

KONSENTRASI PACLOBUTRAZOL DAN PEMISKINAN MEDIA PADA PELESTARIAN *IN VITRO* TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium Ramat*)

THE CONCENTRATION OF PACLOBUTRAZOL AND IMPOVERISHMENT OF THE CULTURE MEDIUM ON *IN VITRO* CONSERVATION OF *Chrysanthemum*

Sofia Demmassabu, Diane Kojoh, dan Yulie P Arsyad^{*)}

^{*)}Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Unsrat Manado_95115

ABSTRACT

Research was conducted at biotechnology laboratory of Agriculture Faculty, Samratulangi University Manado since July 2009 until October 2009. The objective was to assess the effect of Paclobutrazol usage and MS media reducing in chrysan perpetuation through *in vitro*. The research was designed in randomized complete designed using factorial. First factor was basic media concentration of Murashige and Skoog with 2 concentration : M1 = 100% MS, M2 = 10% MS and second factor was paclobutrazol with 4 concentration s which were P0 = 0 ppm paclobutrazol (control), P1 = 1.0 ppm, P2 = 1.5 ppm, P3= 2.0 ppm, and P4 = 2.5 ppm paclobutrazol. The treatments were repeated ten times. Observed variables were chrysan tall, the amount of root and buds that was measured at the end of research.

The result showed that 100 % MS media, addition of paclobutrazol obviously produced shorter chrysan, and less amount of roots and buds compare to media without paclobutrazol. Media with 10 % MS combine with paclobutrazol 2.0 ppm produced shorter chrysan than media without paclobutrazol. The amount of roots and buds in media with paclobutrazol were not different with media without paclobutrazol.

Key words : *Paclobutrazol, chrysan*

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan di Labotatorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado, sejak Juli 2009 sampai Oktober 2009, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan paclobutrazol dan pemiskinan media MS pada pertumbuhan krisan untuk pelestarian secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor pertama adalah konsentrasi media dasar Murashige dan Skoog (MS), dengan 2 konsentrasi : M1 = 100% MS dan M2 = 10% MS, dan faktor kedua adalah penggunaan paclobutrazol dengan 4 konsentrasi yaitu : P0 = 0 ppm paclobutrazol (kontrol), P1 = 1.0 ppm, P2 = 1.5 ppm, P3 = 2.0 ppm, P4 = 2.5 ppm paclobutrazol yang ulang sebanyak sepuluh kali. Variabel yang diamati adalah tinggi krisan, jumlah akar, dan jumlah tunas yang diukur setelah akhir penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media MS 100%, penambahan paclobutrazol nyata menghasilkan krisan yang lebih pendek, serta jumlah akar dan jumlah tunas yang lebih sedikit dibandingkan pada media tanpa paclobutrazol. Pada media 10 % dengan penambahan paclobutrazol 2.0 ppm menghasilkan krisan yang lebih pendek dibandingkan dengan media tanpa paclobutrazol sedangkan pada jumlah akar dan jumlah tunas media paclobutrazol tidak berbeda nyata dengan media tanpa paclobutrazol.

Kata kunci : *Paclobutrazol, krisan*

PENDAHULUAN

Bunga krisan merupakan tanaman hias terkenal di Indonesia sebagai bahan dekorasi ruangan, rumah tangga, restoran, perkantoran dan perhotelan. Menurut Rukmana dan Mulyana (1997) selain digunakan sebagai flora hias, krisan juga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional dan penghasil racun serangga.

Beragam tipe bunga krisan dikenal masyarakat yaitu tipe pompon, tunggal, dekoratif dan anemon, dengan beragam warna pula (Anyana, 1999). Daerah-daerah produsen krisan antara lain Cipanas, Cisarua, Sukabumi, Lembang, Bandung dan Brastagi (Rukmana dan Mulyana, 1997).

Krisan merupakan salah satu jenis tanaman hias yang prospektif untuk dikembangkan di Indonesia. Mengingat prospek bisnis dan kegunaannya maka krisan bisa termasuk dalam kategori tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sehingga beberapa aspek seperti perbanyakan, budidaya dan penyimpanan untuk pelestarian perlu diteliti. Menurut Lestari dan Purnamaningsih (2005) penyimpanan dan koleksi bahan tanaman untuk pelestarian di lapang sering mengalami kegagalan karena gangguan hama dan penyakit, dan tekanan lingkungan lainnya. Disamping itu juga ada resiko hilangnya genotipe tertentu karena deraan lingkungan menjadi tinggi.

Salah satu teknik alternatif yang dapat dicoba adalah pelestarian dengan teknik kultur jaringan yang pada mulanya ditujukan untuk membuktikan kebenaran teori totipotensi sel (Widyastuti, 2001). Kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1987).

Menurut Nitche (1983) dalam Seswita, et.al. (2000) melalui kultur *in vitro* biakan dapat disimpan dalam waktu lama, kemudian dapat diperbanyak lagi secara cepat apabila diperlukan. Metode pelestarian plasma nutfah secara *in vitro*

yang dapat digunakan adalah penambahan zat penghambat tumbuh dan pemiskinan media (Wattimena dan Ansori, 1992). Pelestarian secara pertumbuhan minimal dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain dengan pengurangan komposisi medium, penyimpanan pada suhu rendah, induksi stress osmotik, penggunaan zat penghambat pertumbuhan dan penggunaan tempat kultur yang lebih besar dan lebih banyak volume medium (Whiters, 1983 dalam Syahid, 2007).

Hasil-hasil penelitian konservasi *in vitro* secara pertumbuhan minimal yang telah berhasil diteliti diantaranya pada tanaman lada dengan mengaplikasikan teknik pengenceran media dasar dikombinasikan dengan retardan paclobutrazol. Hasil penelitian menunjukkan laju pertumbuhan paling lambat dengan tinggi 2.10 cm dan jumlah daun paling sedikit (9 daun) ditunjukkan oleh perlakuan media MS 1/2 kombinasi dengan paclobutrazol 5 mg/l (Yelnitits dan Bermawie, 2001). Pada tanaman Bangle dengan perlakuan retardan paclobutrazol pada beberapa konsentrasi yang menunjukkan bahwa pemberian paclobutrazol berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar (Ibrahim, 2003). Hasil penelitian Purnamaningsih dan Lestari tentang penyimpanan biakan dengan pertumbuhan minimal pada tanaman obat langka pule (*Rauvolfia serpentina*) dengan menggunakan paclobutrazol dan ancymidol menunjukkan bahwa perlakuan media simpan terbaik untuk pule adalah media dasar Monier + ancymidol 1.0 mg/l.

Aplikasi pelestarian *in vitro* dengan pertumbuhan minimal, dapat dilakukan dengan menggunakan satu atau kombinasi beberapa faktor (Syahid, 2007), dengan mengaplikasikan teknik pengurangan komposisi medium dikombinasikan dengan retardan paclobutrazol. Dalam metode ini konsentrasi paclobutrazol dan media MS merupakan salah satu faktor penting yang menunjang keberhasilan pelestarian, untuk itulah penelitian ini dilakukan dengan menggunakan paclobutrazol dan pemiskinan media pada pelestarian tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan paclobutrazol dan

pemiskinan media MS pada pertumbuhan krisan untuk pelestarian secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi, dari bulan Juli sampai dengan Oktober 2009.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Faktorial dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap) Faktor pertama adalah konsentrasi media dasar dengan 2 konsentrasi: M1= 100% MS dan M2 = 10 % MS. Faktor kedua adalah penggunaan paclobutrazol dengan 4 konsentrasi yaitu: P₀ = 0 ppm paclobutrazol (kontrol), P₁ = 1.0 ppm paclobutrazol, P₂ = 1.5 ppm paclobutrazol, P₃ = 2.0 ppm paclobutrazol, P₄ = 2.5 ppm paclobutrazol. Masing-masing kombinasi perlakuan diulangi 10 kali. Kombinasi perlakuan tersebut adalah:

M1P₀ = MS 100%, 0 ppm Paclobutrazol
 M1P₁ = MS 100%, 1.0 ppm paclobutrazol
 M1P₂ = MS 100%, 1.5 ppm paclobutrazol
 M1P₃ = MS 100%, 2.0 ppm paclobutrazol
 M1P₄ = MS 100%, 2.5 ppm paclobutrazol
 M2P₀ = MS 10%, 0 ppm paclobutrazol
 M2P₁ = MS 10%, 1.0 ppm paclobutrazol
 M2P₂ = MS 10 % 1.5 ppm paclobutrazol
 M2P₃ = MS 10%, 2.0 ppm paclobutrazol
 M2P₄ = MS 10 % 2.5 ppm paclobutrazol

Parameter penelitian yang diamati berupa: tinggi tanaman (diukur setelah akhir pengamatan selama 12 minggu), jumlah akar (dihitung akhir pengamatan), jumlah tunas per eksplan (dihitung akhir pengamatan).

Cara Kerja:

Sterilisasi Alat

Sebelum disterilisasi, alat-alat yang digunakan seperti botol media, pinset, gunting, dan cawan petri dicuci sampai bersih kemudian dibungkus menggunakan kertas HVS. Setelah itu disiapkan autoclave dan diisi air secukupnya kemudian masukkan alat-alat yang akan disterilisasi. Tunggu hingga tekanan mencapai 17.5

Psi dan tahan selama 60 menit pada tekanan tersebut, setelah itu matikan autoclave.

Pembuatan Stok MS

Timbang unsur hara makro dan mikro sesuai ukuran. Larutkan dalam 1 liter aquades. Kemudian tempatkan dalam botol bersih yang diberi tutup dan simpan dalam lemari pendingin jika belum digunakan.

Pembuatan Stok Paclobutrazol

Larutkan 0.4 mg cultar dalam 1 liter aquades. Kemudian tempatkan dalam botol bersih yang diberi tutup dan simpan dalam lemari pendingin jika belum digunakan.

Pembuatan Media dan Sterilisasi Media

Untuk membuat media sebanyak 1 liter, timbang gula sebanyak 30 g/l dan agar-agar 8 g/l dengan timbangan analitik. Pipet stok MS dan Stok Paclobutrazol sesuai perlakuan kemudian tambahkan aquades. Setelah itu tambahkan gula kemudian ukur pH larutan media dengan pH meter digital. Untuk mendapatkan pH normal (5.8) tambahkan larutan NaOH. Setelah mendapatkan larutan media dengan pH 5.8, tambahkan agar-agar dan masak larutan media sampai mendidih. Setelah mendidih kemudian diisi dalam botol media kurang lebih 30 ml. Tutup dengan aluminium foil. Media yang sudah siap ini kemudian disterilisasi kembali dalam autoclave sampai tekanannya mencapai 17.5 psi dan tahan selama 15 menit. Setelah itu matikan autoclave.

Sterilisasi Lingkungan Kerja

Lingkungan kerja yakni laminar air flow harus disterilkan terlebih dahulu sebelum melakukan penanaman. Bersihkan laminar air flow dengan alkohol 70 % kemudian sterilisasi dengan UV kurang lebih selama 1 jam. Setelah laminar air flow disterilkan masukkan alat-alat yang akan digunakan dalam penanaman berupa duas buah pinset, gunting, cawan petri, lampu spiritus dan botol media.

Penanaman

Eksplan krisan yang telah memiliki 3 daun digunting, letakkan dalam cawan petri. Botol media dibuka sambil dipanaskan pada lampu bunsen. Kemudian tanam aksplan pada media agar, setelah itu tutup kembali botol media dengan aluminium foil.

Data dianalisis dengan sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Tanaman

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara penggunaan paclobutrazol dan pemiskinan media terhadap tinggi tanaman krisan (Tabel 1).

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa krisan yang ditanam pada media MS 100% dengan penambahan paclobutrazol 2.5 ppm memperlihatkan tanaman yang terpendek tetapi tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 1.0 ppm paclobutrazol. Selanjutnya krisan pada media dengan penambahan 1.5 ppm dan 2.0 ppm tidak berbeda nyata dengan krisan pada media penambahan 1.0 ppm paclobutrazol. Sebaliknya pada media tanpa paclobutrazol menghasilkan krisan yang paling tinggi dan berbeda nyata dengan semua perlakuan yang diberi paclobutrazol. Hal ini menunjukkan bahwa media MS 100% yang memiliki zat makanan untuk tanaman terpenuhi, dengan penambahan paclobutrazol terlihat menghambat pertumbuhan tanaman. Paclobutrazol merupakan zat pengatur

tumbuh yang dapat menghambat perpanjangan batang, karena zat ini merupakan penghambat bagi kerja giberelin sebagai zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk perpanjangan batang. Menurut Dicks (1979) dalam Lestari dan Purmaningsih (2005), zat penghambat tumbuh paclobutrazol merupakan senyawa organik sintetik yang mempunyai pengaruh fisiologis antara lain menghambat perpanjangan sel pada meristem sub apikal, memperpendek ruas tanaman, mempertebal batang dan memperpanjang masa simpan.

Krisan yang ditanam pada media MS 10% dengan penambahan 2.0 ppm paclobutrazol menghasilkan krisan yang lebih pendek dibandingkan krisan pada media tanpa paclobutrazol, serta tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 1.0 ppm dan 1.5 ppm paclobutrazol. Selanjutnya krisan yang ditanam pada media dengan penambahan paclobutrazol 1.0 ppm dan 1.5 ppm menghasilkan krisan yang tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 2.5 ppm paclobutrazol. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan paclobutrazol tidak memberi pengaruh. Diduga ketersediaan hara pada media MS 10% sudah sangat kurang sehingga tanaman tidak lagi respons terhadap pemberian paclobutrazol.

Jumlah Akar

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara penggunaan paclobutrazol dan media dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah akar krisan (Tabel 2).

Tabel 1. Pengaruh penggunaan paclobutrazol dan pemiskinan media terhadap rata-rata tinggi krisan
(Table 1. The effect of paclobutrazol and media reducing on crysan height average)

Media MS	Media MS	
	10 %	100 %
Paclobutrazol		
0 ppm	8.34 de	9.12 e
1.0 ppm	7.05 bcd	6.08 abc
1.5 ppm	6.88 bcd	7.23 cd
2.0 ppm	5.49 ab	6.22 bc
2.5 ppm	7.38 cd	4.55 a
BNT 5 %	1.62	

Ket. : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Dari tabel 2 menunjukkan bahwa pada media MS 100% tanpa padobutrazol dihasilkan jumlah akar yang paling banyak dibandingkan pada media dengan penambahan padobutrazol. Krisan pada penambahan padobutrazol 1.0 ppm dan 2.5 ppm menghasilkan jumlah akar yang sedikit tetapi tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 2.0 ppm padobutrazol. Penambahan 2.0 ppm padobutrazol menghasilkan jumlah akar krisan yang tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 1.5 ppm padobutrazol. Dapat dilihat bahwa pada media dengan zat hara tercukupi (MS 100%) pemberian padobutrazol dapat mengurangi jumlah akar yang terbentuk. Diduga hal ini disebabkan adanya penghambatan biosintesis giberelin sebagai zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pemanjangan dan pembesaran sel.

Pada media MS 10 % penggunaan padobutrazol tidak menyebabkan perbedaan jumlah akar krisan. Krisan yang ditanam pada media dengan penambahan padobutrazol 1.0, 1.5, 2.0 dan 2.5 ppm menghasilkan jumlah akar yang

tidak berbeda nyata dengan media tanpa padobutrazol. Hal ini kemungkinan merupakan adaptasi sistem perakaran krisan untuk bertahan hidup serta untuk meningkatkan penyerapan dan efisiensi hara. Menurut Gerloff (1987) dan Costa *et. al.* (2002) dalam Hayati, dkk (2008), adaptasi morfologi perakaran terhadap defisiensi hara diantaranya yaitu pemanjangan akar, peningkatan kerapatan perakaran maupun peningkatan jumlah dan panjang rambut akar.

Pada perlakuan tanpa padobutrazol, jumlah akar pada media MS 10% nyata lebih sedikit dibandingkan pada media MS 100%. Hal ini menunjukkan bahwa pada media MS 10 % tanaman kekurangan hara mineral sehingga pertumbuhan akar menjadi terhambat.

Jumlah Tunas

Analisis ragam menunjukkan adanya interaksi antara penggunaan padobutrazol dan media dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah tunas pada plantlet krisan (Tabel 3).

Tabel 2. Pengaruh penggunaan padobutrazol dan pemiskinan media terhadap rata-rata jumlah akar krisan (Table 2. The effect of padobutrazol and media reducing on the amount of roots average)

Media MS \ Padobutrazol	10 %	100 %
	0 ppm	13.70 b
1.0 ppm	11.15 ab	7.55 a
1.5 ppm	11.15 ab	12.90 b
2.0 ppm	10.40 ab	10.80 ab
2.5 ppm	10.85 ab	7.70 a
BNT 5 %	3,74	

Ket. : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Tabel 3. Pengaruh penggunaan padobutrazol dan pemiskinan media terhadap rata-rata jumlah tunas krisan (Table 3. The effect of padobutrazol e and media reducing on average of the amount of buds)

Media MS \ Padobutrazol	10 %	100 %
	0 ppm	1.35 a
1.0 ppm	1.55 a	2.05 a
1.5 ppm	1.50 a	3.40 b
2.0 ppm	1.30 a	2.40 ab
2.5 ppm	1.85 a	1.85 a
BNT 5 %	1.31	

Ket. : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa pada media MS 100% penambahan paclobutrazol nyata menghasilkan jumlah tunas yang lebih sedikit dibandingkan dengan media tanpa paclobutrazol. Media dengan penambahan 1.0, 2.0, dan 2.5 ppm paclobutrazol nyata menghasilkan jumlah tunas yang lebih sedikit dibandingkan pada media tanpa paclobutrazol. Jumlah tunas pada media dengan penambahan 1.5 ppm paclobutrazol tidak berbeda nyata dengan krisan pada media dengan penambahan 2.0 ppm paclobutrazol. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena adanya penggunaan paclobutrazol yang dapat menghambat laju pembelahan dan pemanjangan sel. Dengan pemakaian paclobutrazol, aktivitas giberelin sebagai zat pengatur tumbuh yang dapat tumbuh normal, akan terhambat. Menurut Wattimena (1987) dalam Polii-Mandang (2000), zat pengatur tumbuh paclobutrazol berperan dalam menurunkan metabolisme jaringan dan menghambat pertumbuhan vegetatif serta menghambat sintesis giberelin.

Pada media MS 10% tanpa paclobutrazol menghasilkan jumlah tunas yang tidak berbeda nyata dengan media yang ditambahkan paclobutrazol. Hal tersebut mungkin diakibatkan oleh kurang tersedianya zat hara yang dibutuhkan oleh tanaman dan adanya paclobutrazol yang menurunkan aktivitas jaringan tanaman. Ketersediaan unsur hara esensial yang tidak mencukupi kebutuhan tanaman, akan mengganggu metabolisme tanaman.

KESIMPULAN

Pada media MS 100%, penambahan paclobutrazol nyata menghasilkan krisan yang lebih pendek, serta jumlah akar dan jumlah tunas yang lebih sedikit dibandingkan pada media tanpa paclobutrazol.

Pada media MS 10% dengan penambahan paclobutrazol 2.0 ppm menghasilkan krisan yang lebih pendek dibandingkan dengan media tanpa paclobutrazol, sedangkan pada jumlah akar dan jumlah tunas media dengan paclobutrazol nyata lebih sedikit dibandingkan media tanpa paclobutrazol.

Penggunaan paclobutrazol sangat efektif pada penggunaan media MS 100% dan dapat digunakan dalam pelestarian krisan secara *in vitro*. Pemiskinan media MS 10 % tanpa penggunaan paclobutrazol dapat digunakan dalam pelestarian krisan secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anyana, M.O. 1999. *Metodologi pengkajian Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- Gunawan, L.W. 1987. *Tehnik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Hayati, R., Munandar dan Irmawati. 2008. *Pertumbuhan akar dan Tajuk serta Hasil Beberapa Varietas/Galur Jagung pada Kondisi Defisiensi Hara*. <http://www.google.com>. Diakses 9 februari 2010.
- Ibrahim, M.S.D. 2003. *Pengaruh Pemberian Paclobutrazol terhadap Pertumbuhan Bangle (Zingiber purpureum Roxb) dalam Penyimpanan In vitro*. <http://www.google.com>. Diakses 8 Oktober 2008.
- Lestari, G.E. dan R. Pumamaningsih. 2005. *Penyimpanan In vitro Tanaman Obat Daun Dewa melalui Pertumbuhan Minimal*. <http://www.google.com>. Diakses 8 Oktober 2008.
- Polii-Mandang, J. 2000. *Pertumbuhan Tinggi Tanaman dan Kandungan Klorofil Krisan Pot yang diberi Paclobutrazol dan Air kelapa*. Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UNSRAT, Manado. *Agrotrop* 68-71.
- Rukmana, R.H. dan E. Mulyana. 1997. *Krisan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Seswita, D., Amalia dan E. Hadipoentyanti. 2000. *Pelestarian In vitro Panili (Vanilla planifolia Andrews) melalui pertumbuhan Minimal*. <http://www.google.com>. Diakses 8 Oktober 2008.
- Syahid, S.F. 2007. *Pengaruh Retardan Paclobutrazol terhadap Pertumbuhan Temulawak (Curcuma xanthoriza) selama*

- Konsevasi *In vitro*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor. *Jurnal Littri* 13 (3) 93-97
- Wattimena, G.A. dan N. Ansori. 1992. Bioteknologi Pertanian 2 : Bab II. *Pelestarian Plasma Nutfah Tanaman*, hal. 67. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Widyastuti, N. 2001. *Mikropropagasi Inovasi memperbanyak Bibit Tanaman*. <http://www.Sinarharapan.com>. Diakses 21 oktober 2008.
- Yelnitis dan Y. Bermawie. 2001. Konservasi Tanaman Lada (*Piper nigrum* L) Secara *In vitro*. Digital Library Pusat Penelitian Biologi- LIPI. Mht. Diakses 11 Maret 2010. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* Vol. 7 (3) 88- 92.

