

# Peningkatan Ketahanan Tanaman Abaka terhadap Penyakit Layu melalui Kultur *In Vitro*

Ika Mariska<sup>1</sup>, D. Sukmadjaja<sup>1</sup>, M. Tombe<sup>2</sup>, E.G. Lestari<sup>1</sup>, dan M. Kosmiatin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor

## ABSTRAK

Tanaman abaka (*Musa textilis*) sangat potensial untuk dikembangkan karena dapat digunakan untuk berbagai macam kepentingan. Namun demikian, salah satu kendala dalam pengembangan tanaman abaka adalah adanya serangan penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Untuk mendapatkan genotipe baru yang lebih tahan maka dilakukan seleksi pada massa sel dengan menggunakan asam fusarat (0-75 ppm) dan *F. oxysporum* (0-50%) sebagai komponen seleksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan regenerasi kalus semakin menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam fusa-rat (AF) atau filtrat. Enam minggu setelah tanam, jumlah tunas dari kontrol, fil-trat 10, 30, dan 50% masing-masing sebanyak 12, 18, 3, dan 2. Respon yang sama diperoleh dari massa sel yang diseleksi dengan AF. Semakin meningkat konsentrasi AF maka persentase kalus yang beregenerasi semakin rendah. Delapan minggu setelah tanam, tunas adventif yang terbentuk dari kontrol, AF 75 ppm, dan AF 45 ppm berturut-turut 8, 1, dan 3. Pada proses pemulihan (media MS + BA + thidiazuron), tunas yang berasal dari AF 60 dan 75 ppm mati, sedangkan yang berasal dari kontrol tunasnya dapat berploriferasi.

**Kata kunci:** *Musa textilis*, seleksi *in vitro*, *Fusarium oxysporum*, asam fusarat, filtrat, kalus.

## ABSTRACT

Abacca (*Musa textilis*) is a potential crop to be developed as it may be used for different purposes. The crop is being developed in a large scale, but in many cases it was found that the crop is frequently infected by *Fusarium oxysporum*. To produce new genotypes resistant to the disease the cell mass has been selected by using fusaric acid (0-75 ppm) or the filtrate of *F. oxysporum* as selecting agent. Result showed that regeneration ability of calli was reduced by increasing the concentration of fusaric acid or filtrate. Six weeks after culturing the control (calli without selecting agent) produced 10 shoots, calli treated with filtrate at 10, 30, and 50%, produced 18, 3, and 2 shoots respectively. The same response was found on calli treated with FA, where increased concentration resulted in decreased callus regeneration. Eight weeks after culturing calli treated with FA 75 ppm produced only 1 shoot, and that treated with FA 45% produced 3 shoots. In the recovery process (MS + BA + thidiazuron), shoot from calli treated with FA 60 and 75 ppm killed, while those from control were able to ploriferate.

**Key words:** *Musa textilis*, selection *in vitro*, *Fusarium oxysporum*, fusaric acid, filtrat, calli

## PENDAHULUAN

Salah satu produk agribisnis unggulan sebagai komoditas prospektif bagi kebutuhan dalam dan luar negeri ialah serat yang berasal dari tanaman abaka (*Musa textilis* Nee.) (Bisnis Indonesia, 1998). Akhir-akhir ini, banyak perusahaan swasta dan koperasi mulai tertarik untuk mengembangkan tanaman abaka karena menjanjikan keuntungan besar di masa mendatang (Sastrosupadi, 1999).

Serat abaka dapat digunakan untuk berbagai macam kepentingan, antara lain kertas berharga (dokumen, cek), kertas uang (dolar Amerika), kertas koran, majalah, tekstil, peredam suara di kapal terbang, dan penutup kabel laut (tahan air laut dan kelembaban tinggi).

Pengembangan abaka di tahun mendatang diproyeksikan mencapai ratusan ribu hektar. Namun pertanaman yang ada saat ini, banyak yang terserang penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Varietas yang dikenal dan telah diterima di pasaran dunia saat ini antara lain Bangulanon, Manguindanau, dan Tangongon (Sujindro, 1999). Dari ketiga varietas tersebut, yang telah dan akan dikembangkan di Indonesia secara luas adalah Tangongon. Program ekstensifikasi dikhawatirkan dapat menimbulkan masalah perkembangan penyakit yang sangat cepat karena pertanaman yang ada saat ini telah diserang *F. oxysporum*. Untuk mendapatkan varietas baru yang lebih tahan digunakan metode seleksi *in vitro*. Melalui cara tersebut, telah dihasilkan varietas baru yang lebih tahan khususnya terhadap *F. oxysporum*. Tanaman hasil seleksi *in vitro* yang telah terbukti tahan dengan sifat yang dapat diwariskan antara lain tanaman alfalfa, ubi jalar, pisang, to-mat, dan seledri. Di samping itu, telah diteliti juga pada berbagai tanaman lain seperti apel, jagung, kentang, padi, dan tembakau yang menunjukkan adanya peningkatan sifat ketahanan terhadap penyakit. Namun dari genotipe yang diperoleh ada yang belum diuji secara intensif di lapang (Van den Bulk, 1991).

Untuk peningkatan ketahanan terhadap *F. oxysporum* umumnya digunakan asam fusarat (AF) atau filtrat yang diisolasi dari patogen sebagai komponen seleksi pada massa sel atau jaringan (Arceoni *et al.*, 1987; Latunde-Dada dan Lucas, 1988). Massa sel yang diinduksi dengan auksin kuat kemudian diinkubasi pada kondisi stres sehingga dapat mengalami perubahan sifat genetik (Ahlowalia, 1986; Daud, 1996). Dari berbagai penelitian seleksi *in vitro*, dilaporkan bahwa sel yang tahan komponen seleksi apabila mampu beregenerasi maka tanaman baru yang dihasilkan akan tahan pula terhadap faktor biotik dan abiotik. Dengan demikian, kemampuan regenerasi dari massa sel yang telah diseleksi merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan.

Tujuan penelitian ini ialah mendapatkan tunas abaka hasil regenerasi kalus yang diseleksi dengan asam fusarat atau filtrat *F. oxysporum*.

## BAHAN DAN METODE

Kegiatan awal penelitian dilakukan untuk produksi kalus embriogenik dengan mata tunas sebagai eksplan yang ditumbuhkan pada media MS + 2,4-D (1, 3, 5, dan 10 mg/l) + BA (0 dan 0,5 mg/l). Kalus yang terbentuk kemudian ditumbuhkan pada media yang mengandung komponen seleksi asam fusarat (0, 15, 30, 45, 60, dan 75 ppm) atau filtrat *F. oxysporum* (0, 10, 30, dan 50%). Media seleksi tersebut, juga mengandung garam mineral dari media dasar MS + vitamin + sukrosa + zat pengatur tumbuh thidiazuron dan BA. Seleksi dilakukan selama 2-3 bulan dan tunas hasil regenerasi kalus dikulturkan pada media pemulihan (MS + BA + thidiazuron) kemudian disubkultur kembali pada media yang mengandung komponen seleksi dengan konsentrasi yang ditingkatkan. Tunas yang tetap hidup kemudian diseleksi silang dengan AF atau filtrat konsentrasi tertinggi.

Peubah yang diamati adalah persentase kalus hidup pada setiap konsentrasi AF atau filtrat *F. oxysporum* tahapan seleksi, jumlah tunas yang terbentuk, warna dan struktur kalus serta penampakan biakan secara visual.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Seleksi Kalus Abaka dengan Filtrat *F. oxysporum*

Kalus yang diseleksi dengan filtrat *F. oxysporum* kemampuan regenerasinya menurun sejalan dengan peningkatan konsentrasi filtrat. Tanpa komponen seleksi dalam media, tunas adventif sudah terbentuk satu minggu setelah tanam (mst). Semakin meningkat konsentrasi filtrat (dari 10, 30, dan 50%) waktu inisiasi tunas semakin lambat, yaitu berturut-turut 2,5; 5; dan 6 mst (Tabel 1). Kondisi ini menunjukkan adanya pengaruh komponen organik

**Tabel 1.** Pengaruh konsentrasi filtrat *F. oxysporum* terhadap waktu inisiasi tunas abaka

Filtrat (%)	Waktu inisiasi tunas (minggu)
0	1
10	2,5
30	5
50	6

**Tabel 2.** Persentase kalus yang beregenerasi membentuk tunas pada media seleksi yang mengandung filtrat *F. oxysporum*

Filtrat (%)	Jumlah tunas pada minggu ke-					
	1	2	3	4	5	6
0	80	90	090	90	90	90
10	10	30	50	60	60	60
30	0	0	0	0	10	30
50	0	0	0	0	0	20

yang dikandung filtrat yang bersifat toksik dan dapat menghambat kemampuan regenerasi kalus.

Kalus yang diseleksi dengan filtrat 30 dan 50% beregenerasi membentuk tunas masing-masing pada minggu ke-5 dan ke-6. Kemampuan kalus beregenerasi pada filtrat 10% meningkat setiap minggu dan mencapai 60% pada minggu ke-4 (Tabel 2). Setelah itu, tidak terjadi peningkatan persentase kalus yang dapat membentuk tunas. Kalus yang diinkubasi pada media mengandung filtrat 30% baru beregenerasi (10%) pada minggu ke-5 sedangkan pada filtrat 50% baru terbentuk tunas pada minggu ke-6, dengan kemampuan regenerasi 20%. Tanpa filtrat dalam media tumbuh, persentase kalus yang beregenerasi sudah mencapai 90% pada minggu ke-2. Pada konsentrasi filtrat 10%, kalus yang beregenerasi sebesar 60% sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi (30 dan 50%) persentase kalus yang beregenerasi hanya 30 dan 20%.

Peningkatan konsentrasi filtrat *F. oxysporum* menurunkan daya regenerasi kalus sejalan dengan penelitian Mariska *et al.* (2000) pada tanaman panili. Adanya daya hambat dari filtrat *F. oxysporum* terhadap kemampuan regenerasi kalus menunjukkan bahwa filtrat yang digunakan mengandung komponen kimia yang bersifat toksik terhadap jaringan tanaman. Scott (1994) menyatakan bahwa isolasi filtrat yang akan digunakan sebagai komponen seleksi sangat menentukan keberhasilan seleksi *in vitro* dalam menghasilkan genotipe baru yang toleran terhadap penyakit.

Menurut Latunde-Dada dan Lucas (1988), masalah regenerasi akan meningkat bila massa sel dikulturkan pada media yang mengandung komponen seleksi yang umumnya bersifat toksin. Diperlukan waktu selama empat tahun untuk meregenerasikan sel wortel yang adaptif pada kondisi stres (Ojima dan Ohira, 1986).

Jumlah tunas adventif yang terbentuk berbeda tergantung pada perlakuan konsentrasi filtrat yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi filtrat maka semakin rendah jumlah tunas adventif yang terbentuk (Tabel 3). Pada minggu pertama, tunas adventif pada media tanpa filtrat mampu membentuk delapan tunas dan hanya satu tunas yang terbentuk dari filtrat 10%. Semakin meningkat konsentrasi filtrat yang diberikan, yaitu 30 dan 50%, belum ada tunas yang terbentuk sampai minggu ke-4. Pada minggu ke-5 terbentuk dua tunas dari filtrat 30% dan dari filtrat 50% terbentuk dua tunas

**Tabel 3.** Jumlah dan tinggi tunas abaka yang terbentuk dari kalus yang diseleksi dengan filtrat *F. oxysporum*

Filtrat (%)	Jumlah tunas pada minggu ke						Tinggi tunas (cm) pada minggu ke					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	8	9	9	10	11	12	0,125	0,710	0,010	1,020	1,110	1,145
10	1	3	8	10	14	18	0,040	0,140	0,195	0,255	0,354	0,542
30	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0,100	0,150
50	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0		0,030

pada minggu ke-6.

Tunas adventif yang terbentuk semakin meningkat pada minggu ke-6, yaitu 12 dan 18 tunas masing-masing pada filtrat 0 dan 10%, tetapi hanya tiga dan dua tunas dari filtrat 30 dan 50%. Kondisi ini menunjukkan bahwa filtrat mengandung komponen organik yang bersifat toksik terhadap pertumbuhan jaringan.

Daya hambat filtrat *F. oxysporum* berpengaruh terhadap tinggi tunas (Tabel 3). Perbedaan tersebut belum terlihat jelas pada minggu pertama. Pada minggu ke-6, tanpa filtrat dalam media tinggi tunas mencapai 1,15 cm sedangkan untuk filtrat 10, 30, dan 50% tinggi tunas berturut-turut adalah 0,55; 0,15, dan 0,03 cm.

Sampai dengan minggu ke-4, kalus yang diseleksi dengan filtrat 30 dan 50% belum mampu beregenerasi membentuk tunas adventif. Pada minggu ke-5, sudah mulai terbentuk tunas pada filtrat 30% tetapi tingginya hanya 0,1 cm. Untuk filtrat 50% kalus baru beregenerasi pada minggu ke-6 dengan pertumbuhan yang sangat lambat. Diharapkan dari tunas yang adaptif terhadap kondisi stres yang disebabkan oleh filtrat, dapat terbentuk genotipe baru yang tahan terhadap penyakit yang disebabkan oleh *F. oxysporum*. Menurut Van Sint Jan *et al.* (1997) keragaman somak-lonal (antara lain melalui seleksi *in vitro*) merupakan salah satu metode yang dapat menunjang program pemuliaan tanaman dan potensial bila dimanfaatkan untuk menghasilkan tanaman yang toleran terhadap faktor biotik maupun abiotik.

#### Seleksi Kalus Abaka dengan Asam Fusarat

Kalus yang diseleksi dengan AF mempunyai tanggap yang sama dengan kalus yang diseleksi dengan filtrat *F. oxysporum*. Semakin meningkat konsentrasi AF maka semakin menurun kemampuan kalus beregenerasi (Tabel 4). Walaupun demikian, dari semua konsentrasi AF yang diuji semua kalus sudah dapat beregenerasi pada minggu ke-2. Inisiasi tunas pada media dengan filtrat 30 dan 50% terjadi pada minggu ke-5 dan ke-6.

Sampai dengan minggu ke-8 semua kalus yang diseleksi dengan AF 0 dan 15 ppm dapat beregenerasi penuh (100%). Daya regenerasi semakin

**Tabel 4.** Persentase kalus abaka yang beregenerasi membentuk tunas pada media seleksi yang mengandung asam fusarat

Asam fusarat (ppm)	Persentase tunas pada minggu ke	
	1	2
0	42,86	100,00
15	57,14	100,00
30	71,43	85,71
45	28,57	42,86
60	42,86	71,43
75	14,29	14,29

menurun dengan meningkatnya konsentrasi AF 75 ppm, persentase regenerasi hanya mencapai 14,29%. Bahkan pada konsentrasi AF 75 ppm dari minggu ke-2 sampai dengan minggu ke-8 tidak ada penambahan tunas hasil regenerasi dari kalus yang diseleksi. Daya hambat AF terhadap pertumbuhan sel menurut Van den Bulk (1991) disebabkan komponen organik tersebut dapat menghambat oksidasi sitokrom, menghambat proses respirasi pada mitokondria, menurunkan ATP pada plasma membran, dan mereduksi aktivitas polifenol oksidase.

Pada Tabel 5, tampak bahwa dua minggu setelah tanam, semua biakan termasuk kontrol yang diseleksi pada semua konsentrasi AF dapat beregenerasi membentuk tunas adventif. Namun demikian, pada kalus yang diberi kondisi stres AF 75 ppm tunas yang terbentuk hanya satu. Pada minggu ke-8 umumnya tunas yang terbentuk meningkat kecuali dari AF 75 ppm jumlah tunasnya tetap satu. Pembentukan tunas meningkat hampir tiga kali pada media kontrol dari jumlah tunas tiga (minggu ke-2) menjadi delapan (minggu ke-8). Demikian pula untuk konsentrasi AF lainnya terjadi peningkatan jumlah tunas.

Kalus yang berasal dari AF 30 ppm tunasnya paling banyak, yaitu sembilan. Kemungkinan kalus yang diseleksi mempunyai sel yang lebih adaptif terhadap kondisi stres karena menurut Daud (1996) mutasi spontan dapat terjadi pada sel somatik dengan kisaran antara 0,2-3%. Peningkatan konsentrasi AF dapat menekan proses regenerasi kalus terjadi pula pada tanaman panili (Mariska *et al.*, 2000).

**Tabel 5.** Jumlah dan tinggi tunas abaka yang terbentuk dari kalus yang diseleksi dengan asam fusarat

Asam fusarat (ppm)	Jumlah tunas pada minggu ke		Tinggi tunas (cm) pada minggu ke	
	2	8	2	8
0	3	8	0,40	0,84
15	4	7	0,19	1,50
30	5	9	0,20	0,32
45	2	3	0,06	0,17
60	3	5	0,14	0,34
75	1	1	0,03	0,03

**Tabel 6.** Pengaruh media pemulihan dan multiplikasi (vmw + B5 + thidiazuron 0,4 + asc 100) pada semi kalus kecil terhadap jumlah dan tinggi tunas abaka

Asam fusarat (ppm)	Jumlah tunas pada minggu ke						Tinggi tunas (cm) pada minggu ke					
	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
0	12	12	17	29	29	30	1,22	1,29	1,97	1,96	2,19	2,38
15	11	11	10	11	14	14	1,75	2,16	2,51	2,60	2,90	3,45
30	10	12	12	7	6	6	0,39	0,40	0,63	0,33	0,38	0,44
45	6	6	1	1	1	1	0,36	0,36	0,19	0,19	0,14	0,14
60	7	7	0	0	0	0	0,43	0,43	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tunas hasil seleksi dengan AF maupun filtrat *F. oxysporum* saat ini sedang diseleksi kembali dengan komponen seleksi yang sama tetapi konsentrasinya ditingkatkan.

Pola parameter tinggi tunas sama dengan biakan yang diseleksi dengan filtrat *F. oxysporum*. Semakin tinggi konsentrasi AF semakin pendek tunasnya. Tinggi tunas pada biakan yang tidak diseleksi (AF = 0 ppm) adalah 0,4 cm pada minggu ke-2, sedangkan tinggi tunas untuk AF 75 ppm hanya 0,03 cm. Pada minggu ke-8, tinggi tunas pada kontrol adalah 0,84 cm sedangkan biakan yang diseleksi dengan AF 15 cm sudah mencapai 1,5 cm. Tunas pada AF 75 ppm tidak tumbuh selama enam minggu karena tingginya tetap, yaitu 0,03 cm.

Biakan yang diseleksi selama delapan minggu kemudian disubkultur pada media baru untuk proses pemulihan diri. Pada media baru terlihat perbedaan kemampuan dalam melakukan proliferasi tunas (Tabel 6). Subkultur pada media baru diperlukan karena kalus yang terlalu lama diinkubasi pada media yang mengandung toksin dapat menyebabkan penurunan kemampuan regenerasi dan terjadi perubahan DNA yang terlalu besar (Mc Coy *et al.*, 1982). Untuk menghindari masalah tersebut, maka seleksi pada kondisi stres sebaiknya dilakukan pada periode yang minimal. Keadaan tersebut telah terbukti pada tanaman alfalfa yang diseleksi pada periode yang relatif pendek menghasilkan kalus yang mampu beregenerasi dan kondisi tunasnya lebih tegar (Hartman *et al.*, 1984). Biakan yang diseleksi dengan AF 75 ppm pada minggu ke-2 semuanya mati demikian pula untuk AF 60 ppm (kematian terjadi pada minggu ke-6). Kondisi ini menunjukkan adanya daya toksisitas yang sangat tinggi dari AF konsentrasi tinggi terhadap pertumbuhan jaringan.

Jumlah tunas pada kontrol setiap minggu meningkat tetapi pada AF 30 dan 45 ppm terjadi penurunan karena tunas menjadi layu kemudian mati. Bahkan untuk AF 60 ppm pada minggu ke-2 dan ke-4 jumlah tunasnya tujuh tetapi pada minggu ke-6 semuanya mati dan untuk AF 75 ppm sejak minggu ke-2 semua kalus yang diseleksi sudah mati. Pada minggu ke-12 jumlah tunas pada kontrol adalah 30, untuk AF 15, 30, dan 45 ppm berturut-turut sebanyak 14, 6, dan 1. Sampai dengan pengamatan minggu ke-6 tidak dihasilkan tunas dari AF 60 dan 75 ppm.

Tunas abaka hasil seleksi dengan AF setelah melakukan proses pemulihan, saat ini sedang diseleksi kembali dengan komponen seleksi yang sama tetapi konsentrasinya ditingkatkan.

## KESIMPULAN

1. Peningkatan konsentrasi asam fusarat atau filtrat *F. oxysporum* dapat menyebabkan penurunan daya regenerasi kalus abaka yang diseleksi.
2. Tunas adventif lebih banyak terbentuk dari kontrol, filtrat (0 dan 10%), dan AF (0, 5, dan 30 ppm).

3. Dalam media pemulihan, tunas abaka yang diperlakukan dengan asam fusarat 60 dan 75 ppm mati, dengan asam fusarat 30 dan 45 ppm jumlah tunas menu-run dan tunas yang berasal dari kontrol mempunyai kemampuan proliferasi yang tinggi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Saudara Fitri Darmayanti, Sri Utami, Mujiman, Joko Tamami, Wawan Sukmawan, Saefudin, Bertha, Ismijaton, Sanusi, Tatang, Marnah, dan Wawan Darmawan yang telah membantu dalam pembuatan media, aklimatisasi, dan pengumpulan data.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahlowalia, B.S. 1986.** Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. *In* Serial, J. (Ed.). Somaclonal Variation and Crop Improvement. Martinus Nijhoff Publisher. USA. p. 14-27.
- Arceoni, S., M. Pezzotti, and F. Damiani. 1987.** *In vitro* selection on alfalfa plants resistant to *Fusarium* f. sp. *medicaginis*. Theor. Appl. Genet. 74:700-705.
- Bisnis Indonesia. 1998.** Indonesia berpotensi pasok serat abaca. Bisnis Indonesia, Edisi 27 Oktober 1998.
- Daud, M.E. 1996.** Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. Annual Review of Phytopathology 24:159-186.
- Hartman, C.L., T.J. Mc Coy, and T.R. Knous. 1984.** Selection of alfalfa (*Medicago sativa*) cell lines and regeneration of plants resistant to the toxin(s) produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. Plant Sci. Lett. 34:183-194.
- Latunde-Dada and J.A. Lucas. 1988.** Somaclonal variation and resistance to verticillium wilt in lucane *Medicago sativa* L. plant regenerated from callus. Plant Sci. 38:111-119.
- Mariska, I., Hobir, M. Tombe, D. Manohara, S. Hutami, W.H. Adil, E.G. Lestari, R. Purnamaningsih, D. Sukmadjaya, M. Kosmiatin, A. Husni, dan S. Rahayu. 2000.** Peningkatan keragaman genetik melalui seleksi *in vitro* dan keragaman somaklonal untuk ketahanan terhadap faktor biotik dan abiotik. Laporan Hasil Penelitian Balitbio Bogor.
- Mc Coy, T.J., R.L. Phillips, and H.W. Rines. 1982.** Cytogenic analysis of plants regenerated from oat (*Avena sativa*) tissue cultures high frequency of partial chromosome loss. Lan. J. Genet. Cytol. 24:37-50.

- Ojima, K. and K. Ohira. 1986.** Characterization and regeneration of aluminum tolerant variant from carrot cell culture. Jap. Ann. Plant Tissue Culture. Tokyo.
- Sastrosupadi, A. 1999.** Informasi budi daya abaca untuk menunjang pengembangan agrobisnis abaca. Makalah pada Seminar dan Lokakarya Nasional Peluang dan Potensi Serat Abaca dan Pemberdayaan Ekonomi Rakyat. KADIN JAYA. Jakarta, 15 September 1999.
- Scott, E.S. 1994.** *In vitro* selection of disease resistant plant using tissue culture. Biotrop Spec. Publ. 54:6-21.
- Sujindro. 1999.** Pemanfaatan plasma nutfah dalam usaha pengembangan tanaman abaca untuk mendukung industri strategis. Makalah pada Seminar dan Lokakarya Nasional Peluang dan Potensi Serat Abaca dan Pemberdayaan Ekonomi Rakyat. KADIN JAYA. Jakarta, 15 September 1999.
- Van den Bulk, R.U. 1991.** Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding, a review. Euphytica 56:269-285.
- Van Sint Jan, V., C. Costa de Macedo, J.M. Kinet, and J. Bouharmont. 1997.** Selection of Al-resistant plants from a sensitive rice cultivar, using somaclonal variation, *in vitro*, and hydroponic cultures. Euphytica 97:303-310.