

## Perbaikan Ketahanan Abaka Terhadap Fusarium dan Prospek Pengembangannya

SUDJINDRO

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat

*Indonesian Tobacco and Fiber Crops Research Institute*

Jl. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang-Jawa Timur

### ABSTRAK

Perbaikan genetik klon abaka melalui hibridisasi relatif sulit dilakukan karena sempitnya keragaman genetik tanaman tersebut. Hal ini disebabkan abaka diperbanyak secara vegetatif. Sebagai alternatif, peningkatan keragaman genetik tanaman abaka dapat dilakukan dengan mutasi dan induksi keragaman somaklonal dalam kultur *in vitro*. Untuk mengidentifikasi mutan atau varian dengan karakter unggul tertentu, perlu dilanjutkan dengan seleksi *in vitro*. Mutasi dengan menggunakan mutagen kimia Etil Metan Sulfonat (EMS) yang dilanjutkan dengan seleksi *in vitro* telah menghasilkan varian-varian abaka yang resisten terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* (*Foc*). Pengembangan klon abaka resisten terhadap *Foc* dapat mengurangi biaya produksi sehingga akan meningkatkan keuntungan petani atau pengusaha dalam pengembangan agribisnis abaka di Indonesia.

Kata kunci: *Musa textilis* Nee., *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, seleksi *in-vitro*

### ABSTRACT

#### Improvement of Abaca Resistance to Fusarium and its Development Prospect

Genetic improvement of abaca clones through hybridization is relatively difficult due to the narrow genetic variability of this crop. The narrow genetic variability of abaca caused by its propagated vegetatively. Alternatively, genetic improvement of abaca could be conducted by mutation and somaclonal variation inductions through *in vitro* culture. To identify mutants or variants with certain superior character, it is necessary continued with *in vitro* selection. Mutation of abaca which was conducted using chemical mutagen Ethyl Methane Sulphonate (EMS) followed by *in vitro* selection has resulted in resistant variants to *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* (*Foc*). Cultivation of the abaca variants resistant to *Foc* will decrease total production cost and increase farmers' profit in abaca agribusiness in Indonesia.

Key words: *Musa textilis* Nee, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *in-vitro* selection

### PENDAHULUAN

Abaka (*Musa textilis* Nee) merupakan tanaman sejenis pisang penghasil serat termasuk dalam famili Musaceae. Abaka memiliki daun dan batang yang lebih ramping dan ujung daunnya lebih runcing dibandingkan pisang. Pangkal daun membulat dan salah satu sisi lamina lebih pendek dibandingkan sisi lainnya. Tepi lamina daun berwarna hitam sehingga mudah dibedakan dengan daun pisang. Tinggi tanaman berkisar antara 3-7,5 meter, buah berisi biji kecil-kecil, berwarna hijau saat masak, tetapi kemudian berubah menjadi kuning pucat dan akhirnya hitam (Dempsey, 1975).

Awalnya serat abaka yang dihasilkan dari pelepasan daun yang membentuk batang semu, banyak digunakan untuk tali-temali, terutama tali kapal dan bahan untuk industri pancing karena tahan terhadap kelembaban, air laut dan air tawar (Purseglove, 1983). Selain itu serat abaka dapat ditenun dan digunakan sebagai bahan pakaian yang sejuk dipakai, untuk kain jok, popok (*diapers*), pembungkus kabel listrik dan peredam suara kapal terbang (Heyne, 1987; Duryatmo dan Dasoeki, 1999). Pulp abaka sangat baik digunakan untuk bahan baku kertas tipis seperti kertas dokumen, surat berharga, kertas uang, kertas kemasan (Triyanto *et al.*, 1982), kertas saring, kertas dasar stensil, kertas sigaret, kertas teh celup, kertas pembungkus daging (osis), dan kertas lensa (Aragon, 2000). Penggunaan serat abaka untuk kertas uang peso di Philippina dimulai tahun 2000, sedangkan di Jepang sudah sejak lama digunakan (Hilario, 2006).

Akhir-akhir ini pengembangan abaka mengalami kendala yaitu adanya penyakit layu yang disebabkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

(*Foc*). Di Leyte, Philippina, *Foc* dilaporkan telah menimbulkan kerusakan antara 5-65% pada pertanaman abaka (Bastasa dan Baliad, 2005). Di Indonesia, *Foc* diketahui telah menyerang tanaman pisang hingga seluas 3.300 ha di 3 provinsi di Sumatera (Nasir dan Jumjunidang, 2003). Serangan penyakit *Foc* pada tanaman abaka di PT. Perkebunan Bayulor, Banyuwangi mencapai ±20% dari luas areal 400 ha. Pengendalian *Foc* di lapangan diketahui sulit dilakukan karena cendawan ini mampu bertahan dalam waktu yang lama di antara sisa-sisa tanaman yang terinfeksi dalam bentuk miselia atau di tanah dalam bentuk klamidospora (Agrios, 1997). Dengan demikian, pengendalian penyakit layu *Fusarium* sebaiknya dilakukan secara terpadu dengan penggunaan bibit sehat dari genotipe abaka yang resisten, penggunaan mikroba antagonis, penanaman gulma berguna dan penggunaan pestisida nabati (Djatnika *et al.*, 2003; Di Pietro *et al.*, 2003). Sejauh ini, penggunaan kultivar yang resisten merupakan metode alternatif pengendalian *Foc* yang efektif (Ploetz, 2000).

Untuk membantu mengatasi kendala dalam pengembangan abaka perlu dilakukan perbaikan tanaman untuk memperoleh ketahanan terhadap *Fusarium* dari koleksi plasma nutfah yang sudah ada. Karena sumber genetika abaka di Indonesia masih terbatas, maka perbaikan tanaman dengan teknik hibridisasi sulit dilaksanakan. Sebagai alternatif dilakukan dengan teknik seleksi *in vitro* yang diawali dengan peningkatan keragaman genetik melalui mutasi kimia dan induksi keragaman somaklonal. Dengan diperolehnya aksesi abaka yang tahan terhadap *Fusarium*, diharapkan akan meningkatkan produktivitas serat dan pendapatan petani.

Dalam tulisan ini dibahas bagaimana meningkatkan keragaman genetik plasma nutfah abaka dan penggunaan metode seleksi *in vitro* untuk memperoleh genotipa abaka yang resisten terhadap penyakit yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. Penggunaan genotipa resisten dalam pengendalian penyakit layu *Fusarium* akan

meningkatkan produktivitas serat abaka sekitar 20%.

## BUDIDAYA ABAKA DI INDONESIA DAN KENDALANYA

Ditinjau dari letak geografis, Indonesia sangat cocok untuk pengembangan abaka karena merupakan negara tropis dan memiliki daerah yang memenuhi persyaratan tumbuh abaka. Tanaman abaka paling baik ditanam pada tanah yang gembur dengan tingkat kesuburan sedang sampai tinggi dan memiliki tekstur lempung berpasir atau lempung berdebu, tidak ada lapisan cadas, temperatur optimum sekitar 27°C dan kelembaban udara optimum 78-88% (Dempsey, 1975).

Pengembangan abaka di Indonesia dimulai pada tahun 1853 di Minahasa, tetapi pada saat itu keuntungan yang diperoleh dari budidaya abaka sangat rendah. Tahun 1905 mulai dikembangkan di Jawa dan Sumatera Selatan dengan hasil yang cukup tinggi. Pada tahun 1912 dilaporkan terdapat tiga perkebunan besar di Besuki, Jawa Timur. Pada saat itu ketiga perkebunan tersebut dapat mengeksport 200 ton serat/tahun, namun kemudian produktivitas menurun dan kurang menguntungkan, sehingga perkebunan tersebut akhirnya bangkrut (Heyne, 1987; Hilman dan Toruan-Mathius, 2001). Pada tahun 1925 abaka dikembangkan cukup luas di Sumatera Utara dengan produksi yang cukup baik, namun pada tahun-tahun berikutnya produktivitasnya menurun. Tidak ada laporan penyebab menurunnya produktivitas tersebut, namun diduga karena adanya serangan penyakit layu *Fusarium*. Hal ini dapat dibuktikan dengan tingginya intensitas serangan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) pada tanaman pisang di Sumatera (Nasir dan Jumjunidang 2003). Pada tahun 1961 luas areal abaka hanya tersisa 404 ha dengan produktivitas serat 695 kg/ha. Sebelumnya, produktivitas serat mencapai 890-1.000 kg/ha, lebih tinggi dari negara Philippina atau negara lainnya (Dempsey, 1975). Sebaliknya, abaka terus dikembangkan secara besar-besaran di Philippina hingga menjadi negara pemasok serat abaka

terbesar dunia. Namun saat ini, pertanaman abaka di Philippina mengalami serangan penyakit virus *bunchy top* dan layu Fusarium sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan serat abaka dunia. Salah satu perkebunan abaka di Indonesia yang merupakan sisa perkebunan jaman Belanda adalah perkebunan milik PT. Bayulor, di Banyuwangi seluas ±400 ha.

Pada tahun 1998/1999 minat untuk membudidayakan abaka meningkat drastis ketika negara Indonesia dilanda krisis ekonomi. Bahkan melalui Inpres No. 21 tahun 1998 tentang ‘Gerakan Terpadu Pengentasan Kemiskinan’ (Gardu Taskin), pemerintah telah mencanangkan program gerakan agribisnis abaka yang bertajuk “*Gerakan Pisang Abaka Keluarga dalam Rangka Pengentasan Kemiskinan*” (Prayitno, 1999). Program tersebut telah dilaksanakan dengan penanaman abaka hampir di seluruh propinsi di Indonesia dengan pengelola PT. Nandinusa Abaca Mera (NAM). Namun pengembangan tersebut mengalami kegagalan yang disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: belum tersedianya teknologi budidaya dan pasca panen, belum tersedianya *klon unggul tahan penyakit*, dan sulitnya pemasaran serat.

Saat ini, faktor-faktor yang menyebabkan kegagalan tersebut sudah dapat diatasi dengan tersedianya teknologi budidaya dan pasca panen abaka yang memadai, serta tersedianya pemasaran serat antara lain: PT. Alstrom dan PT. Rekso Group untuk bahan baku kertas pembungkus teh celup, PT. Ata Kharisma dan PT. Agrina Prima untuk bahan baku pulp, PT. Retota Sakti untuk bahan kerajinan tangan dan tekstil, serta masih banyak lagi yang membutuhkan bahan baku serat abaka. Hal ini membuka peluang bagi petani atau perkebunan swasta untuk mengembangkan abaka di Indonesia, apalagi telah tersedia genotipa atau *klon unggul tahan penyakit* layu Fusarium yang dapat meningkatkan produktivitas serat sekitar 20%. Bibit abaka yang resisten terhadap penyakit tersebut dapat diperbanyak melalui kultur jaringan dengan harga yang tidak terlalu mahal.

## KETAHANAN ABAKA TERHADAP PENYAKIT LAYU FUSARIUM

### Status Plasma Nutfah Abaka

Abaka berasal dari Philippina dengan daerah penanaman terbesar adalah semenanjung Bicol yang terletak di bagian selatan Pulau Luzon; Leyte dan Samar di Kepulauan Visayas; dan Propinsi Davao di Kepulauan Mindanao (Villordon, 2003), oleh karena itu disebut juga sebagai ‘*Manila Hemp*’ atau *Musa mindanensis*. Di Philippina, plasma nutfah abaka mencapai 192 aksesi (Villareal, 1988), tetapi hanya 20 di antaranya yang memiliki nilai komersial tinggi. Tiga varietas utama yang banyak ditanam di Philippina adalah: Tangongan, Bungulanon, dan Maguindanao (Dempsey, 1975; Purseglove, 1983; Hilman dan Toruan-Mathius, 2001).

Koleksi plasma nutfah abaka yang terdapat di Indonesia dikelola oleh Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas). Pada tahun 2001, koleksi plasma nutfah abaka sebanyak 47 aksesi, terdiri atas 11 aksesi koleksi lama dan 36 aksesi hasil eksplorasi di Lampung, Sangihe-Talaud, dan Jawa Timur (Setyo-Budi et al., 2001). Beberapa aksesi hasil eksplorasi tersebut tidak dapat tumbuh di kebun koleksi plasma nutfah Balittas sehingga pada tahun 2008 tinggal 36 aksesi. Untuk menghindari lebih banyak plasma nutfah yang punah, telah dilakukan konservasi plasma nutfah abaka secara *in vitro* dalam bentuk kalus.

Sampai saat ini, utilisasi plasma nutfah abaka masih terbatas sebagai sumber genetika dalam program pemuliaan, khususnya untuk memperoleh varietas tahan terhadap penyakit atau hama. Penyakit yang banyak ditemukan pada pertanaman abaka adalah penyakit yang disebabkan oleh virus *banana bunchy top*, mosaik, jamur *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp *cubensis* (E.F.Sm) Synder dan Hansen (*Foc*), bakteri *Ralstonia solanacearum*, serta nematoda *Radopholus similis* dan *Pratylenchus coffeae* (Hilman dan Toruan-Mathius, 2001; Hidayah et al., 2007). Hama utama yang banyak dijumpai adalah: *aphids*, ulat *Cosmopolites sordidus* (Germ), hama

Tabel 1. Karakter agro-morfologi aksesi-aksesi abaka koleksi lama

No. Koleksi	Nama aksesi	Asal-tahun	Tinggi batang (cm)	Lingkar batang (cm)	Bobot batang (kg)	Jml pelepas (lembar)	Bobot pelepas (kg)	Bobot serat (g/btg)	Rendemen serat dari pelepas (%)
09/Mtextilis/001	Sangihe I	Bogor-1986	202	34,4	12,25	11	11	272,1	2,5
09/Mtextilis/002	Sangihe II	Bogor-1986	205	35,3	16,63	14	12	387,8	3,2
09/Mtextilis/003	Mb. B	Bogor-1986	199,5	35,4	12,50	12	11	269,1	2,5
09/Mtextilis/004	Mz. VHTE Cirebon	Bogor-1986	218	34,5	13,50	15	11	353,7	3,2
09/Mtextilis/005	Mz. Cilacap	Bogor-1986	319	40,6	18,50	13	15	482,3	3,2
09/Mtextilis/006	Mt Nee Plant	Bogor-1986	185	30,9	10,00	11	9	209,3	2,5
09/Mtextilis/007	Mz Banjar	Bogor-1986	222,7	35,7	13,83	16	12	403,7	3,4
09/Mtextilis/008	Ht Manado	Bogor-1986	187,5	32,3	10,00	11	8	278,9	3,6
09/Mtextilis/009	Linamuan	Bogor-1986	162,5	31,1	9,00	11	7	237,6	3,4
09/Mtextilis/010	Layahan	Bogor-1986	145	31,0	8,00	12	7	152,2	2,3
09/Mtextilis/011	BL-II Manado	Bogor-1986	224,5	36,5	14,75	14	12	285,8	2,3

Sumber: Setyo-Budi *et al.* (2001)

Tabel 2. Karakter morfologi aksesi abaka hasil eksplorasi di Sangihe-Talaud

No. Koleksi	Nama aksesi	Asal-tahun	Warna batang	Warna petiol	Warna jantung	Bentuk jantung	Tinggi batang (m)	Diameter batang (cm)
09/Mtextilis/025	UB/01	Sangihe-1999	Merah-hijau	Hijau	-	-	2-3	15-20
09/Mtextilis/026	UB/02	Sangihe-1999	Hijau-merah muda	Hijau	-	-	2-2,5	15-20
09/Mtextilis/027	UB/03	Sangihe-1999	Merah	Hijau	-	-	2-2,5	15-20
09/Mtextilis/028	UB/04	Sangihe-1999	Hijau	Hijau	Merah hati	Silindris	2-2,5	15-20
09/Mtextilis/029	UB/05	Sangihe-1999	Merah	Hijau	Merah hati	Silindris	2	20-25
09/Mtextilis/030	UB/06	Sangihe-1999	Hijau-merah	Hijau	Merah hati	Silindris	2,5-4	20-25
09/Mtextilis/031	UB/07	Sangihe-1999	Merah	Hijau	Merah hati	Kerucut	2	15-20
09/Mtextilis/032	UB/08	Sangihe-1999	Hijau-merah	Hijau	-	-	3-4	20-25
09/Mtextilis/033	UB/09	Talaud-1999	Hijau-merah	Hijau	Merah muda	Silindris	2-3	15-20
09/Mtextilis/034	UB/10	Talaud-1999	Hijau-merah	Hijau	Merah hati	Silindris	2,5-3	20-25
09/Mtextilis/035	UB/11	Talaud-1999	Hijau-merah	Hijau	Merah hati	Silindris	5-6	30-40
09/Mtextilis/036	UB/12	Talaud-1999	Merah-hijau	Hijau	Merah hati	Kerucut	4-5	20-30
09/Mtextilis/037	UB/13	Talaud-1999	Merah-hitam	Hijau	Merah hati	Kerucut	4-5	20-30
09/Mtextilis/038	UB/14	Talaud-1999	Hitam	Hijau	Merah hati	Kerucut	6-7	30-40
09/Mtextilis/039	UB/15	Talaud-1999	Hitam	Hijau	Merah hati	Kerucut	6-7	30-40

Sumber: Setyo-Budi *et al.* (2004)

pemakanan daun *Thosea sinensis* (Purseglove, 1983; Hilman dan Toruan-Mathius, 2001).

Pemuliaan abaka di Philippina telah menghasilkan hibrida yang merupakan hasil persilangan antara abaka (*M. textilis*, 2n=20) yang memiliki kualitas serat baik, dengan pacol (*M. balbisiana*, 2n=22) yang tahan terhadap virus *bunchy top* dan mosaik. Hibrida ini memiliki sifat tahan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus *bunchy top* dan mosaik serta memiliki kualitas pulp paling tinggi, dan telah dikembangkan secara besar-besaran di Philippina sebagai agro-industri (Villareal, 1988).

Di Indonesia, plasma nutfah abaka belum banyak dimanfaatkan. Dari 36 aksesi koleksi Balittas, baru dilakukan karakterisasi untuk menyusun deskripsi karakter masing-masing aksesi. Deskripsi sebagian aksesi abaka koleksi Balittas disajikan pada Tabel 1 dan 2. Oleh karena

sempitnya keragaman genetik abaka, maka pada tahun 2006 dilakukan peningkatan keragaman genetika melalui mutasi kimia menggunakan EMS (Purwati, 2007).

### Peningkatan Keragaman Genetik

Untuk keberhasilan program pemuliaan yaitu pada kegiatan perakitan varietas atau klon unggul, diperlukan plasma nutfah dengan keragaman genetika tinggi. Keragaman genetika abaka yang ada di Indonesia sangat sempit. Hasil analisis kekerabatan dari koleksi plasma nutfah abaka asal koleksi lama menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) menunjukkan bahwa 9 dari 11 aksesi, memiliki hubungan kekerabatan dekat (Hadipoentyanti *et al.*, 2001). Untuk meningkatkan keragaman genetik abaka dapat dilakukan dengan mutasi dan/atau

induksi keragaman somaklonal melalui kultur jaringan.

Mutasi secara umum dibedakan dalam dua kelompok, yaitu mutasi alami dan mutasi buatan. Mutasi alami terjadi secara spontan dan berkaitan dengan faktor-faktor lingkungan. Mutasi alami terjadi secara lambat, tetapi berlangsung terus-menerus sehingga memerlukan waktu yang lama untuk mengakumulasi mutan dalam populasi alami (van Harten, 1998). Mutasi buatan adalah mutasi yang diinduksi, sebagai salah satu cara untuk menimbulkan keragaman genetik. Mutasi dapat diinduksi dengan cara fisik menggunakan radiasi atau dengan cara kimia menggunakan senyawa yang bersifat mutagen, serta penggunaan elemen transposon yang dikenal dengan mutagenesis insersi. Selain itu, kultur jaringan yang menimbulkan keragaman somaklonal juga dinyatakan sebagai teknik biologi untuk menghasilkan mutan (Bird dan Neuffer, 1987). Mutasi buatan telah memberikan kontribusi nyata terhadap perbaikan tanaman di dunia (Maluszynski *et al.*, 1995).

Mutasi radiasi umumnya menggunakan sinar-x atau gamma, sedangkan mutasi kimia antara lain menggunakan *colchicin*, dietil sulfat (DES), etilenimin (EI), nitroso etil urea, nitroso metil urea, dan etilmelan sulfonat (EMS). EMS termasuk senyawa alkil yang mempunyai potensi tinggi sebagai mutagen yang efisien untuk tanaman tingkat tinggi. EMS merupakan mutagen kimia yang paling banyak digunakan karena mudah dibeli, harganya murah dan tidak meninggalkan racun setelah terhidrolisis (van Harten, 1998). Frekuensi mutasi tinggi diperoleh pada kacang tanah yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi 0,25 – 0,5% (Gowda *et al.*, 1996). Pada tanaman barley, EMS menimbulkan laju mutasi hingga 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan radiasi sinar-x, terutama untuk mutasi klorofil (van Harten, 1998). Kombinasi antara EMS (0,3%) dan dimetil sulfonat atau DMSO (4%) telah berhasil meningkatkan frekuensi mutasi pada tanaman pisang (Matsumoto *et al.*, 1995) yang masih satu genus dengan abaka.

Keragaman somaklonal merupakan keragaman genetika dari tanaman yang dihasilkan melalui proses kultur jaringan (Semal dan Lepoivre, 1990). Keragaman somaklonal dapat berasal dari keragaman genetik yang sebelumnya sudah ada (*pre-existing*) pada eksplan dan keragaman yang diinduksi selama fase kultur jaringan (Skirvin *et al.*, 1994). Keragaman yang timbul akibat induksi pada kultur *in vitro* lebih sering terjadi dan mudah diamati, karena varian diperoleh dari tempat yang terbatas dan dalam waktu singkat (Ahloowalia, 1986). Faktor-faktor yang mempengaruhi terbentuknya keragaman somaklonal pada kultur jaringan adalah: fase pertumbuhan awal, genotipe, zat pengatur tumbuh, sumber jaringan eksplan dan protokol atau prosedur regenerasi *plantlet* (Semal dan Lepoivre, 1990).

Keragaman somaklonal memiliki potensi untuk perbaikan varietas karena: menimbulkan sifat-sifat baru yang tidak diperoleh dari persilangan atau mutasi, dan tidak terdapat hambatan yang sering dijumpai pada hibridisasi seperti: fertilitas rendah, kurangnya keragaman genetik, atau lamanya waktu yang dibutuhkan (Semal dan Lepoivre, 1990). Menurut Cai dan Butler (1996) penggunaan keragaman somaklonal bersama-sama dengan pemuliaan konvensional dapat meningkatkan efisiensi pemuliaan karena dapat memperluas keragaman dan menyingkat waktu proses pemuliaan. Pada spesies-spesies yang berkembang biak secara vegetatif (misal: kentang, pisang, abaka dsb.), mutasi yang dikombinasi dengan teknik kultur jaringan merupakan metode yang paling tepat untuk perbaikan kultivar (Maluszynski *et al.*, 1995). Kombinasi antara mutasi dengan kultur jaringan dapat menghasilkan mutan dengan frekuensi tinggi dalam waktu singkat dan mengurangi terjadinya kimera (Nagatomi, 1996). Di Indonesia, penggunaan mutagen EMS dengan konsentrasi 0,6% menimbulkan paling banyak keragaman somaklonal dalam kultur kalus embriogenik abaka dibandingkan dengan konsentrasi lain yang lebih rendah. Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan adanya keragaman morfologi tanaman (daun variegata, daun

keriting, warna batang hitam, duduk daun berhadapan dan sebagainya) pada mutan tersebut (Purwati, 2007). Untuk memperbaiki ketahanan klon abaka terhadap *Foc*, kalus yang telah diperlakukan dengan mutagen EMS dilanjutkan dengan seleksi *in vitro* dengan menggunakan filtrat kultur (FK) *Foc* dan/atau asam fusarat (AF).

#### Perbaikan ketahanan Abaka Terhadap *Foc* melalui seleksi *in vitro*

Perbaikan tanaman abaka untuk memperoleh klon tahan terhadap penyakit menggunakan persilangan masih sulit dilakukan, karena belum ada genotipe pembawa gen ketahanan yang dapat digunakan sebagai tetua. Oleh karena itu digunakan metode alternatif yaitu seleksi *in vitro*. Seleksi *in vitro* yang dikombinasikan dengan keragaman somaklonal telah banyak digunakan untuk memperoleh tanaman resisten terhadap penyakit pada berbagai jenis tanaman (Ahmed *et al.*, 1996). Keragaman somaklonal memberikan kemungkinan terbentuknya resistensi terhadap patogen tanaman dan sangat berguna untuk perbaikan resistensi tanaman terhadap fungi. Keragaman akan lebih terarah dengan adanya tekanan seleksi baik selama fase regenerasi tunas atau sesudah regenerasi tanaman (Orlando *et al.*, 1997).

Tekanan seleksi dapat berasal dari patogen itu sendiri, toksin atau filtrat kultur fungi. Namun yang paling banyak digunakan untuk seleksi *in vitro* terhadap resistensi atau suseptibilitas adalah penggunaan toksin murni atau filtrat kultur cendawan (Morpurgo *et al.*, 1994). Toksin murni yang digunakan untuk seleksi *in vitro* terhadap *Fusarium* adalah asam fusarat. Asam fusarat (AF) merupakan toksin yang dihasilkan oleh berbagai spesies *Fusarium* yang menyebabkan gejala layu. Seleksi *in vitro* mutan-mutan yang toleran terhadap asam fusarat merupakan salah satu metode yang efektif untuk memperoleh tanaman toleran terhadap *Fusarium* (Matsumoto *et al.*, 1995). Umumnya, ketahanan terhadap toksin yang diekspresikan pada saat regenerasi tanaman memiliki korelasi dengan

tingkat ketahanannya terhadap penyakit, karena ketahanan telah ditransmisikan kepada keturunan tanaman yang terseleksi (Ahmed *et al.*, 1991).

Sebagai *non-host specific toxin* yang disekresikan oleh *Foc* dalam proses infeksi (Bacon *et al.* 1996), AF terbukti berkorelasi positif dengan virulensi isolat *Foc* terhadap tanaman inang. Karena AF merupakan komponen penting dalam proses infeksi, tanaman inang yang insensitif terhadap AF diduga juga resisten (toleran) terhadap infeksi *Foc*. Penggunaan AF sebagai agens penyeleksi dalam seleksi *in vitro*, dapat menghasilkan sel (jaringan) mutan (varian) insensitif terhadap AF, sehingga setelah sel tersebut diregenerasikan menjadi tanaman, dapat menghasilkan klon abaka yang resisten (toleran) terhadap infeksi *Foc*. Identifikasi mutan (varian) yang insensitif terhadap AF dengan seleksi *in vitro* telah dilakukan pada tanaman tomat (Toyoda *et al.* 1984), pisang (Morpurgo *et al.* 1994; Matsumoto *et al.* 1995), gladiol (Remotti *et al.* 1997), nanas (Borras *et al.* 2001), dan abaka (Purwati *et al.*, 2007b).

Dari penelitian Purwati *et al.*, (2007b) dapat diketahui bahwa asam fusarat (AF) menghambat pertumbuhan kalus embriogenik dan tunas abaka, dengan konsentrasi sub-lethal 50 mg/l. Meskipun demikian, diperoleh juga tunas klon Tangongan dan Sangihe-1 yang insensitif AF yang diregenerasikan dari embrio somatik. Dari delapan bibit hasil seleksi *in vitro* yang dievaluasi, diperoleh dua varian yang resisten dengan skor 2 untuk kerusakan bibit dan mampu bertahan hidup hingga 60 hari setelah inokulasi (Tabel 3). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa AF dapat digunakan sebagai agens penyeleksi untuk memperoleh varian abaka yang resisten terhadap *Foc*.

Teknik inokulasi filtrat kultur (FK) *Fusarium* spp. ke dalam medium kultur *in vitro* juga telah umum digunakan untuk memperoleh somaklon resisten terhadap senyawa toksik yang diproduksi oleh patogen tersebut (Ahmed *et al.*, 1996). Namun FK *Fusarium* mampu menghambat pertumbuhan sel pada tanaman anyelir (Thakur *et al.* 2002), dan meningkatkan nekrosis pada tanaman nanas terutama kultivar yang peka

Tabel 3. Skor kerusakan bibit yang diamati 60 hari sesudah inokulasi dan saat bibit mati (hari) setelah inokulasi dengan *Foc* isolat Banyuwangi di rumah kaca.

No	No varian	Skor kerusakan bibit (60 HSI)	Bibit Mati (hari)
<b>Klon asal: Tangongan</b>			
1	Tg 70.3.1.1-10	4	14
2	Tg 70.3.1.1-8	4	14
3	Tg 70.3.1.1-9	4	14
4	Tg 70.3.1.1-3	4	28
5	Tg 70.3.1.1-7	4	28
6	Tg 70.3.1.1-4	4	56
7	Tg 70.3.1.1-2	2	-
8	Tg 70.3.1.1-6	2	-

Keterangan:

Skoring gejala layu pada bibit abaka akibat infeksi *Foc* dilakukan mengikuti kriteria yang dikembangkan Epp (1987), yaitu: **skor 0** – bibit sehat dan tidak menunjukkan gejala layu; **skor 1** – daun bagian bawah sedikit menguning dan mengering; **skor 2** – peningkatan jumlah daun yang menguning dan bibit mulai layu; **skor 3** – seluruh bibit mengering kecuali daun yang baru atau belum membuka; **skor 4** – bibit mati (-) mengindikasikan bibit mampu bertahan hidup hingga 60 hari dan tidak mati sesudah inokulasi dengan *Foc* isolat Bw.

HSI : Hari setelah inokulasi

Tabel 4. Skor kerusakan bibit dan saat bibit mati (hari) setelah inokulasi dengan *Foc* isolat Banyuwangi di rumah kaca.

No	No varian	Skor kerusakan bibit (60 HSI)	Bibit Mati (hari)	No.	No varian	Skor kerusakan bibit (60 HSI)	Bibit Mati (hari)
<b>Klon asal: Tangongan</b>							
1	Tg 3.2.1.2-5	4	14	1	Sh 1.1.3-11	4	14
2	Tg 45.2.2.1-3	4	14	2	Sh 1.1.3-2	4	14
3	Tg 45.2.2.2-3	4	14	3	Sh 1.1.3-4	4	42
4	Tg 45.2.2.2-4	4	14	4	Sh 10.1.1-4	4	28
5	Tg 45.2.2.2-6	4	28	5	Sh 10.1.1-5	4	28
6	Tg 70.2.3-3	4	28	6	Sh 17.2.1-6	4	14
7	Tg 3.2.1.1-2	4	56	7	Sh 17.2.1-8	4	14
8	Tg 70.2.3-2	4	56	8	Sh 42.2.3-1	4	14
9	Tg 70.2.3-4	4	56	9	Sh 42.2.3-3	4	14
10	Tg 3.2.1.1-3	2	-	10	Sh 42.2.3-6	4	14
11	Tg 3.2.1.1-4	2	-	11	Sh 42.2.3-5	4	28
12	Tg 3.2.1.2-3	2	-	12	Sh 1.1.3-6	2	-
13	Tg 3.2.1.2-4	2	-	13	Sh 1.1.3-7	1	-
14	Tg 45.2.2.2-2	1	-	14	Sh 1.1.3-9	2	-
15	Tg 70.2.3-1	1	-	15	Sh 1.1.3-10	1	-
16	Tg 70.2.3-5	1	-	16	Sh 10.1.1-2	1	-
17	Tg 70.2.3-7	1	-	17	Sh 10.1.1-3	2	-
				18	Sh 17.2.1-4	2	-
				19	Sh 17.2.1-7	1	-

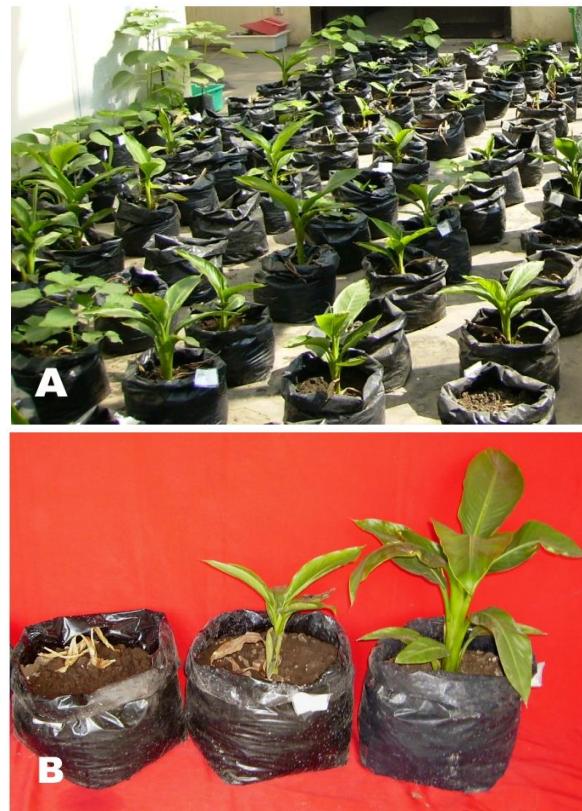
Keterangan:

Skoring gejala layu pada bibit abaka akibat infeksi *Foc* dilakukan mengikuti kriteria yang dikembangkan Epp (1987), yaitu: **skor 0** – bibit sehat dan tidak menunjukkan gejala layu; **skor 1** – daun bagian bawah sedikit menguning dan mengering; **skor 2** – peningkatan jumlah daun yang menguning dan bibit mulai layu; **skor 3** – seluruh bibit mengering kecuali daun yang baru atau belum membuka; **skor 4** – bibit mati (-) mengindikasikan bibit mampu bertahan hidup hingga 60 hari dan tidak mati sesudah inokulasi dengan *Foc* isolat Bw.

HSI : Hari setelah inokulasi

(Hidalgo *et al.* 1999). Pada dasarnya keberhasilan seleksi *in vitro* ditentukan antara lain oleh tersedianya (1) metode kultur jaringan yang efektif yaitu mampu menghasilkan *plantlet* dalam jumlah banyak dan sekaligus mampu menginduksi terjadinya variasi somaklonal pada *plantlet* dan (2) media selektif yang mampu menghambat pertumbuhan sel (jaringan) normal dan memproliferasikan sel (jaringan) varian dengan sifat tertentu menjadi *plantlet* (Yusnita *et al.*, 2005). Metode baku regenerasi *plantlet* abaka dalam jumlah besar secara *in vitro* telah tersedia (Mariska dan Sukmadjaja, 2003). Untuk mendapatkan ketahanan terhadap infeksi *Fusarium*, filtrat kultur (FK) *Fusarium* terbukti dapat digunakan sebagai agens penyeleksi (Thakur *et al.*, 2002; Inayati, 2003; Damayanti, 2004). Dengan demikian, dua persyaratan yang menunjang keberhasilan seleksi *in vitro* untuk mendapatkan klon abaka yang resisten terhadap *Foc* telah tersedia.

Penelitian untuk memperoleh klon abaka yang tahan terhadap penyakit layu *Fusarium* dengan menggunakan FK sebagai agens penyeleksi telah dilakukan oleh Purwati *et al.* (2007a). Hasil penelitian menunjukkan bahwa FK dari tiga isolat *Foc* yang dievaluasi (Banyuwangi, Bojonegoro, dan Malang), memiliki daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan tunas abaka. Isolat yang paling kuat daya hambatnya adalah isolat Banyuwangi. Dari seleksi *in vitro* kalus embriogenik pada media yang mengandung 40% FK *Foc* isolat Banyuwangi diperoleh tunas abaka klon Tangongan dan Sangihe-1 yang insensitif terhadap FK *Foc*. Setelah diaklimatisasi, bibit abaka yang berasal dari tunas insensitif tersebut dievaluasi dengan metode inokulasi buatan menggunakan konidia *Foc* isolat Banyuwangi di rumah kaca. Dari 36 bibit yang dievaluasi terdapat delapan varian yang berasal dari klon Tangongan dan delapan varian yang berasal dari klon Sangihe-1 termasuk dalam kategori tahan, yaitu memiliki skor kerusakan bibit antara 1-2 dan bibit tidak mati hingga 60 hari setelah inokulasi (Tabel 4). Contoh bibit abaka yang tahan terhadap infeksi *Foc* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. A: Populasi bibit abaka pada evaluasi terhadap infeksi *Foc* isolat Banyuwangi di rumah kaca, B: bibit abaka yang mati dan yang tetap bertahan hidup pada 60 hari setelah diinokulasi dengan *Foc*.

## PROSPEK PENGEMBANGAN ABAKA

Kebutuhan serat abaka di Indonesia cukup tinggi terutama untuk memenuhi kebutuhan pembuatan tali-temali dan kertas berkualitas tinggi seperti: kertas mata uang, kertas dokumen, kertas cheque, kertas tissue dan sebagainya. Hal ini karena kertas yang berasal dari serat abaka tahan lama, tidak mudah robek dan tidak mudah lusuh (FAO, 1996). Khusus untuk kertas mata uang, Bank Indonesia (BI) telah melakukan kerjasama penelitian dengan ITS yang hasilnya menunjukkan bahwa komposisi serat kapas dan abaka menghasilkan pulp dan kertas yang memenuhi persyaratan BI. Setiap tahun BI membutuhkan kertas uang 1,7 juta reem atau setara dengan kertas bahan uang  $\pm 6.800$  ton/tahun. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut diperlukan bahan baku serat abaka sebanyak

±13.600 ton/tahun atau kebun abaka seluas ±7000 hektar (Sudjindro, 2004). Selain itu, banyak pihak yang membutuhkan serat abaka antara lain: PT. Alstrom dan PT. Rekso Group untuk bahan baku kertas pembungkus teh celup, PT. Ata Kharisma dan PT. Agrina Prima untuk bahan baku pulp, PT. Retota Sakti untuk bahan kerajinan tangan dan tekstil. Keadaan ini memberikan peluang untuk mengembangkan abaka di Indonesia, apalagi abaka termasuk dalam satu famili dengan pisang yang secara agronomis sangat sesuai dengan iklim tropis di Indonesia.

Berdasarkan pengalaman PT. Perkebunan Bayulor, Banyuwangi, pengusahaan abaka mampu menyerap tenaga kerja sekitar 232 HOK/ha untuk sekali panen. Apabila abaka dikembangkan di tingkat petani dengan produktivitas serat 1,5 ton/ha/panen atau 3 ton/ha/panen, pada tahun pertama sudah mampu menghasilkan keuntungan Rp. 3,5 juta/ha/panen atau Rp. 9 juta/ha/tahun. Keuntungan tersebut dicapai apabila harga serat Rp. 10.000,00/kg, populasi tanaman 660 rumpun/ha, sistem panen tebang 2 kali panen/tahun, penggunaan pupuk sekali setahun, dan nilai produksi atau penerimaan sudah dikurangi jasa prosesing melalui penetapan harga serat. Namun, keuntungan tersebut akan berkurang sekitar 10-20% apabila terjadi serangan penyakit, terutama penyakit layu yang disebabkan oleh *Foc*. Telah diketahui bahwa pengendalian *Foc* di lapangan sulit dilakukan karena cendawan ini mampu bertahan dalam waktu yang lama di antara sisa-sisa tanaman yang terinfeksi dalam bentuk miselia, atau di tanah dalam bentuk klamidospora (Agrios, 1997). Sejauh ini, penggunaan kultivar yang resisten merupakan metode pengendalian *Foc* yang efektif (Ploetz, 2000). Pengembangan abaka dengan menggunakan 18 varian abaka resisten terhadap *Foc* yang diperoleh melalui seleksi *in vitro* yaitu Tg 3.2.1.1-3, Tg 3.2.1.1-4, Tg 3.2.1.2-3, Tg 3.2.1.2-4, Tg 45.2.2.2-2, Tg 70.2.3-1, Tg 70.2.3-5, Tg 70.2.3-7, Tg-70.3.1.1-2 dan Tg-70.3.1.1-6, Sh 1.1.3-6, Sh 1.1.3-7, Sh 1.1.3-9, Sh 1.1.3-10, Sh 10.1.1-2, Sh 10.1.1-3, Sh 17.2.1-4, Sh 17.2.1-7 (Tabel 3 dan 4), akan mengurangi biaya

pemeliharaan dan pengendalian penyakit sekitar 10-20% dari total biaya produksi. Dengan demikian akan memberikan peluang kepada petani maupun pengusaha untuk meningkatkan keuntungan hingga 10-20% atau setara dengan Rp. 900.000,00 - Rp 1.800.000,00.

## KESIMPULAN

Keberhasilan pengembangan abaka di Indonesia perlu didukung oleh ketersediaan teknologi budidaya yang tepat antara lain penggunaan klon unggul tahan hama atau penyakit. Salah satu penyakit yang dijumpai di areal perkebunan abaka dan pisang (*Musa spp.*) adalah penyakit layu yang disebabkan oleh *F. oxysporum f.sp. cubense (Foc)*. Tersedianya klon unggul tahan *Foc* akan mengurangi penggunaan pestisida sehingga selain dapat menekan biaya produksi juga aman bagi lingkungan. Dengan diperolehnya 18 varian abaka tahan terhadap infeksi *Foc*, akan mendukung pengembangan agribisnis abaka.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology. Academic Press, Inc. San Diego, USA. 634 pp
- Ahloowalia, B.S. 1986. Limitation to the use of somaclonal variation in crop improvement. *Dalam: Semal, J. (ed). Somaclonal Variation and Crop Improvement.* New York:: Martinus Nijhoff Pub. p. 14-27
- Ahmed, K.Z., A. Mesterhazy, and F. Sagi. 1991. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum L.*) for *Fusarium*-resistance. I. double-layer culture technique. *Euphytica* 57:251-257
- Ahmed, K.Z., A. Mesterhazy, T. Bartok, and F. Sagi. 1996. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum L.*) for *Fusarium*-resistance II. Culture filtrate technique and inheritance of *Fusarium*-resistance in the somaclones. *Euphytica* 91: 341-349
- Aragon, T.C. 2000. Fiber crops programme area research planning and prioritization. Phillipine Institute for Development

- Studies. <http://www.pids.gov.ph> [28 Juni 2006].
- Bacon, C.W., J.K. Porter, W.P. Norred, and J.F. Leslie. 1996. Production of Fusaric acid by *Fusarium* species. App. Env. Microbiol 62(11): 4039-4043.
- Bastasa, G.N. dan A.A. Baliad. 2005. Biological control of Fusarium wilt of abaca (*Fusarium oxysporum*) with Trichoderma and yeast. Philippines J Crops Sci 30:29-37.
- Bird, R.McK., and M.G. Neuffer. 1987. Induced mutation in maize. Plant Breeding Reviews 5:139-180
- Borras, O., R. Santos, A.P. Matos, R.S. Cabral, and M. Arzola. 2001. A first attempt to use a *Fusarium subglutinans* culture filtrate for the selection of pineapple cultivars resistant to fusariose disease. Plant Breeding 120: 435-438.
- Cai, T., and L.G. Butler. 1996. Somaclonal variation in sorghum. Dalam: Bajaj Y.P.S (ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry 36: Somaclonal variation in crop improvement II. Springer. Amsterdam, Netherlands, p.81-106.
- Damayanti, F. 2004. Seleksi *in vitro* tanaman abaka (*Musa textilis* Nee) dengan filtrat *Fusarium oxysporum* untuk ketahanan terhadap penyakit layu Fusarium. Bioscientiae 1(2):11-22.
- Dempsey, J.M. 1975. Fiber Crops. The University Presses of Florida Gainesville, USA. 457 pp.
- Di-Pietro, A., M.P. Madrid, Z. Caracuel, J. Delgado-Jarana, and M.I.G. Roncero. 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. Mol Plant Pathol 4:315-325.
- Djatnika, I., C. Hermanto, dan Eliza. 2003. Pengendalian hayati layu Fusarium pada tanaman pisang dengan *Pseudomonas fluorescens* dan *Gliocladium* sp. J Hort 13:205-211.
- Duryatmo, S. dan R. Dasoeiki. 1999. Pisang abaca bahan baku penghasil uang. Trubus 30 (351):48-49.
- FAO, 1996. A Development strategy for hard fibres twenty-ninth session of the Intergovernmental Group on hard fibres. Manila, 23-27 September 1996.
- Gowda, M.V.C., H.L. Nadaf, and R. Sheshagiri. 1996. The role of mutation in intraspecific differentiation of groundnut (*Arachis hypogaea* L). Euphytica 90:105-113.
- Hadipoentyanti, E., D. Ratnadewi, and L. Solihat. 2001. Variabilitas genetik berbagai varietas abaka (*Musa textilis* Nee) dan kerabat liar melalui analisis RAPD. Zuriat 12:93-106.
- Heyne K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia I. Yayasan Sarana Warna Jaya. Jakarta, Indonesia.
- Hidalgo, O.B., R. Santos, R.T. Tussel, A.P. de Matos, R.S. Cabral, M. Arzola, M.C. Perez. 1999. Phytotoxicity of *Fusarium subglutinans* culture filtrates on *in vitro* plantlets and calli of resistant and susceptible pineapple (*Ananas comosus*). Plant Pathology 48: 756-758.
- Hidayah, N., C. Suhara, dan Supriyono. 2007. Penyakit tanaman abaka (*Musa textilis* Nee). Dalam: Prosiding Lokakarya Nasional Kapas dan Rami di Surabaya 15 Maret 2006. Puslibangbun, Bogor. 2007. hlm 117-120
- Hilario, A. 2006. The abaca republic. Philippines J. Crop Sci. 31(2): 01-02.
- Hilman, I., dan N. Toruan-Mathius. 2001. Budi daya dan prospek pengembangan abaka. Penebar Swadaya. Jakarta Indonesia. 56 hlm.
- Inayati A. 2003. Seleksi ketahanan *in vitro* plantlet vanili terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *vanillae* menggunakan teknik double layer, kultur filtrat dan asam fusarat. Tesis. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 79 hlm.
- Maluszynski, M., B.S. Ahloowalia, and B. Sigurbjörnsson. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. Euphytica 85: 303-315.
- Mariska, I., dan D. Sukmadjaja. 2003. Perbanyak bibit abaka melalui kultur jaringan. Balitbiogen. Bogor, Indonesia. 14 hlm.

- Matsumoto, K., M.L. Barbosa, L.A.C. Souza, and Teixeira. 1995. Race 1 fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. *Euphytica* 84:67-71
- Morpurgo, R., S.V. Lopato, R. Afza, and F.J. Novak. 1994. Selection parameters for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* race 1 and 4 on diploid banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica* 75:121-129
- Nagatomi, S. 1996. A new approach of radiation breeding toward improvement of disease resistance in crops. *Dalam Proc. Seminar on Integrated Control on Main Diseases of Industrial Crops.* Bogor, 13-14 March 1996. RISMC-JICA. p. 16-24
- Nasir, N. dan Jumjunidang. 2003. Karakterisasi ras *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* dengan metode *vegetative compatibility group test* dan identifikasi kultivar pisang yang terserang. *J. Hort.* 13(4): 276-284.
- Orlando, R., P. Magro, and E. Rugini. 1997. Pectic enzymes as a selective pressure tool for *in vitro* recovery of strawberry plants with fungal disease resistance. *Plant Cell Rep.* 16:272-276.
- Ploetz, R.C. 2000. Banana disease: a classic and destructive disease of banana. [www.plantmanagementnetwork.org](http://www.plantmanagementnetwork.org). [23 Februari 2006].
- Prayitno. 1999. Peranan Pemerintah dalam Upaya Pengembangan Budidaya Tanaman Abaka. Makalah pada Seminar dan Lokakarya Nasional Peluang dan Potensi Serat Abaka sebagai Komoditi Ekspor Prospektif dan Pemberdayaan Ekonomi Rakyat, 15 September 1999, Jakarta.
- Purseglove, J.W. 1983. Tropical Crops Monocotyledons. ELBS and Longman Group Ltd. Britain. p. 337-384.
- Purwati, R.D. 2007. Variasi somaklonal dan seleksi *in vitro* abaka (*Musa textilis* Nee) untuk ketahanan terhadap layu Fusarium. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. 145 hlm.
- Purwati, R.D., S. Harran dan Sudarsono. 2007a. *In vitro* selection of abaca for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. *Hayati* 14 (2):65-70.
- Purwati, R.D., U. Setyo-Budi, dan Sudarsono. 2007b. Penggunaan asam fusarat dalam seleksi *in vitro* untuk resistensi abaka terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. *Jurnal Littri* 13 (2): 64-72.
- Remotti, P.C., H.J.M. Loffler, and L.V. Loten-Doting. 1997. Selection of cell lines and regeneration of plants resistant to fusaric acid from *Gladiolus x grandiflorus* c.v. 'Peter Pear'. *Euphytica* 96:237-245.
- Semal, J., and P. Lepoivre. 1990. Application of tissue culture variability to crop improvement. *Dalam: Bhojwani S.S. (ed). Developments in Crop Science 19. Plant Tissue Culture: Applications and Limitations.* Elsevier. Amsterdam, Netherland. p. 301-315.
- Setyo-Budi, U., Sudjindro, dan R.D. Purwati. 2001. Status plasma nutfah abaka: "Menyongsong program agribisnis abaka di Indonesia". Di dalam: Kasno A *et al.*(ed). Kontribusi Pemuliaan dalam Inovasi Teknologi Ramah Lingkungan. PERIPI. Bandung. Hlm. 254-258.
- Setyo-Budi, U., B. Heliyanto dan Sudjindro. 2004. Eksplorasi sumber genetik abaka di Sangihe-Talaud. *Bul. Plasma Nutfah* 10 (2):77-81.
- Skirvin, R.M., K.D. McPheeters, and M. Norton. 1994. Sources and frequency of somaclonal variation. *Hort. Sci.* 29(11): 1232-1237.
- Sudjindro. 2004. Prospek serat alam (kapas, abaka, rami, dan kenaf) untuk bahan baku kertas uang. Laporan bulan Pebruari 2004. Balittas, Malang. 4 pp.
- Thakur, M., D.R. Sharma, and S.K. Sharma. 2002. *In vitro* selection and regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L) plants resistant to culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Plant Cell Rep* 20:825-828.
- Toyoda, H., H. Hayashi, and K. Yamamoto. 1984. Selection of resistant tomato calli to fusaric acid. *Ann. Phytopath Soc. Japan* 50 (4): 538-540.

- Triyanto, H.S., Muliah, dan M. Edi. 1982. Batang abaka (*Musa textilis* Nee) sebagai bahan baku kertas. Berita Selulosa 18:27.
- van Harten, A.M. 1998. Mutation Breeding: theory and practical application. Cambridge University Press. Cambridge, England. 342 pp.
- Villareal, R.L. 1988. Breeding of horticultural crops in the Philippines. The Philippine Agric. Special issue: 21-35.
- Villordon, A.Q. 2003. The abaca, a Philippine native. <http://www.mozcom.com/SCF/pv/abaca.html>. [18 April 2003].
- Yusnita, Widodo, dan Sudarsono. 2005. *In vitro* selection of peanut somatic embryos on medium containing culture filtrate of *Sclerotium rolfsii* and plantlet regeneration. Hayati 12(2): 50-56.