

Keragaman Somaklonal untuk Perbaikan Tanaman *Artemisia* (*Artemisia annua* L.) melalui Kultur *In Vitro*

Endang G. Lestari¹, Ragapadmi Purnamaningsih¹, M. Syukur², dan Rosa Yunita¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Somaclonal Variability for the Improvement of Plants *Artemisia* (*Artemisia annua* L.) by *In Vitro* Culture.

Endang G. Lestari, Rosa Yunita, and Ali Husni. *Artemisia annua* L., a family member of Asteraceae, is medicinal plants originated from China. The plant has been widely used by the local people for malaria remedy. Its active substance, artemisinin, has been proved to hamper the malaria bacteria incubation, *Plasmodium* sp. In accordance with the WHO recommendation, the Department of Health of Indonesia is now in the attempt of developing this plant as the substitute of chloroquin because of the malaria bacteria resistance to this antidote. In Indonesia, the artemisinin content of the plant less than 0,5% is the crucial problem leading no investors are interested in its economic value. Therefore, Indonesian Medicinal and Spice Crops Research Institute; BPTO Tawangmangu, Indonesian Institute of Sciences; and PT Kimia Farma cooperate for obtaining the prime clone by breeding, selection, as well as environmental adaptation. In coping with the problem, ICABIOGRAD in the collaboration with Bogor Agricultural University have conducted the research for genetic improvement through mutative induction and field selection. This research on somaclonal variation. was conducted from Januari 2006 to Juni 2008. Eksplan used for experiment were shoots radiated with 10-100 Gy gamma ray. The result showed that the shoot radiated with the dosage of 70-100 Gy was unable to grow. On the other hand, the high level of multiplication was acquired in the one radiated with 10-30 Gy. The optimum radiation for somaclonal radiation was eventually gained with 40-60 Gy. The somaclone lines with 10-60 Gy radiation have been acclimatized and planted in Gunung Putri plot in the elevation of 1545 asl. Artemisinin content at the high biomases genotype is 0,49-0,52%.

Key words: *Artemisia annua* L., artemisinin, somaclone, varieties, gamma ray.

PENDAHULUAN

Artemisia annua L. merupakan tumbuhan obat termasuk suku *Asteraceae* (Anonim 2006) berupa tanaman perdu semusim, tanaman ini berasal dari Cina. Di Cina tumbuhan ini disebut *qinghao* (Nurrachman dan Putrianti 2003) dan di Amerika Serikat tumbuhan ini dikenal dengan nama *sweet annie* atau *worm wood*. Tanaman ini tersebar dan

tumbuh alami di banyak negara seperti Argentina, Bulgaria, Perancis, Hungaria, Italia, Spanyol, dan Yugoslavia.

Artemisia annua L. telah digunakan sejak zaman dulu oleh penduduk Cina untuk mengobati demam akibat malaria. Bahan aktif dalam tumbuhan ini disebut *qinghaosu* dalam bahasa Cina atau artemisinin, artemisinin merupakan sesquiterpene lakton dengan jembatan endoperoxide yang jarang ditemui di alam. Artemisinin terbukti secara klinis bisa menghambat perkembangan *Plasmodium* sp. penyebab penyakit malaria, oleh karena itu artemisinin digunakan sebagai bahan aktif campuran obat anti malaria dan sudah dijual secara komersial.

Salah satu masalah dalam pengembangan tanaman artemisia di Indonesia adalah genotipe yang tersedia saat ini mempunyai kandungan artemisinin yang sangat rendah, yaitu berkisar 0,01-0,5%. Dengan kandungan yang relatif kecil, dianggap tidak efektif dan tidak ekonomis bagi pengusaha yang akan mengembangkan dalam skala industri. Cina telah berhasil mengembangkan beberapa klon yang produksi artemisininnya >1%, akan tetapi klon ini tidak disebarluaskan karena bersifat spesifik lokasi. Permasalahan lainnya adalah di daerah aslinya tanaman ini tumbuh di dataran tinggi dengan ketinggian lebih dari 1.000 m. Sementara itu di Indonesia areal dengan ketinggian tersebut biasanya ditanam tanaman sayuran, sehingga ada persaingan dengan tanaman sayuran dalam membudidayakan tanaman tersebut.

Dalam bidang pemuliaan tanaman, teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki. Mutasi induksi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan bahan mutagen tertentu terhadap organ reproduksi tanaman seperti biji, stek batang, serbuk sari, akar/rhizome, dan sebagainya.

Mutasi atau perubahan karakter yang diwariskan karena mutasi dapat terbentuk pada fase sel maupun kalus pada tahap kultur *in vitro* atau pada eksplan karena adanya sel-sel bermutasi pada jaringan tertentu. Perubahan genetik dalam kultur *in vitro* dapat disebabkan adanya perubahan jumlah dan struktur kromo-

som, endomitosis atau endoreduplikasi (Karp 1995, Maluszynski *et al.* 1995).

Beberapa tanaman hasil seleksi somaklonal yang telah dilepas antara lain tebu tahan penyakit dengan kadar sukrosa yang lebih tinggi serta jagung, tembakau, anggrek, bawang, nenas, dan kentang dengan kualitas dan kuantitas yang lebih baik (Mariska dan Lestari 2003). Penerapan mutasi induksi di Indonesia yang sudah menghasilkan varietas baru terutama pada tanaman padi, yaitu untuk mendapatkan tanaman dengan umur genjah, tahan terhadap serangan patogen dan kekeringan serta kualitas biji yang disenangi konsumen. Beberapa varietas padi hasil mutasi antara lain Atomita 1, 2, 3, dan 4, padi gogo Situgintung, Winongo, Cilosari, dan Diah Suci (Mugiono dan Dwimahyani 2008).

Tujuan penelitian untuk mendapatkan genotipe tanaman berbunga lebih lambat dan biomasa lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman induknya serta kandungan artemisinin $\geq 0,5\%$

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, dan Kebun Percobaan Gunung Putri Balitro di Cipanas, dari Januari 2007 sampai Oktober 2008. Bahan tanaman diperoleh dari Balitro, sedangkan iradiasi dilakukan di Badan Tenga Atom Nasional (BATAN).

Percobaan terdiri dari beberapa tahap, yaitu (1) menentukan dosis iradiasi yang optimum, (2) multiplikasi tunas hasil iradiasi dan perbanyakan genotipe, (3) aklimatisasi, (4) karakterisasi dan seleksi genotipe di lapang.

Menentukan Dosis Radiasi yang Optimum

Eksplan berupa mata tunas diambil dari lapang kemudian dibiakkan secara *in vitro* untuk digunakan sebagai bahan iradiasi. Bahan tanaman yang diiradiasi adalah mata tunas *in vitro* dengan ukuran $\pm 0,3$ cm, dosis sinar gamma yang diberikan adalah 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy. Banyaknya tunas pucuk yang diiradiasi untuk masing-masing dosis adalah 60 tunas, setelah diberi perlakuan iradiasi selanjutnya di pindah pada media dasar MS + BA 0,3 mg/l untuk induksi multiplikasi. Biakan diletakkan di ruang kultur dengan intensitas penyinaran 1.500 lux selama 16 jam dalam sehari. Peubah yang diamati adalah tinggi dan jumlah tunas.

Perbanyakan Tunas

Tunas yang telah diberi perlakuan iradiasi di subkultur pada media yang sama untuk induksi multiplikasi tunas, yaitu MS + BA 0,3 mg/l, masing-masing genotipe minimal 5 tunas digunakan sebagai ulangan.

Aklimatisasi

Planlet yang diperoleh diaklimatisasi apabila semua genotipe sudah menghasilkan akar 5-7 cm panjangnya. Media untuk aklimatisasi adalah tanah dicampur dengan pupuk kandang dengan perbandingan 2 : 1. Tanaman disungkup menggunakan gelas plastik sampai 2-3 minggu saat awal penanaman. Apabila tanaman sudah cukup tegar maka gelas plastik kemudian dibuka.

Penanaman di Lapang

Bibit di rumah kaca yang telah berumur ± 2 bulan ditanam di Kebun Percobaan Gunung Putri, dengan ketinggian tempat 1.545 m dpl. Banyaknya tanaman dari masing-masing dosis tidak sama karena pada saat aklimatisasi banyak tanaman yang mati. Jumlah masing-masing sebagai berikut: 0 Gy = 4, 10 Gy = 9, 20 Gy = 1, 30 Gy = 3, 40 Gy = 68, 50 Gy = 20, 60 Gy = 60. Tanaman ditanam dalam polybag yang telah diisi 30 kg tanah + pupuk kandang. Peubah yang diamati adalah warna batang, tinggi tanaman, jumlah cabang, bentuk daun, dan usia pembungaan. Tujuan penanaman di lapang adalah untuk mengamati keragaman yang dihasilkan pada populasi yang ada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tunas pucuk yang telah diberi perlakuan mutagen fisik sampai 60 Gy dapat tumbuh dan bermultiplikasi pada media regenerasi MS + BA 0,3 mg/l (Yusnita dan Lestari 2008). Pengaruh dosis iradiasi pada pertumbuhan eksplan dapat dilihat dari kecepatan pertumbuhan tunas untuk masing-masing dosis iradiasi yang diberikan. Pada iradiasi dengan dosis 10-30 Gy maka multiplikasi dan pemanjangan tunas relatif cepat. Banyaknya tunas/eksplan bervariasi antara 2-4 buah/eksplan dan tinggi tunasnya antara 4-7 cm (Tabel 1). Pemberian iradiasi dengan dosis 10-20 Gy tidak menimbulkan penghambatan sehingga dianggap belum memberikan efek mutasi.

Besarnya dosis iradiasi yang dianggap mampu menghasilkan keragaman somaklonal adalah yang dapat menghambat pertumbuhan, seperti pemendekan tunas (Aisyah 2006) namun masih dapat melakukan penggandaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis iradiasi 50-60 Gy, pertumbuhan tunas su-

dah mulai terhambat tetapi tingkat multiplikasi relatif masih tinggi, sehingga dosis tersebut dianggap sudah tepat untuk menimbulkan mutasi. Tunas yang diiradiasi dengan dosis tersebut diharapkan mengalami perubahan genetik untuk sifat yang diinginkan seperti memperlambat pembungaan dan meningkatkan kandungan artemisinin. Sedangkan sifat yang sudah baik pada tanaman tersebut tidak berubah hal ini sesuai dengan pernyataan Harten (1998) bahwa pada lethal dosis 50% (LD_{50}) menyebabkan kerusakan yang tidak terlalu besar sehingga sifat tertentu seperti tinggi dan produksi tanaman tidak berubah.

Tunas yang diiradiasi dengan dosis 70-100 Gy menjadi coklat dan mati, beberapa tunas masih hijau namun tidak berkembang, diduga pada dosis tersebut menyebabkan kerusakan pada jaringan. Pertumbuhan biakan pada subkultur pertama tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata walaupun kecepatan tumbuhnya agak lambat pada tunas yang diberi per-

lakukan iradiasi 50-60 Gy. Perbedaan yang nyata dapat dilihat setelah subkultur ke-2, tunas yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 60 Gy, tampak ada pemendekan tunas dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu rata-rata 2,62 cm (Tabel 2).

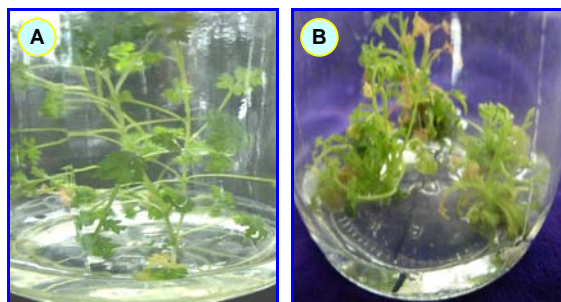
Penghambatan pemanjangan tunas akibat pengaruh iradiasi dapat menyebabkan kerusakan fisiologi pada jaringan meristem yang radiosensitif (Aisyah 2006). Beberapa tanaman menjadi pendek karena iradiasi juga terjadi pada tanaman abaka (Sukmadjaja *et al.* 2002) dan panili (Lestari *et al.* 1998). Iradiasi dapat menyebabkan pembelahan sel menjadi terhambat demikian pula aktivitas IAA yang berperan untuk pemanjangan sel. Pada penelitian ini iradiasi dengan dosis 60 Gy selain memendekkan tunas juga menyebabkan vitrifikasi walaupun tunas yang dihasilkan lebih banyak (Gambar 1) selain itu pembentukan akarnya agak terhambat serta tunas mencoklat.

Tabel 1. Pertumbuhan biakan dari tunas pucuk yang diiradiasi, minggu ke-4 setelah tanam, subkultur ke-1.

Iradiasi sinar gamma (Gy)	Kisaran jumlah tunas	Kisaran tinggi tunas (cm)
0	3,2±0,6	5,1±0,6
10	3,4±0,8	5,8±1,2
20	3,3±0,8	5,7±1,8
30	3,7±1,3	3,8±1,2
40	3,4±0,8	2,8±0,8
50	1,0±0	2,0±0
60	1,11±0,3	2,1±1
70	0	0
80	0	0
90	0	0
100	0	0

Tabel 2. Pertumbuhan tunas hasil subkultur ke-2, minggu ke-4 setelah tanam.

Dosis radiasi (Gy)	Kisaran jumlah tunas/eksplan	Kisaran tinggi tunas/eksplan (cm)	Keterangan
0	4,7±0,5	6,8±0,8	Normal
10	3,7±0,7	5,2±0,9	Normal
20	3,8±1,8	6,6±2,9	Normal
30	3,2±1,4	4,2±1,7	Normal
40	3,1±0,4	6,4±5,2	Normal
50	1,1±0,4	3,1±2,7	Roset kecoklatan
60	1,2±0,4	2,6±0,7	Roset kecoklatan



Gambar 1. Tunas tanpa perlakuan radiasi (A) dan tunas diiradiasi dengan dosis 60 Gy (B).

Aklimatisasi

Minggu ke-5 setelah aklimatisasi tanaman sudah tampak tegar sehingga sungkup sudah dapat dibuka. Pengamatan pada pertumbuhan tanaman di rumah kaca menunjukkan bahwa sebagian besar tanaman sudah menghasilkan bunga pada bulan ke-3 setelah tanam, hal ini diduga tanaman mengalami stres karena temperatur terlalu panas. Tanaman artemisia tidak cocok ditanam di dataran rendah seperti di Bogor dengan ketinggian tempat 200 m dpl, tempat tumbuh yang sesuai adalah dataran tinggi di atas 1.000 m dpl (Gusmaini dan Nurhayati 2007). Untuk menghindari tanaman berbunga sebaiknya bibit yang dihasilkan segera ditanam di lokasi yang cocok untuk pertumbuhannya.

Pengamatan tanaman umur 10 minggu di rumah kaca menunjukkan adanya perbedaan bentuk dan warna daun, namun untuk memastikan adanya keragaman somaklonal pada tanaman hasil iradiasi belum dapat dilakukan karena lingkungan tumbuhnya tidak sesuai. Untuk melihat adanya keragaman yang ditimbulkan dilakukan pengamatan pada tanaman yang ditanam di lapang di dataran tinggi KP Gunung Putri Pertumbuhan bibit pada umur 8 minggu setelah aklimatisasi di rumah kaca di sajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pertumbuhan bibit pada umur 8 minggu setelah aklimatisasi di rumah kaca.

Variasi Morfologi Tanaman di Lapang

Pertumbuhan tanaman di lapang diamati untuk mengevaluasi adanya variasi yang disebabkan perlakuan iradiasi. Pertumbuhan tanaman di lapang menunjukkan adanya variasi setelah dua bulan penanaman. Variasi yang dapat diamati antara lain pada warna daun, warna batang, bentuk daun, dan tinggi tanaman.

Sampai bulan ke-4 setelah tanam, variasi tersebut semakin tampak seperti daun sangat rapat, daun sempit, jarak antarruas sangat pendek, dan lain-lain. Dari perlakuan iradiasi tersebut diperoleh beberapa genotipe yang tingginya melebihi tanaman induknya, genotipe yang tumbuh lebih baik tersebut diharapkan berbunganya lambat sehingga kandungan artemisininnya lebih tinggi. Pada Tabel 3 dapat dilihat adanya variasi tinggi tanaman dari masing-masing dosis iradiasi yang diberikan.

Adanya variasi pada populasi tanaman menunjukkan potensi adanya genotipe yang diharapkan memiliki sifat-sifat yang lebih baik (Syamsudin *et al.* 1997). Variasi bentuk daun serta ukuran daun juga dihasilkan pada penelitian Mariska *et al.* (1996), dari kalus nilam yang diiradiasi dengan sinar gamma, mengalami perubahan secara kuantitatif demikian pula komponen pertumbuhannya. Penelitian keragaman

Tabel 3. Pertumbuhan tanaman di lapang, umur 4 dan 6 bulan setelah tanam.

Iradiasi sinar gamma (Gy)	Jumlah genotipe	Rataan tinggi tanaman (cm)	
		Umur 4 bulan	Umur 6 bulan
0	4	31,4±12,7	82,6±16,6
10	9	87,4±10,6	156,1±14,9
20	1	84	126
30	3	80,7±26,1	153,3±32,5
40	68	82,8±22,1	125,8±29,9
50	20	88,4±17,8	126,1±33,8
60	20	88,8±19,2	137,5±27

somaklonal pada tanaman nilam telah diperoleh 20 genotipe baru yang kadar minyaknya lebih tinggi daripada tanaman induknya (Mariska *et al.* 1997). Hasil penelitian Reichert dan Baldwin (1996) pada tanaman kenaf diperoleh variasi warna batang, bentuk bunga dan pembungaan lebih lambat serta terbentuknya tanaman jantan mandul, perubahan yang dihasilkan tersebut yang diperlukan oleh pemulia untuk perbaikan tanaman. Perbedaan warna batang dan daun masing-masing genotipe dapat dilihat pada Tabel 4.

Selain perbedaan warna daun diperoleh pula variasi bentuk daun (Gambar 3), untuk mengetahui adanya perubahan bentuk pada generasi selanjutnya maka perlu dilakukan pengamatan pada generasi keturunannya. Beberapa tanaman tampak mempunyai daun yang rapat dan kecil-kecil, hasil yang sama diperoleh pada tanaman panili hasil radiasi (Lestari *et al.* 1998).

Pengamatan pada umur pembungaan menunjukkan bahwa 5 bulan setelah tanam, beberapa genotipe

sudah berbunga. Persentase tertinggi diperoleh dari tanaman yang diiradiasi dengan dosis 40 Gy, bulan ke-6 persentase tanaman berbunga mencapai 39,7%, namun pada tanaman asal iradiasi dosis 20 Gy belum ada yang berbunga (Tabel 5), yang dipilih sebagai galur harapan adalah yang umur berbunganya lebih dari 7-8 bulan dan percabangannya banyak. Pada tanaman yang lambat berbunga diharapkan produksi daun dan trikoma penghasil artemisinin sudah optimal.

Kandungan artemisin pada beberapa genotipe yang berumur 6 bulan masih rendah, yaitu berkisar 0,22-0,29%, pada genotipe No. 16 asal iradiasi dengan dosis 50 Gy lebih tinggi dibandingkan dengan control, yaitu 0,29% demikian pula biomasa lebih tinggi (Tabel 6), bila dikonversi ke bobot kering tanaman maka genotipe tersebut dapat dianggap lebih baik dibandingkan dengan induknya. Analisis kandungan artemisinin pada tanaman yang berbunga pada umur 8 bulan hasilnya lebih tinggi, diperoleh hasil rata-rata 0,5% (Tabel 7). Walaupun kandungan artemisinin yang diperoleh



Gambar 3. Visual daun yang berbeda dari berbagai genotipe.

Tabel 4. Warna daun dan batang pada galur somaklon, 4 bulan setelah tanam.

Iradiasi sinar gamma (Gy)	Jumlah genotipe	Warna daun			Warna batang	
		Hijau	Hijau tua	Ungu	Hijau	Ungu
0	4	4	0	0	3	1
10	9	7	2	0	0	9
20	1	0	1	0	0	1
30	3	1	2	0	1	2
40	68	9	59	0	12	56
50	20	20	0	0	0	20
60	20	19	1	0	0	20

Tabel 5. Umur berbunga pada berbagai genotipe 5 dan 6 bulan setelah tanam.

Iradiasi sinar gamma (Gy)	Jumlah tanaman	Berbunga pada bulan	
		ke-5	ke-6
0	4	0	1 (25%)
10	9	0	3 (33,3%)
20	1	0	0
30	3	0	1 (33,3%)
40	68	11 (16,1%)	27 (39,7%)
50	20	1 (5%)	7 (35%)
60	20	4 (20%)	7 (35%)

Tabel 6. Analisis kandungan artemisin pada beberapa genotipe umur 6 bulan.

Dosis radiasi (Gy)	No. klon	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Kandungan artemisinin (%)
0	1	320	126	0,26
10	9	610	190	-
20	1	460	100	-
30	1	309	180	-
40	4	506	210	0,26
	27	450	140	-
	30	490	190	-
50	16	710	250	0,29
	17	660	210	0,22
60	14	800	280	0,28

- = tidak dianalisis.

Tabel 7. Analisis kandungan artemisin pada beberapa genotipe umur 8 bulan.

Dosis radiasi (Gy)	No.klon	Tinggi tanaman (m)	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Kandungan artemisinin (%)
0	1	2,19	3.530	970	0,51
10	3	2,18	1.880	940,8	-
	8	2,23	1.740	1.432,8	-
40	8	2,30	3.070	956,6	-
	9	2,10	1.880	925,1	-
	25	1,12	2.840	1.356	0,52
	35	2,0	2.990	1.222,1	0,52
60	51	1,15	2.270	1.103,9	0,49
	15	1,83	1.340	727,1	-
	18	1,99	2.560	1.143,3	0,52

- = tidak dianalisis.

masih di bawah 1% namun diperoleh genotipe yang lebih baik dibandingkan dengan tanaman asal biji, yaitu umur berbunga lebih lambat dan tanaman lebih tinggi. Sampel yang dianalisis kandungan artemisinin-nya pada tanaman yang berumur 6 bulan hanya yang mempunyai bobot basah di atas 506 g, sedangkan pada tanaman yang berumur 8 bulan, yang mempunyai bobot basah di atas 2.270 g.

Pada umur 8 bulan setelah tanam diperoleh 8 genotipe tanaman yang baru mulai berbunga dan tingginya mencapai 2 m, kandungan artemisinin pada genotipe tanaman tersebut berkisar antara 0,49-0,52%. Sedangkan pada tanaman induknya sebesar 0,51% demikian pula biomasa dari tanaman induknya lebih rendah sehingga konversi kandungan artemisinin ke bobot kering dari genotipe terpilih hasilnya lebih tinggi.

Dari populasi tersebut dapat diperoleh beberapa genotipe terpilih, yaitu tanaman lebih tinggi, berbunga lebih lambat dan kandungan artemisinin relatif lebih tinggi. Faktor yang mempengaruhi terbentuknya mutan antara lain besarnya dosis iradiasi (Soedjono 2003). Melalui teknik somaklonal telah banyak varietas baru yang telah dilepas dan dibudidayakan oleh masyarakat sebagai kultivar baru (Nagatomi 1996) demikian pula di Korea Selatan (Lee 1997) beberapa varietas baru hasil radiasi telah digunakan petani sebagai tanaman utama.

KESIMPULAN

Dosis tertinggi untuk iradiasi tunas pucuk artemisia adalah 60 Gy dan terendah 40 Gy. Iradiasi pada dosis 40-60 Gy menghasilkan variasi warna daun dan batang, tinggi tanaman, percabangan, umur berbunga, dan biomasa serta kandungan artemisinin.

Diperoleh 8 genotipe tanaman yang baru berbunga umur 8 bulan dan tingginya mencapai 2 m.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Program Kerja Sama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan tinggi (KKP3T) yang telah memberikan dana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006.** Tanaman pengusir malaria. *www.tabloidnova.com/articles.asp?id = 7432-30k*. Diakses tanggal 13 September 2006.
- Aisyah, S.I. 2006.** Mutasi induksi. Sastrasumarjo, S. (Ed.). Sitogenetika Tanaman. Faperta IPB. Bogor. hlm. 159-178.
- Gusmaini dan H. Nurhayati. 2007.** Potensi pengembangan budidaya *Artemisia annua* L. di Indonesia. *Perspektif. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik* 6(2):57-67.

- Harten, A M. 1998.** Mutation Breeding. Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. 353 p.
- Karp, A. 1995.** Somaclonal variation as a tool for crop improvement. *Euphytica* 85:295-302.
- Lee, Y.I. 1997.** Development of genetic resources by *in vivo* and *in vitro* application of radiation. Proc. Seminar on Mutation Breeding in Oil and Industrial Crops for regional Nuclear Cooperation in Asia. RDA and Japan Atomic Industrial Forum 12-18 Octobre. Suwon. Korea.
- Lestari, E.G., I. Mariska, Hobir, M. Tombe, D. Sukmadjaja, A. Husni, dan S. Rahayu. 1998.** Perbanyakkan dan uji ketahanan dari nomor-nomor baru hasil variasi somaklonal pada tanaman panili. Laporan Hasil Penelitian. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Maluszynski, M., B.S. Ahloowalia, and B. Sigurbjornsson. 1995.** Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85:303-315.
- Mariska, I., Hobir, E.G. Lestari, dan D. Seswita. 1996.** Peningkatan keragaman genetik melalui radiasi pada kultur *in vitro*. Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. BATAN, PAIR. Jakarta, 9-10 Januari 1996.
- Mariska, I., Hobir, D. Seswita, and E.G. Lestari. 1997.** Improvement of oil content of patchouly through *in vitro* culture and industrial crops for nuclear cooperation in Asia. RDA and Japan Atomic Industrial Forum.12-18 Octobre. Suwon. Korea.
- Mariska, I. dan E.G. Lestari. 2003.** Pemanfaatan kultur *in vitro* untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman nilam. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 22(2):64-69.
- Mugiono dan Dwimahyani. 2008.** Perbaikan varietas padi dengan teknik mutasi di Indonesia. Abstrak Seminar Nasional Padi. Sukamandi, 23-24 Juli 2008.
- Nagatomi, S. 1996.** A new approach of radiation breeding to ward improvement of disease resistance in crops. Makalah utama dalam seminar Pengendalian penyakit Utama Tanaman Industri secara Terpadu. JICA-Balitro, Bogor, 13-14 Maret 1996.
- Nurrachman, Z. dan E.D. Putrianti. 2003.** Artemisinin, pembunuh parasit malaria. www.kompas.com/kompas-cetak/0309/18/inspirasi/569107.htm-41k. Diakses pada tanggal 13 November 2006.
- Reichert, N.A. and B.S. Baldwin. 1996.** Potential for kenaf improvement via somaclonal variation. *In* Janick, J. (Ed.). *Progress in New Crops*. ASHC Pres Arlington. p. 408-411.
- Soedjono, S. 2003.** Aplikasi mutasi induksi dan variasi somaklonal dalam pemuliaan tanaman. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 22(2):70-78.
- Sukmadjaja, D., I. Mariska, E.G. Lestari, M. Kosmiatin, M. Tombe, dan Hobir. 2002.** Seleksi silang tunas abaka dengan asam fusarat atau filtrat *F. oxysporum* dan regenerasinya membentuk plantlet. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Bogor, 26-27 Desember 2002.
- Yusnita, R. dan E.G. Lestari. 2008.** Perbanyakkan tanaman *Artemisia annua* secara *in vitro*. *Jurnal AgroBiogen* 4(1):41-44.
- Syamsudin, E., I. Mariska, dan Hobir. 1997.** Keragaman somaklonal dan heritabilitas beberapa sifat tanaman nilam. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 3(1):25-30.
-