

## KONSERVASI TANAMAN ANGGREK *Grammatophyllum* SECARA *IN VITRO* MELALUI PERTUMBUHAN MINIMAL MENGGUNAKAN PACLOBUTRAZOL

NA Habibah<sup>✉</sup> Sumadi

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

### Info Artikel

*Sejarah Artikel:*  
Diterima Februari 2013  
Disetujui Maret 2013  
Dipublikasikan April 2013

*Keywords:*  
*Grammatophyllum;*  
*minimal growth;*  
*paclobutrazol*

### Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengkaji medium pertumbuhan minimal bagi *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* dan pertumbuhan kembali *plantlet* setelah mengalami pertumbuhan minimal selama empat bulan. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penambahan paclobutrazol ke dalam medium tanam dengan konsentrasi berturut-turut: 1, 3, dan 5 mg/l. Variabel terikatnya adalah pertumbuhan tunas, dengan parameter pengamatan jumlah daun dan panjang tunas setelah dipelihara dalam medium dengan penambahan paclobutrazol dengan berbagai konsentrasi selama empat bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan anggrek pada medium dengan penambahan paclobutrazol pada semua konsentrasi perlakuan (1, 3, dan 5 mg/l) mengalami hambatan, baik dalam jumlah daun maupun panjang tunas. Hambatan pertumbuhan yang terjadi bervariasi berdasar konsentrasi paclobutrazol yang ditambahkan. Perlakuan paclobutrazol pada *plantlet Grammatophyllum* dapat menurunkan panjang tunas hingga 33,3% bila dibandingkan dengan kontrol yaitu pada konsentrasi 1 mg/l. Jumlah daun juga mereduksi hingga 29% bila dibandingkan dengan kontrol pada konsentrasi paclobutrazol 5 mg/l. Hasil tersebut menunjukkan bahwa paclobutrazol dapat digunakan dalam konservasi jangka pendek pada *plantlet Grammatophyllum* pada konsentrasi 1-5 mg/l. Konservasi *Grammatophyllum* menggunakan paclobutrazol hendaknya tidak melebihi empat bulan karena akan menurunkan kualitas *plantlet*.

### Abstract

*The objective of this research was to study the minimum growth medium for Grammatophyllum plantlet and the plantlets regeneration after grown in paclobutrazol medium at least in four months. The study was conducted experimentally using a complete random design. The independent variable in this study was concentrations of paclobutrazol added into the planting medium : 1, 3, and 5 mg/l. The dependent variable was the growth of shoot and the observed parameter of shoot growth was the number of leaves and shoot length after maintained in the medium with the addition of paclobutrazol in various concentrations for four months. The results showed that the growth of orchids on the medium with the addition of paclobutrazol treatment at all concentrations (1, 3, and 5 mg/l) had growth inhibition both in the number of leaves and shoot length. Growth inhibition that occurred was varied depend on the addition of paclobutrazol concentration. Paclobutrazol treatment on Grammatophyllum plantlets was reduced the shoot length until 33.3% compared to the control at concentration of 1 mg/l. The number of leaves was also reduced until 29% compared to the control group at concentration of 5 mg/l paclobutrazol. These results indicated that paclobutrazol could be used as the short-term conservation of Grammatophyllum plantlets at 1-5 mg/l concentration. The conservation of Grammatophyllum using paclobutrazol should not exceed more than four months because it will reduce the quality of plantlets.*

© 2013 Universitas Negeri Semarang

<sup>✉</sup> Alamat korespondensi:  
Gedung D6 Lt 1 Kampus Sekaran Semarang 50229  
E-mail: nooraini.habibah@yahoo.com

## Pendahuluan

Anggrek tebu (*Grammatophyllum speciosum*) merupakan anggrek terbesar, paling besar dan paling berat di antara jenis-jenis anggrek lainnya. Keunikan dan langkanya tanaman anggrek terbesar dan terberat ini membuat anggrek tebu menjadi salah satu anggrek yang dilindungi di Indonesia. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1999 mengenai Jenis-jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi menetapkan bahwa *Grammatophyllum* merupakan salah satu anggrek yang dilindungi (Anonim 1999).

Salah satu cara konservasi tumbuhan adalah dengan penyimpanan dalam pertumbuhan minimal. Pertumbuhan minimal dapat dilakukan dengan menambahkan paclobutrazol ke dalam medium tumbuh untuk menghambat pertumbuhan pada kultur *in vitro*. Perlu penelitian mengenai konsentrasi paclobutrazol yang tepat sehingga tanaman anggrek tumbuh minimal tetapi daya regenerasinya tidak hilang. Paclobutrazol merupakan senyawa yang mempunyai efek anti *Giberellic Acid* (GA), dengan cara menghambat biosintesis ent kaurene menjadi asam ent kaurenoid dalam pembentukan giberelat dan memperbaiki kapasitas fotosintetik dan keseimbangan air di daun (Berova & Zlatev 2000; Abdul *et al.* 2007). Paclobutrazol sering digunakan sebagai morforegulator (Bañón *et al.* 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan retardan paclobutrazol mampu menekan pertumbuhan kultur dan dapat mengurangi periode sub kultur temu lawak yang biasanya setiap dua bulan menjadi tujuh bulan. Hasil aklimatisasi *plantlet* di rumah kaca dapat tumbuh dengan baik. *Plantlet* tumbuh dan berkembang tanpa menunjukkan adanya penyimpangan dalam penampilan visualnya. Hal lain yang ditemui pada perlakuan paclobutrazol temu lawak adalah penampilan batang yang sangat tegar dan kuat serta lapisan setiap pelepah yang sangat kokoh pada setiap perlakuan paclobutrazol (Syahid 2007). Perlakuan dengan penambahan paclobutrazol ke dalam tanaman mampu mereduksi pertumbuhan, perubahan ketegaran batang dan daun, warna batang dan daun yang terlihat lebih hijau. Kondisi ini disebabkan oleh

sifat fisiologis senyawa ini yang mampu mempertegar dan mempertebal batang, seperti yang ditemui pada perlakuan paclobutrazol pada jahe yang dapat mempertegar *plantlet* yang dihasilkan (Mattjik *et al.* 1994). Perlakuan paclobutrazol mengurangi pertumbuhan panjang tunas *Lilium* hingga 21,12% bila dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan paclobutrazol juga meningkatkan kandungan klorofil a dan b, dan menghambat pengurangannya seperti yang secara alami terjadi selama periode pertumbuhan vegetatif. Kandungan klorofil b pada tanaman yang diberi perlakuan paclobutrazol 536.98% lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanaman kontrol (Zheng *et al.* 2012). Penurunan pertumbuhan *plantlet* dan jumlah daun akibat paclobutrazol terjadi pada *plantlet* kentang varietas Margahayu (Habibah & Sumadi 2012). Penurunan panjang *plantlet*, peningkatan diameter batang, penurunan ukuran daun, dan peningkatan kandungan klorofil karena pengaruh paclobutrazol juga dilaporkan pada *Zantedeschia rehmannii* (Tianqi *et al.* 2008). Krizan *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa paclobutrazol menurunkan panjang tunas pada *Prunus*. Pada kultur *in vitro* lada, perlakuan paclobutrazol mengurangi jumlah daun (Yelnitis & Bermawie 2001). Paclobutrazol juga menurunkan produksi akar yang terbentuk pada akar bangle (Ibrahim 2005). Konsentrasi paclobutrazol umumnya digunakan pada konsentrasi sekitar 5,0 mg/l (Syahid 2007; Yelnitis & Bermawie 2001).

Tujuan dari penelitian ini adalah eksplorasi terarah teknik pengawetan tanaman anggrek *Grammatophyllum* melalui metode pertumbuhan minimal. Keunikan dan langkanya tanaman anggrek terbesar dan terberat ini membuat *Grammatophyllum* menjadi salah satu anggrek yang dilindungi di Indonesia dan mengharuskan adanya langkah pelestarian yang dapat dilaksanakan melalui metode pertumbuhan minimal. Tujuan dapat tercapai melalui tahapan-tahapan: menentukan konsentrasi paclobutrazol yang paling optimal meminimalkan pertumbuhan tunas anggrek dan mengkaji pertumbuhan kembali tunas anggrek setelah dipelihara empat bulan dalam medium pertumbuhan minimal.

## Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Variabel bebas penelitian adalah konsentrasi paclobutrazol berturut-turut 0, 1, 3, dan 5 mg/l yang ditambahkan pada medium tanam berupa MS padat. Variabel terikatnya adalah pertumbuhan tunas, dengan parameter jumlah daun dan panjang tunas. Sebagai variabel kendali adalah media tanam, yaitu MS padat, suhu ruang tanam, dan ruang inkubasi 23–25°C. Setiap kombinasi perlakuan dilakukan dengan ulangan lima kali. Unit percobaan berupa satu botol kultur dengan media MS, masing-masing ditanami dua buah *plantlet*. Medium yang digunakan adalah medium Murashige & Skoog (1962) yang berfase padat. Medium MS padat diperoleh dengan cara penambahan agar-agar sebagai bahan pematid sebanyak 8 g untuk setiap literinya. Medium diatur pHnya hingga mencapai 5,8 dengan penambahan HCl dan NaOH. Setelah itu medium dituangkan ke dalam botol dan disterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah dingin disimpan di dalam ruang kultur selama 4-5 hari untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi, dan siap ditanami.

Botol-botol yang berisi *plantlet* diletakkan di atas rak kultur secara acak sesuai rancangan

percobaan, di dalam ruang inkubasi tertutup bersuhu 23-25°C. Pertumbuhan *plantlet* ditentukan dari jumlah daun dan panjang tunas setelah empat bulan ditanam pada medium perlakuan.

## Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menganalisis pengaruh paclobutrazol yang merupakan salah satu zat penghambat pertumbuhan terhadap pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum*. Pengamatan dilakukan setelah empat bulan *plantlet* anggrek ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol dengan berbagai variasi. Besarnya hambatan pertumbuhan ditentukan dengan membandingkannya dengan pertumbuhan *plantlet* kontrol atau *plantlet* yang ditanam pada medium tanpa penambahan paclobutrazol. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan anggrek pada medium dengan penambahan paclobutrazol pada semua konsentrasi perlakuan (1, 3, dan 5 mg/l) mengalami hambatan baik dalam jumlah daun maupun panjang tunas. Hambatan pertumbuhan yang terjadi bervariasi berdasar konsentrasi paclobutrazol yang ditambahkan. Hasil pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum* pada berbagai medium perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum* pada medium dengan penambahan berbagai konsentrasi paclobutrazol selama empat bulan

Konsentrasi Paclobutracol (mg/l)	Hasil Pertumbuhan <i>Plantlet</i>	
	Panjang Tunas (cm)	Jumlah daun
0	3.6±0.543796	6.5±0.861201
1	2.4±0.474091	5.6±0.672593
3	2.5±0.21157	4.9±0.944911
5	2.6±0.24103	4.6±0.748013

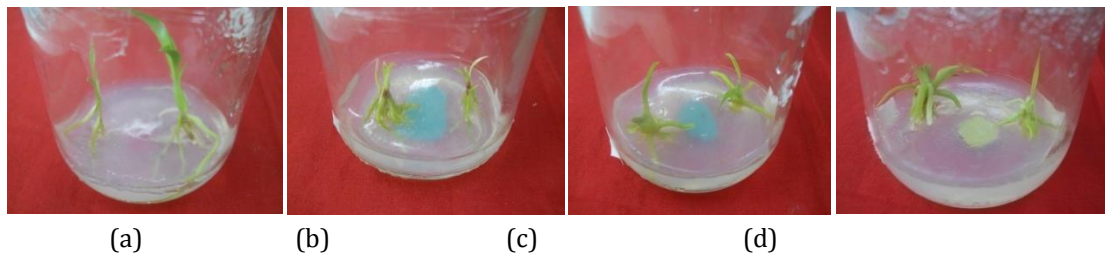
Tabel 1 menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar pada parameter panjang tunas terjadi pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol sebesar 1 mg/l. Hambatan pertumbuhan terkecil justru terjadi pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol sebesar 5 mg/l. Hambatan pertumbuhan terbesar pada parameter jumlah

daun terjadi pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol sebesar 5 mg/l. Hambatan pertumbuhan terkecil terjadi pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol sebesar 1 mg/l. Hasil di atas menunjukkan bahwa konsentrasi paclobutrazol yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* berkisar antara 1-5 mg/l. Hal

ini memperkuat penelitian Syahid (2007), Yelnitis dan Bermawie (2001), serta Mattjik *et al.* (1994) yang menyatakan bahwa paclobutrazol dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan pada konsentrasi sekitar 5,0 mg/l. Nowello *et al.* (1992) menyatakan bahwa paclobutrazol 1 mg/l dapat menghambat pertumbuhan pada daun *Vitis vinifera*. Hasil pengamatan parameter panjang tunas pada penelitian ini ternyata menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi paclobutrazol tidak menghasilkan penghambatan yang lebih besar, hal ini terlihat bahwa penghambatan panjang tunas yang terbesar terjadi pada perlakuan paclobutrazol 1 mg/l. Hal ini ternyata juga terjadi pada Genus *Prunus*, bahwa semakin besar konsentrasi paclobutrazol tidak menyebabkan penghambatan yang lebih besar (Krizan *et al.* 2007). Tetapi konsentrasi paclobutrazol yang meningkat ternyata sejalan dengan penurunan jumlah daun.

Hasil penelitian ini memperkuat yang dikemukakan oleh Habibah & Sumadi (2012) dan Zheng *et al.* (2012) bahwa paclobutrazol merupakan retardan yang bersifat menghambat biosintesis giberelin yang berperan dalam proses

pemanjangan sel dan jaringan tanaman, paclobutrazol juga menurunkan aktivitas metabolisme jaringan dan dapat menghambat proses pertumbuhan vegetatif. Pada penelitian ini hambatan pada proses pertumbuhan vegetatif terlihat pada hambatan penambahan jumlah daun dan juga penambahan panjang tunas yang terlihat pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium perlakuan. Hal ini sejalan dengan yang terjadi pada kultur *in vitro* lada, yang mengalami pengurangan jumlah daun dengan perlakuan paclobutrazol (Yelnitis & Bermawie 2001). Kepenek dan Karoglu (2011) juga melaporkan bahwa paclobutrazol menghambat pertumbuhan panjang tunas pada kultur dari berbagai varietas apel. Penghambatan pertumbuhan mulai terjadi sekitar dua minggu setelah penanaman pada medium dengan penambahan paclobutrazol. Hal ini terlihat dari perbedaan panjang tunas dan jumlah daun dari *plantlet* yang ditanam pada medium tanpa penambahan paclobutrazol dengan *plantlet* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol.



**Gambar 1.** Pertumbuhan anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan berbagai konsentrasi paclobutrazol (a) 0 mg/l sebagai kontrol, (b) 1 mg/l, (c) 3 mg/l, dan (d) 5 mg/l setelah tiga bulan.

Hal lain yang ditemui pada perlakuan paclobutrazol pada anggrek *Grammatophyllum* sampai periode tiga bulan adalah penampilan batang yang sangat tegar dan kuat serta warna daun menjadi lebih hijau (Gambar 1). Hal ini memperkuat hasil penelitian Syahid (2007) pada temulawak dan Mattjik *et al.* (1994) pada jahe. Lebih lanjut Mattjik *et al.* (1994) menyatakan bahwa perlakuan dengan penambahan paclobutrazol ke dalam tanaman mampu mereduksi pertumbuhan, perubahan ketegaran batang dan daun, warna batang dan daun yang terlihat lebih hijau. Kondisi ini disebabkan oleh

fisiologis senyawa ini yang mampu mempertegar dan mempertebal batang. Warna daun yang lebih hijau kemungkinan disebabkan meningkatnya kandungan klorofil pada daun, karena menurut Zheng *et al.* (2012) dan Tianqi *et al.* (2008) perlakuan paclobutrazol meningkatkan kandungan klorofil a dan b dan menghambat pengurangannya seperti yang secara alami terjadi selama periode pertumbuhan vegetatif. Peningkatan kandungan klorofil b pada tanaman yang diberi perlakuan paclobutrazol bisa mencapai 536.98% lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanaman kontrol. Tetapi setelah tiga bulan, ketika asupan nutrisi maupun

paclobutrazol pada medium mulai berkurang, daun menjadi berwarna hijau kekuningan.

*Plantlet* yang mendapat perlakuan paclobutrazol ternyata memerlukan waktu yang cukup lama untuk dapat kembali tumbuh normal setelah ditanam pada medium pertumbuhan. *Plantlet* anggrek *Grammatophyllum* memerlukan waktu kurang lebih satu bulan untuk dapat kembali tumbuh normal. Hal ini disebabkan karena paclobutrazol yang sudah terserap oleh *plantlet* masih menghambat pertumbuhan meskipun *plantlet* sudah dipindahkan ke medium pertumbuhan. Lambatnya pertumbuhan kembali juga dilaporkan pada temulawak yang dapat beregenerasi setelah enam minggu (Syahid 2007). Selain itu *plantlet* juga memerlukan waktu untuk dapat menyerap zat penginduksi pertumbuhan yang terdapat dalam medium pertumbuhan. Waktu pemulihan yang cukup lama harus menjadi pertimbangan ketika *plantlet* akan digunakan. Perlu dilakukan perencanaan yang baik sehingga produksi *plantlet* tidak mengalami hambatan tetapi proses subkultur dapat lebih efisien.

*Plantlet* yang tumbuh terus memerlukan masukan nutrisi terus-menerus sehingga perlu adanya tindakan subkultur secara rutin minimal satu bulan sekali. Adanya hambatan pertumbuhan pada *plantlet* anggrek *Grammatophyllum* yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol mengurangi frekuensi subkultur. Periode subkultur dapat dikurangi menjadi tiga bulan sekali. Hal ini menguntungkan karena periode subkultur yang rutin menimbulkan resiko terkontaminasinya tanaman yang dapat mengurangi populasi bahkan memusnahkan tanaman koleksi di laboratorium dan juga periode subkultur yang terus-menerus dapat menurunkan daya regenerasi tunas (Lauzer *et al.* 1992). Berkurangnya frekuensi subkultur juga akan mengurangi biaya pemeliharaan *plantlet* karena berkurangnya kebutuhan medium yang harus disediakan. Subkultur yang dilakukan lebih dari tiga bulan pada penelitian menyebabkan menurunnya kualitas *plantlet*. Penurunan kualitas *plantlet* juga dilaporkan oleh Wulandari dan Ermayanti (2010) pada nilam yang ditanam pada medium dengan penambahan paclobutrazol 4 mg/l selama empat bulan.

Aklimatisasi belum dilakukan pada *plantlet* hasil perlakuan, sehingga pertumbuhan setelah aklimatisasi *plantlet* di rumah kaca belum dapat dilihat. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dapat menganalisis pertumbuhan *plantlet* pada saat aklimatisasi maupun sesudahnya, karena proses konservasi tidak akan berarti jika *plantlet* yang dihasilkan tidak dapat tumbuh dengan baik setelah keluar dari laboratorium.

## Penutup

Perlakuan paclobutrazol 1 mg/l pada *plantlet Grammatophyllum* dapat menurunkan panjang tunas hingga 33,3% bila dibandingkan dengan kontrol. pada konsentrasi paclobutrazol 5 mg/l jumlah daun juga mereduksi hingga 29% bila dibandingkan dengan kontrol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa paclobutrazol dapat digunakan dalam konservasi jangka pendek pada *plantlet Grammatophyllum* pada konsentrasi 1-5 mg/l. Pertumbuhan normal kembali terjadi setelah *plantlet* ditanam pada medium pertumbuhan selama satu bulan.

## Daftar Pustaka

- Abdul JC, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Sankari S, & Panneerselvam R. 2007. Paclobutrazol enhances photosynthesis and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. *Process Biochem.* 42(11):1566-1570.
- Anonim. 1999. Jenis-jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi. *Lampiran Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1999 Tanggal 27 Januari 1999.*
- Bañón S, Fernandez JA, Ochoa & MJ Sánchez-Blanco. 2005. Paclobutrazol as an aid to reduce some effects of salt stress in oleander seedlings. *Europ. J. Hort. Sci.* 70, 43-49.
- Berova M, & Zlatev Z. 2000. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) *Plant Growth Regul.* 30(2):117-123.
- Habibah NA & Sumadi. 2012. *Pertumbuhan tunas kentang pada medium in vitro dengan penambahan paclobutrazol.* Makalah Seminar Nasional Biologi. Universitas Negeri Semarang. Tanggal 30 Oktober 2012
- Ibrahim MSD. 2005. Pengaruh pemberian paclobutrazol terhadap pertumbuhan bangle (*Zingiber*

- purpureum*) dalam penyimpanan *in vitro*. *Buletin Tanaman Rempah dan Obat* 16(2): 49-55.
- Kepenek K, & Karoğlu Z. 2011. The effects of paclobutrazol and daminozide on *in vitro* micropropagation of some apple (*Malus domestica*) cultivars and M9-rootstock. *Afr J Biotechnol.* 10(24): 4851-4859.
- Križan B, Ondrušiková E, Trková K, & Benediková D. 2007. Effects of paclobutrazol and indole-3-butyric acid on *in vitro* rooting and growth of some rootstocks of the genus *Prunus* L. *Eur J Hort Sci* 72(5):198-201.
- Lauzer DG, Laublin, Vincent G, & Cappadocia M. 1992. *In vitro* propagation and cytology of wild Yams. *Dioscorea abyssinia* Hoch and *D. mangelotiana* Miede. *PCTOC* 28(2):215-223.
- Mattjik NA, Prasetyo E, & Wiroatmodjo J. 1994. *Penggunaan retardan pada media kultur in vitro Zingiber officinale* Rosc. untuk memperoleh ketegaran plantlet. Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi, LIPI. Tanggal 6-7 September 1994
- Nurhasanah E & Wiendi NMA. 2010. *Perbanyakan anggrek Grammatophyllum scriptum melalui proliferasi tunas adventif secara in vitro*. Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Nowello V, Grimaudo I, & Robers AV. 1992. Effects of paclobutrazol and reduced humidity on stomatal conductance of micropropagated grapevines. *Acta Hort.* 319: 65-70
- Sabran M, Krismawati A, Galingging YR, & Firmansyah MA. 2003. Eksplorasi dan karakterisasi tanaman anggrek di Kalimantan Tengah. *Buletin Plasma Nutfah* 9(1):1-6.
- Syahid SF. 2007. Pengaruh retardan paclobutrazol terhadap pertumbuhan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) selama konservasi *in vitro*. *J Littri* 13(3):93-97.
- Tianqi Z, Rongqi L, & Yuzhong W. 2008. Effect of paclobutrazol on test-tube *plantlet* growth and on micro-tuber production of *Zantedeschia rehmannii* *in vitro*. *J Beijing Agric Vocation Coll.* 2008-02. On line www.cnki.com (23 September 2012)
- Wulandari DR & Ermayanti TM. 2010. Konservasi *in vitro* nilam (*Pogostemon cablin*, Benth.) dengan perlakuan paclobutrazol. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus.* 4A: 71-76.
- Yelnititis & Bermawie N. 2001. Konservasi tanaman lada (*Piper nigrum* L.) secara *in vitro*. *J Littri* 7(3): 88-92.
- Zheng R, Wu Y, & Xia Y. 2012. Chlorocholine chloride and paclobutrazol treatments promote carbohydrate accumulation in bulbs of *Lilium* Oriental hybrids 'Sorbonne'. *J Zhejiang Univ Sci B.* 13(2):136-144.