saat ini belum dapat diatasi secara tuntas. Hampir semua areal pertanaman lada di Indonesia sudah terinfeksi patogen penyakit BPB. Penyakit ini dapat menyebabkan kematian tanaman.

Teknik kultur jaringan merupakan teknologi alternatif yang dapat digunakan untuk memperbanyak bibit secara massal, perbaikan bahan tanaman maupun untuk pelestarian

koleksi tanaman (MARISKA, 1987). Pelestarian plasma nutfah melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain penyimpanan dalam keadaan tumbuh, dalam pertumbuhan lambat (minimal) dan penyimpanan jangka panjang (HU dan WANG, 1983).

Penyimpanan biakan dalam keadaan tumbuh dilakukan dengan pemindahan biakan secara teratur atau rutin pada media baru atau penyimpanan pertumbuhan minimal dengan penurunan suhu (HU dan WANG, 1983) menggunakan penghambat osmotik dengan manitol (WITHERS, 1985) dan menggunakan senyawa penghambat tumbuh seperti paclobutrazol, cicocel, dan ancymidol. Sedangkan penyimpanan jangka panjang dilakukan dengan menggunakan nitrogen cair pada suhu -196°C .

Paclobutrazol merupakan zat pengatur tumbuh yang mempunyai sifat menurunkan metabolisme jaringan dan dapat menghambat pertumbuhan vegetatif (WANG dan STEFFENS, 1987 dalam PURNOMO dan PRAHADINI, 1991), dan menghambat biosintesa gibberellin yang berfungsi dalam proses pemanjangan sel dan jaringan tanaman (SANKHLA *et. al.*, 1992).

Pelestarian dengan pertumbuhan minimal dapat mengurangi frekuensi sub-kultur ke media baru sehingga menghemat biaya, waktu dan tenaga. Disamping itu, kelebihan pelestarian dengan menggunakan teknologi kultur jaringan adalah tidak tergantung musim, bebas dari serangan hama dan penyakit, hemat dalam penggunaan ruangan dan dapat diperbanyak secara serentak dalam jumlah yang lebih besar serta pemeliharaan relatif lebih mudah. (HU dan WANG, 1983). Koleksi biakan *in vitro* juga dapat digunakan sebagai duplikat/back up seandainya koleksi di lapangan hilang atau rusak akibat penyakit atau faktor lain. Oleh karena itu teknik pelestarian koleksi tanaman lada secara *in vitro* perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metoda konservasi plasma nutfah tanaman lada (varietas LDL) secara *in vitro* dan daya regenerasinya setelah di konservasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor dari bulan April 1998 sampai bulan Maret 1999.

Eksplan yang digunakan adalah batang satu buku dan biakan steril lada LDL berukuran 1-2 cm. Eksplan ditumbuhkan pada media dasar Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya dengan gula 30 g/l, agar 8 g/l, dan vitamin group B. Perlakuan yang diuji adalah media MS penuh dan MS $\frac{1}{2}$ (hara makro $\frac{1}{2}$ dari konsentrasi normal) yang dikombinasikan dengan penambahan zat penghambat tumbuh paclobutrazol (paclo) (0, 1, 3, dan 5 mg/l). Untuk mengetahui kemampuan tumbuh eksplan melakukan inisiasi tunas setelah perlakuan paclo, eksplan ditumbuhkan pada media MS dan ditambahkan zat pengatur tumbuh BA 0.3 mg/l.

Pada media MS dengan konsentrasi sitokinin yang relatif rendah (BA 0.3 mg/l), eksplan lada mampu membentuk tunas adventif (HUSNI dan MARISKA, 1994).

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas dan keadaan biakan visual. Penelitian disusun dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 10 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi yang nyata antara media dan paclo terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Pengaruh yang nyata terjadi pada tinggi tunas dan jumlah daun. Semua perlakuan MS (penuh maupun $\frac{1}{2}$) dengan maupun tanpa paclo tidak terjadi penambahan tunas. Rata-rata jumlah tunas yang diperoleh dari semua perlakuan adalah 1 (data tidak ditampilkan) artinya dengan atau tanpa paclo tidak terjadi multiplikasi tunas pada lada LDL.

Hal ini disebabkan karena pada tanaman lada dibutuhkan zat pengatur tumbuh sitokinin untuk terbentuknya tunas adventif. SUKMADJAYA (1992) melaporkan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh BA 5 mg/l dapat mendorong daya multiplikasi tunas dari eksplan batang satu buku pada lada LDL dengan rata-rata jumlah tunas 4.6 dalam waktu 2 bulan. Selanjutnya YELNITITIS *et. al.*, (1999) menggunakan B.A 2.5 mg/l pada lada varietas Panniyur dan diperoleh tunas dengan jumlah rata-rata 10.3 dalam waktu 8 minggu.

Sedangkan paclo merupakan zat pengatur tumbuh yang mempunyai sifat menurunkan metabolisme jaringan dan dapat menghambat pertumbuhan vegetatif (WANG dan STEFFENS, 1987 dalam PURNOMO dan PRAHADINI, 1991). Penelitian GATI *et. al.*, (1995) bahwa penggunaan paclo dapat menghambat daya multiplikasi tunas pada tanaman obat langka pulasari. Hasil yang sama diperoleh pada penelitian ini, dimana daya multiplikasi tunas lada LDL terhambat. Keadaan ini memberikan keuntungan dalam penyimpanan plasma nutfah karena dapat memperlambat pertumbuhan biakan sehingga dapat memperpanjang interval waktu untuk subkultur biakan. Dengan demikian akan lebih efisien dalam penggunaan tenaga, tempat dan biaya yang dibutuhkan dibandingkan dengan koleksi tanaman di rumah kaca maupun di lapangan.

Perlakuan media MS kontrol tanpa paclo memberikan laju pertumbuhan paling cepat dengan rata-rata tinggi tunas 11.96 cm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya (Tabel 1). Perlakuan media dikombinasikan dengan paclo nyata menghambat laju pertumbuhan tunas pada penyimpanan sampai 12 bulan. Bahkan perlakuan paclo yang dikombinasikan dengan pengenceran media memberikan laju pertumbuhan paling lambat. Semakin tinggi konsentrasi paclo semakin besar penekanannya terhadap tinggi tunas. Penambahan paclo 5 mg/l ke dalam media MS $\frac{1}{2}$ memberikan laju pertumbuhan paling lambat

Tabel 1. Pengaruh media dan konsentrasi paclobutrazol terhadap tinggi tunas dan jumlah daun pada umur 12 bulan setelah penyimpanan

Table 1. The effect of medium and paclobutrazol concentration on shoots height and number of leaves twelve months after conservation

Perlakuan (mg/l) Treatment (mg/l)	Tinggi tunas (cm) Height of shoots	Jumlah daun Number of leaves
MS + paclo 0	11.96 a	14.06 a
+ paclo 1	5.46 b	14.00 ab
+ paclo 3	4.48 c	12.20 bcd
+ paclo 5	2.76 de	11.40 cd
MS ½ + paclo 0	5.48 b	13.00 abc
+ paclo 1	5.36 b	10.60 de
+ paclo 3	3.32 d	10.20 de
+ paclo 5	2.10 e	9.00 e
KK CV (%)	23.25	29.31

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMR

Note : Numbers followed by the same letter on the same column are not significantly different at 5% DMRT

pada biakan dengan tinggi tunas 2.10 cm. Hal ini ditunjukkan oleh tunas dan ruas yang pendek dari biakan yang terbentuk.

Menurut SANKHLA *et. al.*, (1992) paclo mempunyai potensi dalam menghambat biosintesa gibberellin yang berfungsi dalam proses pemanjangan sel dan jaringan tanaman. Selanjutnya KUNACHAK dalam SANKHLA *et. al.*, (1992) menyatakan bahwa paclo berpengaruh negatif dalam proses pemanjangan plantlet. Demikian pula dengan DICKS (1979) menyatakan bahwa retardan dapat menghambat pemanjangan sel pada meristem apical tanaman yang responsif dan mengurangi laju pertumbuhan batang.

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa pengenceran media menjadi ½-nya dengan penambahan paclo memperlihatkan adanya interaksi terhadap jumlah daun yang dihasilkan. Jumlah daun yang dihasilkan pada media MS ½ lebih sedikit dibanding pada media MS baik pada media dengan maupun tanpa penambahan paclo. Diduga besar-kecilnya konsentrasi hara makro mempunyai pengaruh yang besar dalam pembentukan daun dari biakan lada LDL karena dengan penurunan konsentrasi akan menurunkan jumlah daun yang terbentuk.

Terhadap jumlah daun, pengaruh paclo baru terlihat pada konsentrasi 3-5 mg/l untuk medium MS penuh, sedangkan pada media MS ½ pada konsentrasi 1 mg/l sudah menunjukkan penurunan jumlah daun. Penekanan paling baik terhadap jumlah daun dihasilkan dari perlakuan media MS ½ dengan penambahan paclo 5 mg/l, dengan rata-rata jumlah daun sebanyak 9. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada tanaman lada peningkatan penggunaan paclo juga menurunkan jumlah daun yang dihasilkan. Paclo merupakan zat penghambat tumbuh yang dapat menekan pertumbuhan vegetatif tanaman. Hasil ini berbeda dengan penelitian DICKS (1979) menunjukkan

bahwa penggunaan retardan tidak mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan daun.

Dari penampakan biakan, secara visual dapat dilihat bahwa perlakuan media MS ½ dikombinasikan dengan paclo 5 mg/l memberikan biakan paling baik dibanding perlakuan lainnya setelah biakan disimpan selama 12 bulan (Tabel 2). Dari perlakuan tersebut dihasilkan biakan dengan daun berwarna hijau tua dan segar, berukuran sedang dan tebal (Gambar 1). Menurut SANKHLA *et. al.*, (1992) tunas yang diperoleh dari perlakuan dengan penambahan zat penghambat tumbuh mempunyai kandungan klorofil lebih banyak dibanding dengan jaringan daun yang diperoleh dari media kontrol. Hasil penelitian HUSNI *et. al.*, (1995) menunjukkan bahwa penambahan paclo pada media MS memberikan penampakan warna daun yang lebih hijau dan lebih tegar.

Menurut MATTIK *et. al.*, (1994) menyatakan bahwa peningkatan ketebalan daun disebabkan oleh penambahan lapisan parenkhim bunga karang dan ruang antar sel. Semakin tinggi konsentrasi paclo yang diberikan baik pada media MS atau MS ½ akan semakin kecil ukuran daun yang dihasilkan. Hal yang sama dari hasil penelitian WOOD (1988) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi paclo yang digunakan semakin kecil ukuran daun yang dihasilkan pada biakan tanaman *Carya illinoensis*, dimana penurunan ukuran daun mencapai 30-60 % dari daun yang dihasilkan pada media kontrol. CATHEY (1964) menyatakan bahwa penggunaan retardan pada media tumbuh akan memberikan biakan dengan daun yang lebih hijau karena mengandung klorofil yang lebih banyak.

Untuk melihat apakah penyimpanan secara *in vitro* mempengaruhi kemampuan tumbuh plantlet dilakukan uji regenerasi. Uji regenerasi tunas dari biakan setelah penyimpanan selama 12 bulan pada media MS yang ditambahkan BA 0.3 mg/l menunjukkan, bahwa eksplan batang satu buku dari perlakuan penambahan paclo (1, 3 dan 5 mg/l)

Tabel 2. Penampakan biakan umur 12 bulan setelah penyimpanan
Table 2. Culture performance twelve months after conservation

Perlakuan (mg/l) Treatment (mg/l)	Penampakan biakan Culture performances	
	Ruas Internode	Daun Leaf
MS + paclo 0	Panjang <i>Long</i>	Lebar, tipis, kekuningan, menggulung <i>Wide, thin, yellowish, rolling</i>
+ paclo 1	Pendek <i>Short</i>	Sedang, tebal, menggulung <i>Medium, thick, rolling</i>
+ paclo 3	Pendek <i>Short</i>	Kecil, tebal, menggulung <i>Small, thick, rolling</i>
+ paclo 5	Pendek sekali <i>Very short</i>	Kecil, tebal <i>Small, thick</i>
MS ½ + paclo 0	Sedang <i>Medium</i>	Sedang, tipis pucuk hitam <i>Medium, thin black shoot tip</i>
+ paclo 1	Pendek <i>Short</i>	Kecil, hijau, tebal <i>Small, green, thick</i>
+ paclo 3	Pendek <i>Short</i>	Kecil, kehijauan, tebal <i>Small, darkgreen, thick</i>
+ paclo 5	Pendek sekali <i>Very short</i>	Kecil, hijau tua, tebal <i>Small, darkgreen, thick</i>

dapat beregenerasi dan tetap mampu melakukan multiplikasi tunas sehingga dihasilkan tunas adventif (Gambar 2). Dengan demikian pelestarian lada secara *in vitro* dengan penambahan zat penghambat tumbuh tidak merubah kemampuan tumbuh tanaman.

Tunas yang dihasilkan dari percobaan ini secara visual tampak normal seperti hasil pada perbanyakan tunas lada sebelumnya (SUKMAJAYA 1992; YELNITITIS *et. al.*, 1999), namun warna daunnya lebih hijau dan segar

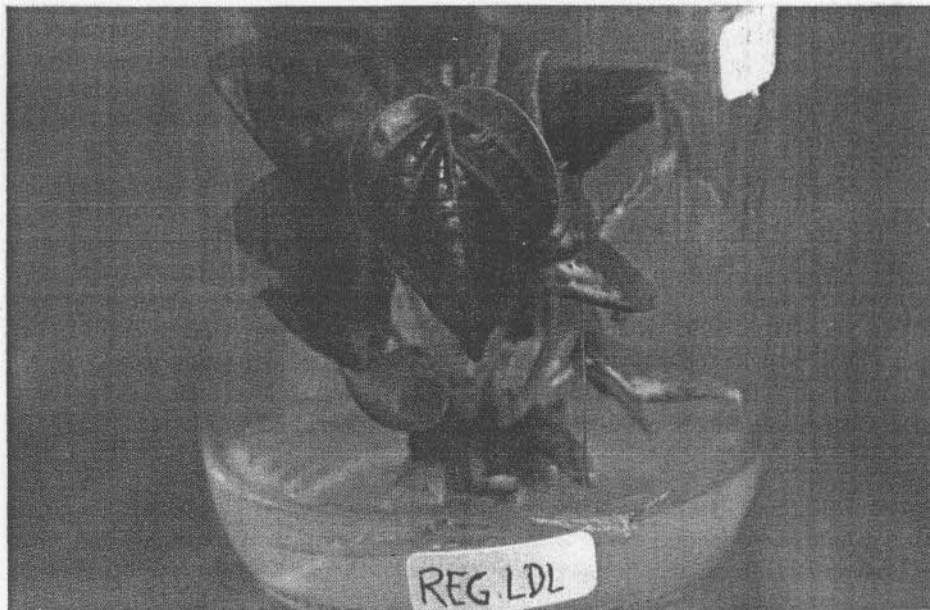
(Gambar 2). Diduga masih terdapat pengaruh paclo terhadap proses pembentukan klorofil di dalam jaringan tanaman, mengingat penyimpanan mencapai 12 bulan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pelestarian lada dengan cara pertumbuhan minimal secara *in vitro* menggunakan retardan paclo selama 12 bulan tidak mempengaruhi kemampuan tumbuh tanaman secara normal. Hal ini penting, karena pada metoda pelestarian plasma nutfah baik secara *in vitro* maupun dengan teknik



Gambar 1. Penampakan biakan dari perlakuan MS $\frac{1}{2}$ + paclo 5 mg/l umur 12 bulan

Figure 1. Culture performance from MS $\frac{1}{2}$ + paclo 5 mg/l twelve months after conservation



Gambar 2. Tunas hasil regenerasi dari perlakuan paclo pada media MS + BA 0.3 mg/l

Figure 2. Shoot regenerated from paclobutrazol treatment on MS + BA 0.3 mg/l medium

lain, tanaman yang disimpan secara morfologis maupun genetik tidak boleh berubah.

KESIMPULAN

Pemakaian paclo (1-5 mg/l) ke dalam media MS dan MS ½ dapat menekan pertumbuhan vegetatif biakan sampai umur penyimpanan 12 bulan. Semakin tinggi konsentrasi paclo yang digunakan, laju pertumbuhan semakin menurun terutama pada tinggi tunas, jumlah daun, ukuran daun serta ukuran ruas dari biakan yang dihasilkan. Perlakuan media MS ½ kombinasi dengan paclo 5 mg/l merupakan media terbaik untuk penyimpanan biakan lada LDL sampai umur 12 bulan. Biakan yang dihasilkan dari perlakuan ini mempunyai daun yang kecil, hijau tua, segar dan ruas yang pendek. Biakan yang telah disimpan dengan menggunakan paclo dapat beregenerasi dan dapat membentuk tunas adventif pada media MS dengan penambahan BA 0.3 mg/l. Dengan demikian penyimpanan lada secara *in vitro* dengan paclo tidak mempengaruhi kemampuan tumbuh tanaman. Teknik ini dapat digunakan sebagai alternatif pelestarian tanaman lada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada saudara Dedi Surachman yang telah memberikan bantuan dari awal sampai selesai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONYMOUS, 1999. Peningkatan produksi dan produktivitas lada. Ditjenbun, Dephutbun, Jakarta Juli 1999. 15p.
- CATHEY, H.M. 1964. Physiology of growth retardant chemical. Ann. Rev. Plant. Physiol. 15: 273-303.
- DICKS, J.W., 1979. Modes of action of growth retardant. In Clifford, O.R. and J.R. Lenton (Eds.). Recent development in the use of plant growth retardants. Proc. of A Sym. Soc. of Chem. Industry (CIS) Wessex Press. London p. 1-14.
- GATI, E., I. MARISKA dan YELNITITIS, 1995. Konservasi *in vitro* tanaman obat langka pulasari melalui pertumbuhan minimal. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami. Bogor. p. 96-99.
- HU, C.Y. and P.J. WANG, 1983. Meristem, shoot tip and bud culture. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (Eds.). Handbook of Plant Cell Culture I. Techniques for Propagation and Breeding. MacMillan Publishing New York. p.177-227.
- HUSNI, A. dan I. MARISKA, 1994. Daya regenerasi jaringan dari kalus daun lada varietas LDL melalui kultur *in vitro*. Prosiding Simposium Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri II. Puslitbangtri, Bogor. Buku 5-6: 9-11.
- HUSNI, A.E. GATI dan I. MARISKA, 1995. Perbanyakan klonal tanaman obat langka inggu melalui kultur jaringan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi LIPI. Bogor. p.115-121.
- MARISKA, I. 1987. Konsepsi pelestarian plasma nutfah dengan biakan *in vitro*. Dalam : Pengembangan Penelitian Plasma nutfah Tanaman Rempah dan Obat. Edisi Khusus Littro III (1) : 22-27.
- MATTJIK, N.A., E. PRASETYO dan J. WIROATMODJO, 1994. Penggunaan retardan pada media kultur *in vitro* *Zingiber officinale* Rosc. Untuk memperoleh ketegaran planlet. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi LIPI. Bogor. p.55-60.
- NURYANI, Y. dan D. MANOHARA, 1992. Pengujian ketahanan beberapa varietas lada terhadap *Phytophthora capsici*. 15 hal (tidak dipublikasikan).
- PURNOMO, S dan PRAHARDINI, 1991. Pengaruh saat aklimatisasi dan konsentrasi paclobutrazol selama dua musim panen apel (*Malus syvestris* Mill.). Jurnal Hortikultura 1 (2) : 58-68.
- SANKHLA, A., T.D. DAVIS, D. SANKHLA, N. SANKHLA, A. UPADYAYA and S. JOSHI, 1992. Influence of growth regulators on somatic embryogenesis, planlet regeneration, and post-transplant survival of *Echinochloa frumentacea*. Plant Cell Report 11 : 368-371.
- SUKMADAJA, D. 1992. Perbanyakan tanaman lada (*Piper nigrum* L.) melalui kultur *in vitro*. Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus. Balitbang Pertanian dan DIKTI Depdikbud II : 737-745.
- WITHERS, L.A., 1985. Cryopreservation and storage of germplasm. In R.A. Dixon (Eds.). Plant Cell Culture. IRL Press Washington. p. 169-190.
- WOOD, B.W., 1988. Paclobutrazol, uniconazole and flurprimidol influence shoot growth and nut yield of young pecan trees. Hort Sciences 23 (6) : 1026-1028.
- YENITITIS, N. BERMAWIE dan SYAFARUDDIN, 1999. Perbanyakan klon lada varietas Panniyur secara *in vitro*. Jurnal Penelitian Tanaman Industri V (3) : 109-114.