

REGENERASI *IN VITRO* PLANLET JAHE BEBAS PENYAKIT LAYU BAKTERI PADA BEBERAPA TARAF KONSENTRASI 6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) DAN 1-NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA)

IN VITRO REGENERATION OF BACTERIAL WILT-FREE GINGER PLANTLETS IN A MEDIUM SUPPLEMENTED WITH 6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) AND 1-NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA)

Marlin

Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu
marlin_iin@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of this experiment was to determine the optimum concentration of 6- *benzyl amino purine* (BAP) and 1-*naphthalene acetic acid* (NAA) for *in vitro* regeneration of diseases-free plantlets of ginger. Meristem part of ginger rhizome selected from infected area was used as plant material. The explant was cut into 0.5 cm³ and, then, cultured in an MS basal medium supplemented with combination of treatments. The experiment was arranged in Completed Randomized Design with factorial arrangement of the treatments. The first factor was BAP concentrations (0,1,2,3,4 and 5 ppm of BAP), and the second factor was NAA concentrations (0,1,2,3,4 and 5 ppm of NAA). The experiment was done in 18 sterilization methods and planting techniques to regenerate disease-free plantlets. The results showed that supplements of BAP and NAA affected *in vitro* plantlet regeneration of ginger. Additional BAP and NAA on the basal media improved percentage of root, shoot and plantlet formation about 83.33- 100%. The highest number of shoot was obtained on 4 ppm of BAP and 3 ppm of NAA, while the highest number of root was obtained on media with addition 3.58 ppm of BAP and 5 ppm of NAA. Supplementing the medium with 3-4 ppm of BAP and 3 ppm of NAA was the best combination for regenerating plantlets of ginger. Microscopic test of micro-rhizome cell showed that there was only 2% of sample infected by *P. solanacearum*. This result indicated that *in vitro* technique could be used as an alternative method to produce a disease-free rhizome of ginger.

Keywords : Ginger, diseases-free plantlet, *Benzyl Amino Purine* (BAP), 1-*Naphthalene Acetic Acid* (NAA)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi optimum 6-*benzyl amino purine* (BAP) and 1-*naphthalene acetic acid* (NAA) untuk meregenerasi planlet jahe yang bebas penyakit layu bakteri secara *in vitro*. Eksplan yang digunakan adalah bagian meristem dari rimpang jahe gajah yang ditanam pada lahan yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas solanacearum*. Eksplan dipotong dengan ukuran 0.5 cm³ dan dikulturkan pada media dasar MS dengan berbagai kombinasi perlakuan. Penelitian disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah pemberian BAP dengan 6 taraf konsentrasi (0,1,2,3,4 dan 5 ppm BAP), dan faktor kedua adalah pemberian NAA dengan 6 taraf konsentrasi (0,1,2,3,4 dan 5 ppm NAA). Penelitian dilakukan dengan 18 cara sterilisasi dan penanaman untuk meregenerasi planlet yang bebas dari kontaminasi *P. solanacearum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian BAP dan NAA mempengaruhi regenerasi plantlet jahe gajah secara *in vitro*. Persentase pembentukan tunas, akar, dan plantlet mencapai 83.33 – 100%. Jumlah tunas terbanyak diperoleh pada media dengan penambahan 4 ppm BAP dan 3 ppm NAA. Sedangkan jumlah akar terbanyak diperoleh pada media dengan penambahan 3.58 ppm BAP dan 5 ppm NAA. Pemberian 3-4 ppm BAP dan 3 ppm NAA merupakan kombinasi perlakuan yang terbaik untuk meregenerasi plantlet jahe secara *in vitro*. Hasil pengujian terhadap cairan sel rimpang menunjukkan bahwa terdapat hanya 2% sampel rimpang yang masih terinfeksi *P. Solanacearum*. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan teknik *in vitro* dalam perbanyak rimpang mikro jahe dapat menghasilkan rimpang yang bebas patogen (*diseases-free rhizome*).

Kata kunci : jahe, penyakit layu bakteri, *Benzyl Amino Purine* (BAP), 1-*Naphthalene Acetic Acid* (NAA)

PENDAHULUAN

Tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan jenis temu-temuan yang potensial dalam mendukung peningkatan ekspor non migas, sumber bahan baku industri dan obat. Umumnya jahe diperbanyak dengan menggunakan potongan rimpang yang membutuhkan waktu yang lama (10-12 bulan) dan bahan tanam yang banyak, serta menyebabkan tanaman mudah terinfeksi penyakit, seperti penyakit layu bakteri (*bacterial wilt*) yang disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* (Hartman *et al.*, 1993 ; Weiss, 1997).

Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah dalam budidaya jahe tersebut adalah melalui teknik kultur jaringan atau teknik *in vitro* (Hosoki and Sagawa, 1977; Marlin *et al.*, 2000). Menurut George and Sherrington (1984), keberhasilan perbanyak secara *in vitro* ditentukan oleh keberhasilan pada tahap pemilihan eksplan (seleksi tanaman induk). Penggunaan rimpang jahe yang sehat yang berasal dari pertanaman jahe di lahan terinfeksi merupakan suatu keunggulan dalam perbanyak jahe secara *in vitro*. Beberapa tahapan sterilisasi untuk menghilangkan kontaminasi yang terdapat pada permukaan eksplan (*external contaminant*) maupun yang terdapat dalam jaringan tanaman (*internal contaminant*) perlu dilakukan untuk mendapatkan kultur yang aseptik (George and Sherrington, 1984).

Hasil penelitian terhadap jahe *in vitro* yang telah dilakukan menunjukkan persentase pertumbuhan eksplan yang rendah (Marlin *et al.*, 2000). Untuk meningkatkan daya regenerasi dari eksplan tunas jahe diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh dalam media tanam. Menurut Wareing and Phillips (1981), kebutuhan nutrisi dan zat pengatur tumbuh untuk memacu proses morfogenesis pada kultur *in vitro* akan berbeda untuk setiap jenis tanaman dan eksplan yang digunakan. Van and Trinh (1990) lebih jauh menyatakan bahwa suplai hormon secara eksogen sangat mempengaruhi proses tersebut, sejalan dengan laju metabolismenya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi BAP dan NAA yang optimal untuk meregenerasi planlet jahe gajah yang bebas penyakit layu bakteri secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2002 sampai dengan Agustus 2003. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor perlakuan yaitu pemberian BAP yang terdiri atas 6 taraf (0, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm) dan pemberian NAA yang terdiri atas 6 taraf yaitu (0, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm). Bahan tanaman induk yang digunakan adalah rimpang jahe sehat yang diseleksi di lahan pertanaman jahe yang terinfeksi oleh penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *P. solanacearum*. Rimpang tersebut selanjutnya diinisiasi pembentukan mata tunas. Tunas yang terbentuk selanjutnya digunakan sebagai bahan tanam (eksplan) dengan cara mengambil bagian meristemnya dengan ukuran 0.5 cm³. Sterilisasi eksternal dan sterilisasi internal dilakukan terhadap eksplan untuk menghilangkan kontaminasi di luar dan di dalam jaringan eksplan. Eksplan yang steril selanjutnya ditanam pada botol kultur yang telah berisi 20 mL media Murashige dan Skoog (MS) yang telah disterilisasi dengan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C, tekanan 15 psi, selama 20 menit. pH media ditetapkan 5.8 dengan menggunakan digital pH meter. Selanjutnya botol kultur dipelihara dalam ruang kultur dengan suhu 18 °C dan kelembaban 80%, dan penyinaran 16/8 jam per hari, selama 12 minggu.

Peubah pengamatan yang diamati meliputi persentase planlet (%), saat terbentuk tunas (hst), jumlah tunas (tunas per eksplan), tinggi tunas (cm), saat terbentuk akar (hst), jumlah akar (akar per eksplan), dan panjang akar (cm). Sebelum dianalisis data hasil pengamatan diuji dengan uji normalitas. Data yang normal dianalisis dengan menggunakan analisis keragaman 5% dan dilanjutkan dengan metode *Orthogonal Polynomial*. Sedangkan data yang tidak normal dibahas berdasarkan nilai rata-rata pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi eksplan yang dikulturkan pada awal penelitian menunjukkan persentase pertumbuhan yang sangat rendah (0-30%). Hal ini terjadi karena masih terdapat kontaminasi dari bakteri *P. solanacearum* yang terdapat dalam jaringan eksplan sehingga menghambat pertumbuhan selama periode kultur. Berbagai teknik sterilisasi eksternal dan internal dilakukan untuk mengurangi tingkat kontaminasi eksplan tersebut. Keseluruhan teknik sterilisasi dan penanaman telah dilakukan dengan 18 cara sehingga tercapai 83-100% eksplan yang ditanam dapat tumbuh dan menghasilkan planlet yang bebas dari infeksi bakteri *P. solanacearum*.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat interaksi antara pemberian BAP dan NAA yang memberikan pengaruh yang nyata terhadap saat tumbuh akar, jumlah akar, dan panjang akar, tetapi memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata untuk peubah yang lainnya. Interaksi antara perlakuan BAP dengan NAA terhadap saat tumbuh akar (Tabel 1) menunjukkan saat tumbuh akar tercepat diperoleh pada media dengan perlakuan tanpa BAP (0 ppm) dengan 5 ppm NAA (9.11 hst). Sedangkan pengaruh interaksi antara perlakuan BAP dengan NAA pada jumlah akar menunjukkan bahwa jumlah akar terbanyak yaitu 37.51 akar per eksplan pada konsentrasi optimum 3.58 ppm BAP dan 5 ppm NAA (Tabel 2). Selanjutnya, interaksi antara pemberian BAP dan NAA terhadap panjang akar menghasilkan panjang akar terpanjang yaitu 3.25 cm pada media tanpa pemberian BAP dan NAA (Tabel 3).

Pengamatan terhadap pertumbuhan akar ini menunjukkan pentingnya peranan auksin dan juga sitokinin dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan akar jahe *in vitro*. Hal ini sejalan dengan azas keseimbangan auksin dan sitokinin yang dikemukakan oleh George and Sherrington (1984) bahwa pembentukan akar *in vitro* memerlukan auksin tanpa sitokinin atau sitokinin dalam konsentrasi rendah. Krikorian *et al.* (1987)

menyatakan pula bahwa pada saat level auksin relatif tinggi daripada taraf sitokinin, maka morfogenesis jaringan akan lebih mengarah ke pembentukan akar. Semakin cepatnya saat terbentuk akar pada media yang ditambahkan NAA menunjukkan bahwa auksin berperan mengaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam pembuatan komponen sel sehingga begitu mulai terjadinya pembelahan sel maka NAA akan merangsang pembentukan sel-sel dengan cepat (Wattimena, 1987). Hal ini sesuai dengan penelitian Simatupang (1996) pada tanaman asparagus penambahan NAA pada media MS dapat mempercepat tumbuhnya akar eksplan.

Hasil penelitian menunjukkan pula bahwa eksplan yang dikulturkan pada media tanpa penambahan BAP dan NAA memperlihatkan pertumbuhan (pemanjangan) akar yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasi perlakuan yang lain (Tabel 3). Hal ini membuktikan bahwa sel akar umumnya mengandung cukup atau hampir cukup auksin untuk memanjang secara normal (Salisbury and Ross, 1992). Hasil ini diperkuat oleh hasil penelitian Ammirato (1986) bahwa beberapa sel tanaman dapat tumbuh dan berkembang dan selanjutnya beregenerasi menjadi tanaman baru dalam media tanpa hormon tumbuh. Dengan demikian, tanpa suplai auksin dan sitokinin secara eksogen, akar tanaman akan tetap tumbuh dan memanjang.

Adanya penambahan sitokinin (BAP) ke dalam medium dapat menghambat pemanjangan dan perkembangan akar. Halperin (1978) menyatakan bahwa adanya suplai sitokinin dalam media tanam menyebabkan akar tidak berkembang. Hal tersebut juga didukung oleh hasil penelitian Marlin (1998) terhadap bawang putih bahwa semakin tinggi konsentrasi BA dan NAA yang ditambahkan dalam medium kultur menyebabkan akar tanaman semakin pendek dan ukurannya tebal. Selanjutnya pemberian BAP dan NAA pada taraf 1 ppm menyebabkan akar-akar cenderung tidak berkembang baik, pendek dan tebal (Marlin *et al.*, 2000)

Tabel 1. Pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan NAA terhadap saat terbentuk akar jahe *in vitro* (10 minggu kultur)

Konsentrasi BAP (ppm)	Model	R ²
0	$Y = 12.25 + 5.4417X - 0.875X^2$	0.40
1	$Y = 11.881 + 1.0143 X$	0.18
2	$Y = 12.246 + 1.1905 X$	0.41
3	$Y = 20.042 - 8.3173 X + 1.8244 X^2$	0.52
4	$Y = 12.917 + 1.2036 X - 0.2798 X^2$	0.04
5	$Y = 9.111 + 1.4667 X$	0.29

Tabel 2. Pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan NAA terhadap jumlah akar jahe *in vitro* (10 minggu kultur)

Konsentrasi BAP (ppm)	Model	R ²
0	$Y = 16.833 + 4.8333 X$	0.04
1	$Y = 12.802 + 4.5238 X$	0.78
2	$Y = 7.619 + 14.643 X - 2.1429 X^2$	0.66
3	$Y = 3.7143 + 23.093 X - 4.6548 X^2$	0.59
4	$Y = 12.04 + 1.7286 X$	0.12
5	$Y = 7.375 + 16.992 - 2.3661 X^2$	0.54

Tabel 3. Pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan NAA terhadap panjang akar jahe *in vitro* (10 minggu kultur)

Konsentrasi BAP (ppm)	Model	R ²
0	$Y = 3.2546 - 0.7735 X + 0.1148 X^2$	0.85
1	$Y = 2.3575 - 0.1938 X + 0.0293 X^2$	0.52
2	$Y = 1.6969 + 0.2992 X - 0.0529 X^2$	0.41
3	$Y = 2.2721 - 0.091 X$	0.41
4	$Y = 1.0554 + 0.274 X - 0.0453 X^2$	0.81
5	$Y = 2.0758 - 0.0352 X$	0.18

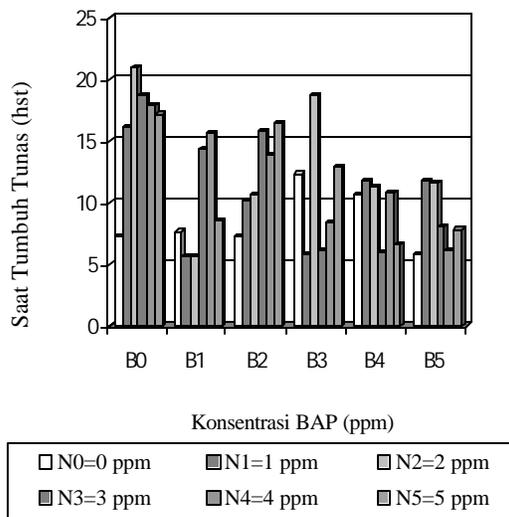
Media dengan pemberian 1 ppm BAP dengan 1 dan 2 ppm NAA didapat saat tumbuh tunas tercepat yaitu 5.67 hst (Gambar 1). Sedangkan jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada pemberian 4 ppm BAP dan 3 ppm NAA (6.50 tunas per eksplan) (Gambar 2). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa peningkatan pemberian taraf konsentrasi sitokinin (BAP) ke dalam media kultur akan mempercepat pertumbuhan tunas. Pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat. Tingginya persentase pembentukan tunas pada konsentrasi BAP yang rendah dimungkinkan karena secara fisiologis kandungan BAP endogen dari eksplan tunas jahe ini sudah mencukupi untuk pembentukan tunas. Sehingga pada perlakuan tanpa BAP atau BAP

dalam konsentrasi yang rendah, eksplan tetap mampu membentuk tunas.

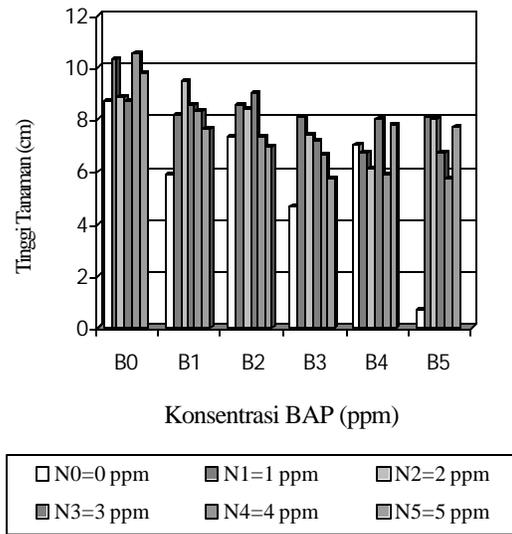
Namun demikian, peningkatan taraf konsentrasi BAP dan NAA tidak diikuti oleh peningkatan tinggi tunas. Pengamatan terhadap tinggi tunas menunjukkan bahwa tinggi tunas tertinggi diperoleh pada media tanpa pemberian BAP (0 ppm) dan 4 ppm NAA yaitu 10.50 cm (Gambar 3). Eksplan yang dikulturkan pada media tanpa pemberian BAP (0 ppm) atau BAP dengan konsentrasi yang lebih rendah menghasilkan tunas dengan ukuran yang lebih tinggi. Dalam kondisi tersebut kebutuhan sel akan sitokinin untuk pemanjangan sel telah terpenuhi. Hal senada juga diungkapkan oleh Salisbury and Ross (1992) bahwa batang yang sedang memanjang tidak memerlukan sitokinin eksogen

karena kandungan sitokinin dalam jaringan sudah mencukupi untuk pemanjangan batang tersebut. Selain itu pada konsentrasi BAP yang terlalu tinggi, kemungkinan eksplan lebih mengarah ke multiplikasi tunas dibandingkan untuk pertumbuhan tunas.

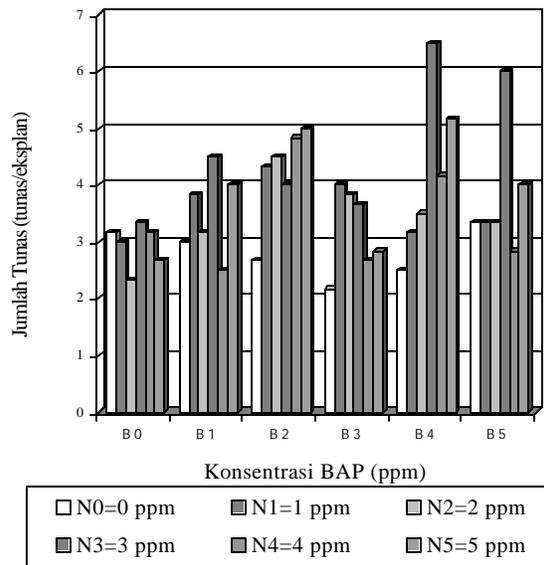
Selanjutnya pengamatan terhadap persentase pembentukan planlet menunjukkan bahwa pemberian BAP dan NAA menghasilkan persentase pembentuk planlet mencapai 83.33–100 % (Gambar 4). Hasil ini menunjukkan kemampuan eksplan untuk tumbuh dan berkembang dalam media kultur. Eksplan yang digunakan merupakan jaringan meristematik yang terdiri dari sel-sel yang sedang aktif membelah. Dengan adanya pemberian sitokinin dan auksin, dalam bentuk BAP dan NAA ke dalam media menyebabkan diferensiasi sel ke arah pembentukan organ dan jaringan menjadi lebih terarah. Ini membuktikan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari ZPT yang ada dalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media.



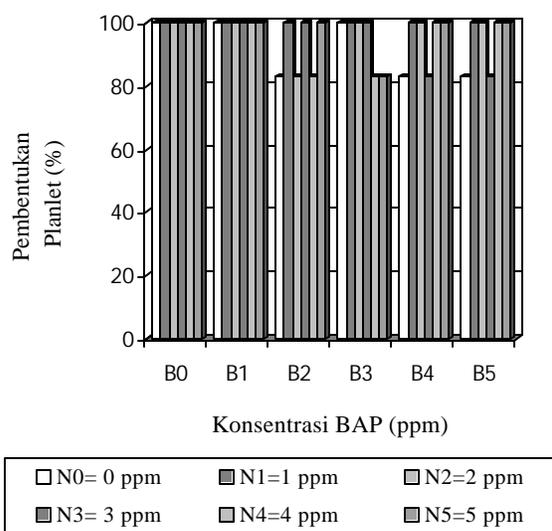
Gambar 1. Pengaruh pemberian BAP dan NAA terhadap saat tumbuh tunas jahe *in vitro* (10 minggu kultur)



Gambar 2. Pengaruh pemberian BAP dan NAA terhadap tinggi tunas jahe *in vitro* (10 minggu kultur)



Gambar 3. Pengaruh pemberian BAP dan NAA terhadap jumlah akar jahe *in vitro* (10 minggu kultur)



Gambar 4. Pengaruh pemberian BAP dan NAA terhadap persentase pembentukan planlet jahe *in vitro* (10 minggu kultur)

Pengujian terhadap rimpang mikro jahe yang dihasilkan dengan teknik *in vitro* dilakukan untuk mengetahui bahwa rimpang yang dihasilkan bebas dari penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *P. solanacearum*. Pengujian dilakukan dengan cara mengisolasi cairan sel dengan teknik pengenceran pada media PGA (*pepton glucose agar*). Pemeriksaan mikroskopis terhadap cairan sel rimpang dengan pewarnaan gram. Hasil pengujian menunjukkan bahwa produksi rimpang mikro dengan teknik *in vitro* dapat menurunkan persentase infeksi bakteri *P. Solanacearum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya 2% dari sampel terinfeksi *P. Solanacearum*. Hal ini menunjukkan bahwa dengan menghasilkan rimpang mikro jahe dengan teknik kultur *in vitro* mampu menekan infeksi bakteri *P. Solanacearum* hingga 98%. Padahal, hasil penelitian Zulparmaidi (1993) menunjukkan bahwa jahe putih besar (jahe gajah) tergolong sangat rentan terhadap serangan bakteri *P. Solanacearum* (infeksi 78-100%). Hal ini membuktikan bahwa penggunaan teknik *in vitro* dalam perbanyakan rimpang mikro jahe dapat menghasilkan rimpang yang bebas patogen (*diseases-free rhizome*). Dengan kata lain, pembentukan rimpang mikro secara *in vitro*

akan dapat mengatasi penyediaan bibit jahe yang berkualitas.

KESIMPULAN

Pemberian BAP dan NAA dalam media kultur mempengaruhi regenerasi planlet jahe *in vitro*. Persentase pembentukan planlet dari rimpang yang diseleksi dari lahan yang terinfeksi mencapai 83.33% - 100%. Jumlah tunas tertinggi (6.5 tunas per eksplan) diperoleh pada media dengan penambahan BAP 4 ppm dan NAA 3 ppm. Sedangkan jumlah akar tertinggi (37.59 akar per eksplan) diperoleh pada media dengan penambahan BAP 3.58 ppm dan NAA 5 ppm. Pemberian BAP 3-4 ppm dan NAA 3 ppm merupakan kombinasi terbaik untuk meregenerasi planlet jahe gajah secara *in vitro*. Hasil pengujian terhadap cairan sel rimpang menunjukkan bahwa terdapat hanya 2% sampel rimpang yang masih terinfeksi *P. Solanacearum*. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan teknik *in vitro* dalam perbanyakan rimpang mikro jahe dapat menghasilkan rimpang yang bebas patogen (*diseases-free rhizome*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini melalui Proyek Hibah Bersaing XI/1 Tahun 2003.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammirato, P.V. 1986. Control and expression of morphogenesis in culture. p.23-40. *in*: Withers, L.A and P.G. Alderson (eds). Plant tissue culture and its agricultural application, Butterworths University Press, Cambridge.
- George, E.F and P.D Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetis. Ltd, England.

- Halperin, W. 1978. Alternative morphogenic events in cells suspensions. *Am. J.Bot.* 53: 443-453
- Hartman, G.L., W.F Fong, Hanudin, and A.C. Hayward. 1993. Potential of biological and chemical control of bacterial wilt. *In* : Hartman G.L. and A.C. Hayward (Eds.) *Bacterial Wilt. ACIAR Proceedings No. 45* : 322-326.
- Hosoki, T and Y. Sagawa. 1977. Clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) through tissue culture. *HortScience.* 12(5):451-452.
- Krikorian, A.D., K.Kelly, and D.L Smith. 1987. Hormones in tissue culture and micropropagation. p.593-613. *in* P.J.Davies (ed). *Plant hormone and their role in plant growth and development.* Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Marlin. 1998. High Multiplication of Plant Regeneration of Garlic (*Allium sativum* L.) *in vitro*. *J.Akta Agrosia* 2(2):57-60.
- Marlin, Alnopri dan A. Rohim. 2000. Proliferasi tunas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) *in vitro* dengan pemberian sukrosa dan agar powder. *J.Akta Agrosia* 4(2) : 45-47.
- Salisbury, F.B. and C.W, Ross. 1992. *Plant Physiology.* 4th edition. Wadsworth Publ. *Diterjemahkan* oleh Lukman, D.R dan Sumaryono. 1995. *Fisiologi Tumbuhan.* Jilid 3. ITB, Bandung.
- Simatupang, S. 1996. Pengaruh penambahan sitokinin dan asam naphthalene acetic acid pada media Murashige and Skoog terhadap perkembangan eksplan asparagus. *J.Hort* 6(2) : 105-108.
- Van, T.T.K and T.H. Trinh. 1990. Organic Differentiation. *In*; S.S. Bhojwani (*ed.*). *Plant Tissue Culture: Applications and Limitations.* Elsevier Science Publ, Netherlands.
- Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. 1981. *Growth and differentiation in Plants.* Pergamon Press 3rd Ed.
- Wattimena, G.A. 1987. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman.* PAU. Bioteknologi. IPB, Bogor.
- Weiss, E.A. 1997. *Essential Oil Crops.* Cab International, New York.
- Zulparmaid. 1993. Karakteristik dan patogenesis beberapa isolate bakteri *P. solanacearum*, penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman jahe. Skripsi Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu. (Tidak dipublikasikan)