

Perkembangan Penelitian Kultur *In Vitro* pada Tanaman Industri, Pangan, dan Hortikultura

Ika Mariska

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor

ABSTRACT

***In Vitro* Research Development on Industrial, Food, and Horticulture Crops. Ika Mariska.** Studies on plant propagation through tissue culture have been applied in different crops, including industrial, horticultural, and different endanger species of medicinal crops. Many factors affected the success of plant propagation of perennial crops. Tissue culture involves various compound (organic or inorganic) in growing media, so that in developing tissue culture, one will need the knowledge in plant physiology, biochemistry, genetic, and plant breeding. With the basic science, experience and strong intuitions, different problems in regeneration system can be solved. Plant genetic improvement have been applied on vanilla, patchouli, ginger, black pepper, and soybean. The methods used in those crops were embryo rescue in vanilla, *in vitro* selection in black pepper and soybean, and protoplast fusion in eggplant. In soybean, it has been produced different lines of generation 6 (F6) which were planted in acid soil. The lines produced the pods more that any variety released as tolerant variety to acid soil. To transfer the resistance traits to soil borne pathogens protoplast fusion technique has been applied, where *Solanum aethiopicum* (resistant) was fused to cultivated eggplant (*S. melongena*). The anthers of the fused progenies were further cultured to produce the haploid plants, which further backcrossed to *S. melongena*. The F1 of the backcross (BC1) resistant to soilborn pathogen and the fruits resembled the fruits of *S. melongena*. The processes were supported by breeders, plant pathologist, and agronomist. Genetic conservation has been focused to the endangered medicinal crops. Seven species of endanger medicinal crops and other potential species have been conserved *in vitro*

Key words: *In vitro*, industrial crop, food crop, horticulture crop

Dengan semakin berkembangnya usaha di bidang pertanian maka kebutuhan bibit semakin meningkat. Melalui perbanyakan konvensional sangat sulit untuk memenuhi kebutuhan bibit yang sangat banyak dengan waktu relatif cepat. Dengan demikian, teknologi kultur jaringan telah terbukti dapat digunakan sebagai teknologi pilihan yang sangat menjanjikan untuk pemenuhan kebutuhan bibit tanaman yang akan dieksploitasi secara luas. Namun demikian, ada faktor tertentu yang harus diantisipasi, yaitu penyimpangan genetik yang dapat terjadi karena metode *in vitro*. Untuk itu, perlu dimengerti mekanisme fisiologi apa yang terjadi, faktor apa saja yang menyebabkannya sehingga mutasi dapat dihindarkan. Berdasarkan pengalaman pada

spesies tanaman tertentu, yaitu suatu formulasi media sangat baik untuk memacu pertunasan pada tahap awal sampai subkultur keenam, namun pada subkultur berikutnya menjadi tidak baik (semua biakan menghitam, layu, dan mati). Hal tersebut terjadi karena terdapat komponen organik tertentu yang tidak baik digunakan pada jaringan yang sudah mengalami periode kultur *in vitro* lama. Formulasi media baru yang lebih sederhana komponennya dicoba dan biakan mengalami penyembuhan serta tumbuh normal kembali. Dari contoh tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa untuk memecahkan sistem regenerasi tanaman tidak mudah. Banyak hal yang harus dipelajari dan dikuasai seperti mekanisme fisiologi, daya aktivitas, laju transportasi, sifat persistensi, daya aktivitas dari berbagai komponen

organik dan anorganik penyusun media tumbuh serta faktor lain yang berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro*.

PERBANYAKAN TANAMAN MELALUI KULTUR JARINGAN

Penelitian kultur jaringan yang sedang dan telah dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) dan Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (Balitbiogen) selama beberapa tahun ini dapat dibagi menjadi tiga kelompok (Tabel 1), yaitu (1) tanaman semusim berdinginding lunak, (2) tanaman tahunan berkayu, dan (3) tanaman pangan. Dari ketiga kelompok tersebut, umumnya tanaman semusim berdinginding lunak lebih mudah dikuasai sistem regenerasinya. Walaupun demikian, sampai saat ini masih banyak spesies tanaman yang belum dikuasai sistem regenerasinya.

Penelitian kultur jaringan di Balitbiogen sampai saat ini telah mendapat bantuan atau kerja sama dengan pihak pemerintah atau swasta baik dari dalam maupun luar negeri (Tabel 2). Beberapa spesies tanaman yang sudah dan sedang diteliti dengan permasalahan yang dihadapi antara lain:

1. Tanaman obat langka puar (*Elettaria sumatrana*)

Secara visual tanaman tersebut mirip jahe dan secara konvensional mudah diperbanyak. Dengan kondisi tersebut timbul anggapan bahwa tanaman tersebut mudah diperbanyak melalui kultur jaringan. Tetapi setelah dicoba, sistem regenerasinya sangat lambat dan terdapat masa-lah pelayuan yang cepat. Apabila tumbuh sedikit, tunasnya cepat mati, keadaan yang sama ditemukan pada garut (*Maranta arundinacea*). Masalah oksidasi

Tabel 1. Berbagai spesies tanaman yang telah dan sedang diteliti sistem regenerasinya

No.	Tanaman semusim/berdinding lunak	No.	Tanaman berkayu	No.	Tanaman pangan
1.	Jahe (<i>Zingiber officinale</i>)	1.	Kayu manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	1.	Kacang tanah (<i>Arachis hypogaea</i>)
2.	Touki (<i>Angelica acutiloba</i>)	2.	Pulai (<i>Alstonia scholaris</i>)	2.	Kedelai (<i>Glycine max</i>)
3.	Kapulaga (<i>Elettaria cardamomun</i>)	3.	Jati (<i>Tectona grandis</i>)		
4.	<i>Mentha arvensis</i> , <i>M. piperita</i>	4.	Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)		
5.	Panili (<i>Vanilla planifolia</i>)	5.	Pala (<i>Myristica fragrans</i>)		
6.	Rami (<i>Bochmeria nivea</i>)	6.	Jambu mente (<i>Anacardium occidentale</i>)		
7.	Lada (<i>Piper nigrum</i>)	7.	Pulasari (<i>Alyxia stellata</i>)		
8.	Pyrethrum (<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>)	8.	Jeruk (<i>Citrus</i> sp.)		
9.	Gerbera (<i>Gerbera jamesonii</i>)	9.	Ylang-ylang (<i>Canangium odoratum</i>)		
10.	Seruni (<i>Chrysanthemum morifolium</i>)	10.	<i>Solanum torvum</i>		
11.	Abaka (<i>Musa textilis</i>)	11.	Pepaya (<i>Carica papaya</i>)		
12.	Berbagai tanaman hortikultura lain				
13.	Berbagai tanaman obat lain				

Tabel 2. Penelitian kerja sama untuk perbanyak dan perbaikan tanaman melalui kultur *in vitro*

No.	Tanaman	Swasta/BUMN
1.	Cengkeh	BANPRES
2.	Gerbera, krisan	PT. Semen Gresik
3.	Kayu manis	Mc. Cormick, Amerika
4.	<i>Angelica acutiloba</i> (tanaman obat)	PT. Eisai, Jepang
5.	<i>Clausena amsata</i> (tanaman atsiri)	Pernod, Perancis
6.	Nilam (tanaman atsiri)	Unilever
7.	Geranium	PT. Pupuk Iskandar Muda
8.	Nilam	RUT II - DRN
9.	Kedelai	Jerman
10.	Cengkeh	PT Sampoerna
11.	<i>Solanum</i> sp.	Masyarakat Ekonomi Eropa

fenol yang sering dijumpai pada tanaman lain tidak ditemukan pada tanaman tersebut. Diduga masalah ini terjadi karena ada metabolik sekunder yang dikeluarkan oleh jaringan tanaman dan masalah semakin meningkat dengan kondisi formulasi media yang kaya akan garam-garam mineral yang dapat menimbulkan tekanan osmosa tinggi.

2. Perakaran jambu mente (*Anacardium occidentale*)

Jambu mente termasuk tanaman tahunan berkayu yang sangat lambat daya regenerasinya dan kesulitan meningkat apabila tunas *in vitro* diakarkan. Setelah dicoba lebih dari 200 formulasi media, akar dapat diinduksi pada media dasar dengan kandungan total ion yang rendah, diberi NAA dan asam amino tertentu. Formulasi media tidak

ter-lalu kompleks tetapi memerlukan kesabaran untuk mendapatkan yang terbaik.

Formulasi media terdiri dari garam-garam makro dan mikro (14 unsur), vitamin (umumnya 5 macam), zat pengatur tumbuh (2 macam), dan anti oksidan. Apabila salah satu unsur dihilangkan akan memberikan hasil yang berbeda, selain kondisi fisiologi pohon induk, jenis eksplan, musim pengambilan eksplan serta faktor lain juga harus diperhitungkan. Semakin banyak unsur yang terkandung dalam media tumbuh maka semakin banyak kombinasi perlakuan yang harus diberikan. Pengalaman, pengetahuan mengenai fisiologi, peranan setiap komponen organik maupun anorganik, pengaruh faktor fisik, serta daya in-tuisi yang kuat sangat diperlukan

untuk keberhasilan sistem regenerasi.

3. Perbanyak vegetatif pepaya hasil persilangan pepaya Hawaii dengan pepaya Bangkok

Beberapa tahun yang lalu, penelitian perbanyak pepaya hasil persilangan antara pepaya Hawaii dan pepaya Bangkok dilakukan dengan hasil yang kurang memuaskan. Masalah yang dihadapi adalah tunas tidak dapat tumbuh memanjang, rosette, daun cepat menguning, dan akhirnya gugur. Sebanyak 86 formulasi media telah dicoba mulai dari media MS (1, 1/2, 1/4), Anderson (1, 1/2), DKW (1, 1/2, 1/4), WPM (1, 1/2) kombinasi dengan sitokinin (zeatin, 2iP, BA, kine-tin), dan GA₃ pada beberapa konsentrasi, penggunaan berbagai asam amino tetapi belum memberikan hasil yang baik.

Biakan cenderung melakukan proliferasi tunas walaupun tidak diberi sitokinin dan tunasnya tetap pendek, cepat mengering serta selalu membentuk kalus bagian dasarnya.

Setelah dicoba penggunaan media dasar yang kaya mineral, penambahan sitokinin konsentrasi rendah, beberapa asam amino, serta anti auksin, tunas dapat memanjang dan tidak menguning.

4. Perbanyakan abaka (*Musa textilis* Nee.)

Abaka merupakan salah satu tanaman industri yang akan dikembangkan secara besar-besaran. Serat batangnya dapat digunakan untuk kertas berharga, uang dollar Amerika, tekstil, pembungkus teh celup, tissue, pembungkus kabel laut (tahan air laut dan kelembaban tinggi) serta banyak lagi kegunaannya.

Dari hasil penelitian di laboratorium sampai lapang, ternyata tanaman hasil perbanyakan kultur jaringan lebih seragam pertumbuhannya, komponen pertumbuhan relatif lebih baik begitu pula produksi serat batangnya dibandingkan dengan bibit asal bonggol atau anakan.

Di saat kondisi resesi ekonomi yang melanda Indonesia saat ini, ternyata abaka merupakan tanaman potensial untuk dikembangkan. Banyak kalangan pengusaha, koperasi maupun petani yang akan mengembangkannya secara luas. Bahkan pemerintah akan memberikan kredit untuk petani yang akan mengembangkannya abaka.

PERBAIKAN TANAMAN MELALUI KULTUR *IN VITRO*

Penelitian perbaikan tanaman yang telah dilakukan, yaitu pada ta-

naman lada, panili, jahe, tembakau, nilam, dan *Solanum* sp. Untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman dilakukan melalui metode keragaman somaklonal, seleksi *in vitro*, kultur anter, penyelamatan embrio, dan fusi protoplas. Penelitian perbaikan tanaman melalui kultur *in vitro* sering dipertanyakan dan ditanggapi, sebagai penelitian yang mudah dan tidak berbobot, bahkan mulai ditinggalkan. Tetapi penelitian ini tetap dilakukan terutama pada spesies tanaman yang selalu diperbanyak secara vegetatif serta pada tanaman yang tidak berbunga. Apabila setiap regenerasi baru tetap diteliti terus menerus (berkelanjutan) sampai di lapang, maka pada akhirnya akan diperoleh nomor-nomor harapan dengan sifat yang diharapkan.

Keragaman Somaklonal

Panili

Keragaman somaklonal merupakan keragaman genetik yang terjadi secara spontan hasil regenerasi sel somatik. Perubahan sifat genetik dan sel somatik telah dilaporkan sejak tahun 1961. Metode tersebut telah diterapkan pada tanaman panili kombinasi dengan mutagen fisik (radiasi sinar gamma). Pengembangan panili mengalami masalah penyakit busuk batang yang disebabkan *Fusarium oxysporum*. Dari beratus-ratus somaklon yang akhirnya menjadi nomor baru telah diuji di rumah kaca dan lapang (di 2 lokasi yang sudah terkontaminasi penyakit *F. oxysporum*). Dari percobaan lapang di Sukabumi diperoleh sekitar 12 nomor yang tidak tersewang. Nomor-nomor tersebut saat ini sudah ditanam di Bali (salah satu sentra produksi panili) yang sudah tercemar penyakit, bekerjasama dengan Dinas Pertanian setempat.

Nilam

Nilam merupakan penghasil minyak atsiri yang potensial dikembangkan dan Indonesia merupakan pemasok utama di pasar dunia. Peningkatan kadar minyak nilam melalui teknik konvensional sulit dilakukan karena tanaman tersebut tidak berbunga.

Peningkatan keragaman genetik dilakukan pada tunas *in vitro* yang telah mengalami periode kultur *in vitro* selama 2 tahun dan subkultur 12 kali. Kalus yang berasal dari jaringan daun yang diisolasi dari biakan tersebut kemudian dikaluskan dan dibuat suspensi sel kemudian massa selnya ditaburkan di atas kertas filter. Sel tersebut di-radiasi dengan sinar gamma 0-3 krad. Sekitar 411 somaklonal yang diperoleh diuji di 2 lokasi (Bogor dan Bandung) selama 2 tahun berturut-turut. Dari sekitar 411 somaklonal diperoleh 5 somaklon yang kadar minyaknya tinggi dan di antaranya terdapat 1 somaklon yang kadar minyaknya mencapai 4% dan selalu stabil pada setiap panen dengan musim yang berbeda. Pada tahun ketiga dicoba kembali di Bogor, kadar minyaknya tetap stabil, demikian pula pada tahun keempat.

Jahe

Masalah penyakit yang disebabkan bakteri *Pseudomonas solanaceae* pada jahe merupakan masalah yang sulit dipecahkan. Untuk meningkatkan keragaman genetik dicoba melalui keragaman somaklonal pada kalus dan tunas adventif yang telah mengalami periode kultur *in vitro* yang lama. Diperoleh sekitar 4 somaklon yang tidak menunjukkan gejala sakit setelah ditanam pada lokasi yang telah tercemar penyakit (Bogor) dan satu somaklon KJ 40 tumbuhnya lebih

tegar dibandingkan dengan somaklon lainnya.

Seleksi *In Vitro*

Seleksi *in vitro* merupakan salah satu metode dari keragaman somaklonal tetapi lebih efektif dan efisien karena perubahan genetik lebih diarahkan pada sifat yang diinginkan. Metode seleksi *in vitro* diterapkan pada tanaman panili, lada, dan kedelai.

Panili

Seleksi pada tanaman panili dilakukan pada struktur globular ukuran (1 mm) yang diseleksi dengan asam fusarat dan filtrat *F. oxysporum*. Seleksi dilakukan bertahap, tunas hasil regenerasi diseleksi silang dengan komponen seleksi lainnya. Hasil sementara menunjukkan bahwa tunas hasil regenerasi struktur globular yang tidak diseleksi apabila diinokulasi menjadi mati (*screening in vitro*) tetapi untuk tunas hasil seleksi tetap hidup. Terdapat perbedaan morfologi yang nyata, biakan dari asam fusarat lebih tipis akarnya sedangkan biakan dari filtrat *F. oxysporum* daunnya lebih hijau dan lebih tebal.

Lada

Untuk memecahkan masalah penyakit *Phytophthora capsici*, massa sel diinduksi dari jaringan daun dan diseleksi dengan filtrat *P. capsici*. Saat ini telah dihasilkan sekitar 8 somaklon yang akan diaklimatisasi di rumah kaca.

Kedelai

Pada tahap awal penelitian kedelai dicoba 10 varietas, 7 jenis eksplan, dan 18 formulasi media untuk produksi kalus embriogenik, serta 25 formulasi media untuk pendewasaan dan perkecambahan. Dari hasil kegiatan awal, dicoba kembali formulasi media, sumber eksplan, dan kondisi fisiologi

pohon induk yang memberikan hasil yang baik dan ternyata metode yang diperoleh dapat diulang dengan keberhasilan yang relatif sama. Setelah diperoleh metode regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik yang dapat diulang, maka dicoba menyeleksi massa sel pada media dengan kemasaman rendah (sekitar 4) dengan menggunakan $\text{AICl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebagai komponen seleksi. Tanaman hasil seleksi *in vitro* telah ditanam sampai generasi ke-6 di lahan masam Gajrug (Banten) dan Jasinga (Kabupaten Bogor). Dari generasi ke-6, telah diperoleh galur-galur baru dengan produksi polong lebih tinggi dibandingkan dengan varietas Sindoro yang telah dilepas sebagai varietas tahan lahan masam.

Kultur Anter

Pada program pemuliaan tembakau terdapat satu kegiatan, yaitu kultur anter varietas Burley. Dari hasil penelitian telah diperoleh metode regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik dengan menggunakan media MS + 0,30 mg/l GA_3 + 750 mg/l glutamin. Benih somatik yang diperoleh dan anter mempunyai penampakan yang lebih kecil dari pohon induknya.

Penyelamatan Embrio

Panili liar diduga lebih tahan terhadap penyakit busuk batang dibandingkan dengan panili budi daya. Untuk itu, dilakukan persilangan seksual antara panili budi daya dengan panili liar (*Vanilla albida*) dari beberapa lokasi. Setelah dilakukan persilangan secara seksual maka biji F1-nya dikulturkan pada media tumbuh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji F1 hasil persilangan panili liar dan budi daya hanya dapat dkecambahkan pada umur 8, 12, dan 16 minggu setelah polinasi. Di lain pihak biji

hasil persilangan panili budi daya dengan panili budi daya dapat dkecambahkan pada berbagai tingkatan umur, yaitu 8, 12, 16, 24, 28, dan 32 minggu. Untuk mengantisipasi masalah sterilisasi, telah dilakukan poliploidisasi pada biakan F1.

Fusi Protoplas

Penelitian produksi bahan tanaman dan pemuliaan tanaman terung (*Solanum melongena*) terhadap penyakit tular tanah melalui fusi protoplas dengan dana dari Masyarakat Ekonomi Eropa telah dilakukan. Penelitian tersebut merupakan kerja sama antara peneliti Perancis, India, Italia, dan Indonesia. Masing-masing melakukan penelitian yang sama dengan spesies tanaman yang berasal dari negaranya masing-masing.

Teknik terbaru untuk isolasi dan fusi protoplas telah dicoba dan berhasil memfusikan *S. melongena* dengan *S. torvum* atau *S. aethiopicum*. Hasil fusi yang dihasilkan oleh semua negara yang terlibat telah dinamai di Inlithbio Pacet. Selain itu, tanaman hibrida somatik hasil fusi telah dilakukan kultur anter untuk mendapatkan tanaman dihaploid dan tanaman tersebut kemudian disilang balik dengan *S. melongena* dan tanaman F1-nya menunjukkan sifat ketahanan yang sama dengan *S. aethiopicum* dan buah menyerupai *S. melongena*.

PENYIMPANAN TANAMAN OBAT LANGKA MELALUI KULTUR JARINGAN

Dari spesies tumbuhan obat yang ada di Indonesia, sekitar 31 telah dikategorikan langka. Untuk itu, penyelamatan tumbuhan obat langka ini perlu dilakukan dan salah satunya dengan menyimpan

Tabel 3. Berbagai tumbuhan obat langka yang berhasil tersimpan melalui kultur jaringan

No.	Tumbuhan obat langka dan potensial
1.	Purwoceng (<i>Pimpinella pruatjan</i>)
2.	Temu puteri (<i>Curcuma petiolata</i>)
3.	Puar (<i>Elettaria sumatrana</i>)
4.	Pulepandak (<i>Rauwolfia serpentina</i>)
5.	Pulai (<i>Alstonia scholaris</i>)
6.	Bidara upas (<i>Merremia mammosa</i>)
7.	Inggau (<i>Ruta angustifolia</i>)
8.	Berbagai tumbuhan potensial lainnya

sebagai koleksi *in vitro*. Sampai saat ini, tumbuhan obat langka yang telah diselamatkan disajikan pada Tabel 3. Metode yang digunakan antara lain melalui pertumbuhan minimal.

KESIMPULAN

1. Kultur jaringan dapat dimanfaatkan tidak hanya untuk perbanyak tanaman tetapi juga untuk perbaikan tanaman dan penyimpanan plasma nutfah.
2. Untuk dapat merakit varietas baru, penelitian tidak hanya dilakukan di laboratorium tetapi harus dilanjutkan sampai lapang dan sangat diperlukan kerja sama dengan para pemulia konvensional.

DAFTAR PUSTAKA

- Collonier, C., I. Fock, V. Kosyap, G.L. Rotino, M.C. Daunay, Y. Lion, I. Mariska, M.V. Rojam, A. Servacs, G. Pucrev, and D. Sihachaker. 2001a. Application of biotechnology in eggplant. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 65:91-107.
- Collonier, C., K. Mukyo, I. Fock, I. Mariska, A. Sevvacs, F. Vedel, S. Siljak-Yokovlev, V. Sovvannovny, G. Ducreux, and D. Sihachaker. 2001b. Sowie of resistance against *Rolstonia solanacearum* in fertile somatic hybrids of eggplant

(*Solanum melongena*) with *S. aethiopicum* L. *Plant Science* 160: 301-313.

Goenadi, D.H. and I. Mariska. 1995. Shoot initiation by home acids of selected tropical crops grown in tissue culture. *Plant Cell Reports* 15:59-62.

Hobir, S.F. Syahid, dan I. Mariska. 1998. Pengaruh pupuk dan jarak tanam terhadap pertumbuhan dan produksi jahe asal kultur jaringan. *Jurnal Littri* IV(4):129133.

Husni, A., I. Mariska, dan D.H. Goenadi. 1994. Pengaruh pemberian asam humat terhadap pertumbuhan kapulaga secara *in vitro*. *Buletin Littri* 7:28-3-3.

Husni, A., I. Mariska, dan M. Kosmiatin. 1997a. Kultur protoplas hasil fusi antara lada budi daya dengan lada liar. *Jurnal Littri* 5:194-199.

Husni, A., I. Mariska, dan S. Rahayu. 1997b. Hibridisasi somatik lada liar dengan lada budi daya. *Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia*. Surabaya, 12-14 Maret 1997. hlm. 64-74.

Kosmiatin, M., I. Mariska, A. Husni, Y. Rusyadi, Hobir, dan M. Tombe. 2000. Seleksi silang ketahanan tunas *in vitro* panili terhadap asam fusarat dan ekstrak *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 5(2):77-83.

Lestari, E.G. dan I. Mariska. 1992. Mikropropagasi tanaman obat langka *Alyxia stelatta*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi LIPI*. Bogor, 11-12 Pebruari 1992.

Lestari, E.G., D. Seswita, dan I. Mariska. 1991. Pengaruh beberapa zat tumbuh sitokinin BAP, kinetin,

dan zeatin pada perbanyak mikro tanaman rami. *Prosiding Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biolimer*. Bogor, 10-11 Desember 1991.

Lestari, E.G., I. Mariska, dan Yelni-titis. 1994a. Konservasi *in vitro* tanaman obat langka pulasari melalui pertumbuhan minimal. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII. PERHIPBA dan Baliitro*. Bogor, 24-25 Nopember 1994.

Lestari, E.G., S.F. Syahid, dan I. Mariska. 1994b. Perbanyak generatif tanaman panili melalui kultur *in vitro*. *Buletin Littri* (7):34-39.

Lestari, E.G., I. Mariska, dan D. Seswita. 1996. Aplikasi kultur jaringan untuk perbanyak klonal tanaman kencur. *Warta Tumbuhan* II(3):11-14.

Mariska, I. 1985. Meristem. Mikrografing untuk memperoleh tanaman jeruk bebas virus. *Risalah Seminar Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Jakarta, 29-31 Oktober 1985.

Mariska, I. dan D. Sukmadjaja. 1987. Perbanyak tanaman panili melalui kultur *in vitro*. *Edsus Littro* 111(2): 84-88.

Mariska, I. dan E.G. Lestari 1988. Perbanyak tanaman krisan melalui teknik kultur jaringan. *Buletin PERAGI* 2(1):19-25.

Mariska, I. dan S.F. Syahid 1992. Perbanyak vegetatif melalui kultur jaringan pada tanaman jahe. *Buletin Littri* 4:1-5.

Mariska, I. dan E.G. Lestari 1993. Perbanyak tanaman tempuyung melalui kultur jaringan. *Prosiding Seminar Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*.

Mariska, I. dan D. Seswita. 1994a. Pengaruh lama penyimpanan dan zat penghambat terhadap daya regenerasi biakan pule pandak. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi LIPI. Cibinong, 6-7 September 1994.

Mariska, I. dan A. Husni. 1994b. Peranan *humic acids* pada pertumbuhan nilam secara *in vitro*. *Medkon*. *Littri* 14:67-71.

- Mariska, I. dan Hobir. 1998a.** Upaya penyediaan benih tanaman jahe melalui kultur jaringan. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian XVII(2):9-13.*
- Mariska, I. dan Hobir. 1998b.** Peningkatan keragaman genetik tanaman tunas dan tangkai daun pada tanaman geranium secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian XVII(4):115-121.*
- Mariska, I., E.G. Lestari, dan D. Sukmadjaja. 1987a.** Kultur mata tunas dan tangkai daun pada tanaman geranium secara *in vitro*. *Pembr. Littri XIII(1-2):41-46.*
- Mariska, I. E.G. Lestari, dan D. Sukmadjaja. 1987b.** Multiplikasi tunas tanaman mentha melalui kultur *in vitro*. *Pembr. Littri XII(3-4):80-84.*
- Mariska, I., Mana Surya, dan P. Tjondronegoro. 1989.** Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap, pembentukan dan penambahan kalus *Solanum laciniatum* dalam kultur *in vitro*. *Pembr. Littri XV(1):1-8.*
- Mariska, I. E.G. Lestari, dan D. Sukmadjaja. 1991.** Upaya pelestarian tumbuhan obat langka purwoceng (*Pimpinella pruyan*). *Prosiding Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat dari Hutan Tropis Indonesia. Institut Pertanian Bogor.*
- Mariska, I., E.G. Lestari, dan A. Husni. 1993.** Metode isolasi protoplas lada varietas Lampung Daun Lebar. *Buletin Littri. 5:9-13.*
- Mariska, I., D. Seswita, dan R. Purnamaningsih. 1995a.** Peningkatan keragaman genetik tanaman nilam dengan colchisin. *Simposium Nasional I Tumbuhan Obat dan Aromatik LIPI. Bogor, 10-12 Oktober 1995.*
- Mariska, I., R. Purnamaningsih, dan M. Kosmiatin. 1995b.** Pertumbuhan biakan purwoceng pada beberapa media dasar. *Prosiding KIPNAS VI. LIPI dan DIKTI. Jakarta, 11-15 September 1995.*
- Mariska, I., M. Tombe, dan D. Sukmadjaja. 1996.** Peningkatan keragaman genetik tanaman panili hubungannya dengan ketahanan penyakit busuk batang panili. *Proc. Seminar on Integrated Control of Industrial Crops. Balitro, JICA. Bogor.*
- Mariska, I., Hobir, A. Husni, M. Kosmiatin, dan Y. Rusyadi. 1997.** Kultur *in vitro* biji hasil persilangan panili budi daya dengan panili liar. *Prosiding Simposium dan Kongres III PERIPI. Bandung, 24-25 September 1997.*
- Mariska, I., Hobir, A. Husni, M. Kosmiatin, dan Y. Rusyadi. 1998.** Seleksi *in vitro* untuk mendapatkan sifat ketahanan terhadap *Fusarium oxysporum* pada tanaman panili. *Kongres 11, Konsorsium Bioteknologi Indonesia dan Seminar Nasional Bioteknologi. Malang, 20-21 September 1998.*
- Mariska, I., S. Hutami, M. Kosmiatin, A. Husni, W.H. Adil, and Y. Supriyati. 1999.** Somatic embryogenesis in different soybean varieties. *Workshop on Soybean Biotechnology for Aluminum Tolerance on Acid Soils and Disease Resistance. Biotechnology Indonesia-Germany Project. BBPT-CRIFC. Bogor, 14-15 September 1999.*
- Mariska, I., K. Mulya, Hobir, S. Rahayu, E.G. Lestari, and M. Kosmiatin. 2000.** Test for resistance, phenotypic characters and productivity of somatic hybrids, n haploid clones, and parental material of, *Solanum* spp. *Seminar and 3rd Annual EC and RIFCB. Bogor, 5-9 June 2000.*
- Nuryani, Y., I. Mariska, A. Husni, dan C. Syukur. 1999.** Fusi protoplas nilam Jawa dan nilam Aceh. *Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian. Jakarta, 31 Agustus-1 September 1999. hlm. 271-278.*
- Sukmadjaya, D. dan I. Mariska. 1991.** Regenerasi tanaman lada melalui kultur jaringan. *Prosiding Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer. Bogor, 10-11 Desember 1991.*
- Sukmadjaya, D., A. Husni, dan I. Mariska. 1996.** Analisis isozim pada beberapa nomor panili hasil biak jaringan yang diinduksi dengan sinar gamma. *Jurnal Bioteknologi Pertanian 1(2):60-67.*
- Syahid, S.F. dan I. Mariska. 1997.** Pengaruh media dan zat pengatur tumbuh terhadap induksi dan regenerasi kalus jahe secara *in vitro*. *Jurnal Littri 111(4):145-150.*
- Syahid, S.F., I. Mariska, dan Y. Rusyadi. 1996.** Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan dan produksi jahe. *Prosiding Pertanaman Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. BATAN. Jakarta, 9-10 Januari 1996.*
- Syamsudin, E., I. Mariska, dan Hobir. 1997.** Keragaman somaklonal dan heritabilitas beberapa sifat tanaman nilam. *Jurnal Littri 111(1):25-30.*
- Tjondronegoro, P.D., I. Mariska, dan Zaiuirawati. 1997.** Sintesis minyak atsiri pada kultur jaringan nilam. *Hayati 4(2):35-37.*
- Yonard and I. Mariska. 1987.** Analyse de finfluence de divers facteur ser Fameliotarian des reussite au microgreffage chez les agrumes. *C.R. Acad. Sci. Paris. Plant Physiology III:45-49.*