

PERTUMBUHAN KULTUR TUNAS TAKA PADA MEDIA MS YANG MENGANDUNG SITOKININ DAN MANITOL UNTUK KONSERVASI *IN VITRO*

Betalini Widhi Hapsari*, Andri Fadillah Martin dan Tri Muji Ermayanti

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI

Cibinong Science Center (CSC)

Jl. Raya Bogor KM. 46 Cibinong Bogor 16911

*E-mail: betalini_widhi@yahoo.com

Diterima: 07/11/2017

Direvisi: 18/12/2017

Disetujui: 28/12/2017

ABSTRAK

Tanaman taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) merupakan jenis tanaman yang tumbuh terbatas di beberapa daerah pantai di Indonesia. Tanaman ini merupakan tanaman minor sehingga perlu dikonservasi. Umbi taka berpotensi sebagai sumber karbohidrat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan kultur tunas taka pada media yang mengandung sitokinin BAP atau kinetin yang dikombinasikan dengan manitol untuk konservasi secara *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong Science Center pada bulan Juni 2016 sampai Maret 2017. Setelah dikonservasi selama 24 minggu, planlet diaklimatisasi. Tunas taka ditumbuhkan selama 24 minggu pada media MS yang mengandung 0, 0.5 ppm BAP dan 0.5 ppm kinetin dikombinasikan dengan manitol 0%, 2%, 4%, dan 6%. Kultur diinkubasi pada ruang bersuhu 25 °C. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan, data dianalisis dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Variabel pengamatan yang diamati setiap minggu selama 24 minggu adalah tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar serta daya hidup setelah aklimatisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Media MS tanpa sitokinin dan tanpa manitol (kontrol) dan media MS yang mengandung 0.5 ppm kinetin tanpa manitol menunjukkan pertumbuhan terbaik pada semua variabel pengamatan. Taka yang berasal dari media MS tanpa manitol, MS + 2% manitol, MS + 0.5 ppm BAP tanpa manitol, MS + 0.5 ppm BAP + 2% manitol, MS + 0.5 ppm kinetin tanpa manitol, dan MS + 0.5 ppm kinetin + 2% dan 4% manitol mampu tumbuh di rumah kaca.

Kata kunci: *Tacca leontopetaloides*, *in vitro*, manitol, sitokinin BAP, kinetin, konservasi.

TAKA SHOOT CULTURE GROWTH ON MS MEDIUM CONTAINING CYTOKINES AND MANNITOL FOR *IN VITRO* CONSERVATION

ABSTRACT

Tacca leontopetaloides (L.) Kuntze has limited growth only in some coastal area in Indonesia so that conservation of this minor plant is needed. Tuber of *Tacca* is useful for carbohydrate source. The aim of this research was to investigate growth of *Tacca* shoots cultured on the medium containing cytokines BAP or kinetin in combination with mannitol for *in vitro* conservation. The research was conducted at the Plant Cell and Tissue Culture Laboratory, Research Center of Biotechnology LIPI, Cibinong Science Center on July 2016 until March 2017. After being cultured for 24 weeks, plantlets were

acclimatized. Shoots of Tacca were cultured for 24 weeks on MS medium containing 0, 0.5 ppm BAP and 0.5 ppm kinetin in combination with mannitol at 0%, 2%, 4%, and 6%. All cultures were incubated in a culture room at 25 °C. The experiment used Completely Random Design with 3 replicates. Data were analyzed by ANOVA followed by Duncan Multiple Range Test (DMRT). Growth parameters recorded from 1 to 24 weeks were height of shoots, number of leaves, number of roots as well as survival rate after acclimatization. The results showed MS medium without cytokines or mannitol (control treatment) and MS containing 0.5 ppm kinetin without mannitol gave the best growth. Tacca grown on MS medium without mannitol, MS containing 2% mannitol, MS containing 0.5 ppm BAP without mannitol, MS containing 0.5 ppm BAP in combination with 2% mannitol, MS containing 0.5 ppm kinetin without mannitol, and MS containing 0.5 ppm kinetin in combination with 2% and 4% mannitol grew in the greenhouse.

Keywords: *Tacca leontopetaloides*, *in vitro*, mannitol, cytokines, BAP, kinetin, conservation.

PENDAHULUAN

Tanaman taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) merupakan jenis tanaman yang tumbuh terbatas di beberapa daerah pantai di Indonesia, diantaranya kepulauan Karimunjawa, Yogyakarta, Garut, dan Sukabumi (Martin *et al.*, 2012). Tidak banyak yang mengetahui manfaat dan kegunaan tanaman taka karena tanaman ini merupakan tanaman minor sehingga perlu dikonservasi. Potensi terbesar pemanfaatan umbi taka adalah sebagai sumber karbohidrat karena kadar patinya yang tinggi (Kunle *et al.*, 2003; Manek *et al.*, 2005). Karena manfaatnya tersebut, tanaman ini berpotensi besar menjadi sumber pangan alternatif di daerah kepulauan terutama saat laut sedang pasang.

Tanaman taka agak sulit dibudidayakan karena sifat dorman umbi yang dimilikinya yang menyebabkan tanaman taka tidak selalu tersedia sepanjang waktu, sehingga untuk perbanyakannya diperlukan teknik khusus untuk menyediakan sumber bahan tanam (bibitnya). Secara alami taka berkembangbiak melalui biji dan umbi. Kultur jaringan menjadi salah satu solusi perbanyak tanaman secara vegetatif yang dapat menjamin ketersediaan bibit, selain itu, kultur jaringan

juga dapat digunakan sebagai salah satu teknik konservasi tanaman. Strategi konservasi *in vitro* dapat diterapkan untuk penyimpanan plasma nutfah dalam jangka pendek, menengah dan panjang dalam kondisi aseptik di laboratorium (Keller *et al.*, 2006).

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan untuk memperoleh hasil yang optimal dalam penyimpanan *in vitro*, yaitu meminimumkan pertumbuhan kultur sehingga interval waktu subkultur lebih panjang, memelihara agar viabilitas tunas yang disimpan tidak menurun dan mencegah terjadinya variasi somaklonal (Lestari dan Mariska, 2001 dalam Noorohmah *et al.*, 2015).

Perbanyakan taka secara *in vitro* mulai dilakukan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI pada tahun 2012. Perbanyakan tunas pada tanaman taka secara optimal dapat dilakukan dengan menggunakan media MS (Murashige dan Skoog, 1962) dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) kelompok sitokinin, yaitu 6-benzil amino purin (BAP) atau kinetin dengan konsentrasi 0.5 mg.L⁻¹ (Martin *et al.*, 2012). Pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi

perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut dapat meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk dan morfogenesis pucuk (George dan Sherrington, 1984).

Pada konservasi *in vitro*, salah satu teknik yang dapat digunakan adalah teknik pertumbuhan minimal. Laju metabolisme tanaman *in vitro* dapat dihambat dengan dua cara, pertama dengan memodifikasi komponen media melalui penggunaan regulator osmotik (osmoregulator) dan zat penghambat tumbuh (retardan), penurunan konsentrasi garam-garam makro, peningkatan atau penurunan konsentrasi sukrosa, dan kedua dengan memodifikasi lingkungan tumbuh melalui penyimpanan pada suhu rendah serta pengurangan intensitas cahaya (Keller *et al.*, 2006).

Teknik pertumbuhan lambat ini sudah dicobakan pada beberapa tanaman umbi-umbian seperti pada ubi kayu, ubi jalar dan talas (Sunarlim *et al.*, 2002; Noorrohmah *et al.*, 2015), sedangkan penggunaan osmoregulator berupa manitol untuk pertumbuhan minimal secara *in vitro* sudah digunakan diantaranya pada tanaman temu putri dengan konsentrasi manitol 0 – 4% (Lestari dan Supriyati, 2001) dan talas dengan konsentrasi manitol 0 – 6% (Dewi *et al.*, 2012; Noorrohmah *et al.*, 2015).

Penyimpanan dengan menggunakan osmoregulator khususnya manitol belum dikerjakan pada tanaman taka yang juga merupakan tanaman umbi-umbian, oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan kultur tunas taka pada media yang mengandung sitokinin BAP atau kinetin yang dikombinasikan dengan manitol untuk konservasi secara *in vitro*.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong

Science Center sejak bulan Juni 2016 sampai dengan bulan Maret 2017.

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berupa bonggol yang berasal dari stok kultur tunas taka koleksi dari Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Puslit Bioteknologi LIPI yang dipelihara pada media MS (Murashige dan Skoog, 1962). Kultur tunas diinisiasi dari biji tanaman taka asal Sukabumi yang dikecambahkan secara *in vitro*.

Media yang digunakan adalah media dasar MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh, media MS dengan penambahan 0.5 ppm BAP, dan media MS dengan penambahan 0.5 ppm kinetin dikombinasikan dengan penambahan sukrosa 3% (kontrol), manitol 2%; 4% dan 6%. Media dipadatkan dengan agar (*Caisson*) sebanyak 8 g.L⁻¹. Sebelum disterilisasi, pH media diatur menjadi 5.8. Media kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

Parameter pertumbuhan yang diukur adalah tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar. Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap. Setiap perlakuan mempunyai 3 ulangan dan setiap botol terdiri atas tiga tunas tunggal. Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan pencahayaan penuh pada intensitas 800 – 1300 lux pada suhu 25 – 26 °C. Pengamatan parameter tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar dilakukan setiap minggu selama 24 minggu.

Tunas taka hasil perlakuan sitokinin dan manitol dipindahkan dari ruang kultur ke rumah kaca selama 2 minggu untuk *hardening*, setelah itu tunas dikeluarkan dari botol kultur, dibersihkan dari media agar, diberi perangsang akar dan selanjutnya ditanam di dalam pot plastik berisi media tanam berupa campuran tanah, kompos, pasir, *cocopeat* dan sekam bakar yang sudah disterilkan dengan cara dikukus selama 4 jam. Tunas aklimatisasi

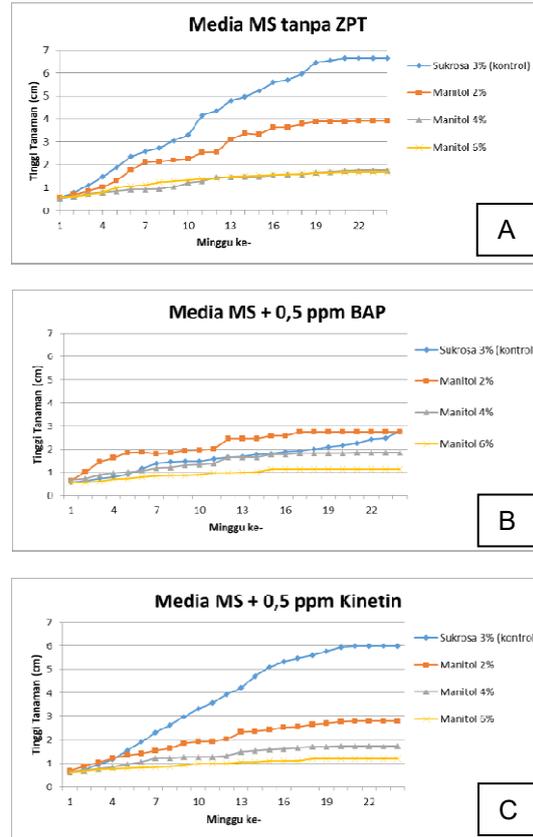
dipelihara di dalam pot aklimatisasi, ditutup dengan plastik bening dan diletakkan di rak aklimatisasi dalam rumah kaca. Hasil aklimatisasi diamati persentase keberhasilan hidupnya pada minggu ke-4.

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA). Kemudian dilanjutkan dengan *posthoc test Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* yang dilakukan dengan bantuan software IBM SPSS ver. 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Manitol yang ditambahkan pada media MS tanpa penambahan sitokinin memperlambat tinggi tunas taka (Gambar 1A). Pola pertumbuhan tinggi tunas taka sampai dengan minggu kedua masih relatif sama, namun setelah itu tinggi tunas taka yang ditumbuhkan pada media MS0 (MS tanpa penambahan ZPT yang mengandung sukrosa 30 g.L⁻¹) paling cepat dibandingkan dengan tunas yang dikulturkan pada media dengan penambahan manitol. Tinggi tunas bertambah dengan cepat hingga minggu ke-19 selanjutnya tinggi tunas relatif stabil.

Semakin tinggi konsentrasi manitol yang ditambahkan pada media MS menghambat tinggi tunas taka. Penambahan manitol konsentrasi rendah yaitu 2% masih mendukung tinggi tunas hingga minggu ke-16, setelah itu tinggi tunas relatif stabil hingga minggu ke-24. Penambahan manitol 4 dan 6% sangat menghambat tinggi tunas taka. Kedua konsentrasi manitol ini menghasilkan pertumbuhan tinggi yang mirip dari awal penanaman hingga akhir pengamatan minggu ke-24. Pola pertumbuhan tinggi tunas pada kedua media ini paling lambat.



Gambar 1. Tinggi tanaman *Tacca leontopetaloides* pada media MS yang mengandung 0 (A); 0.5 ppm BAP (B); dan 0.5 ppm kinetin (C) dikombinasikan dengan 0, 2, 4, dan 6% manitol pada umur 1 – 24 MST.

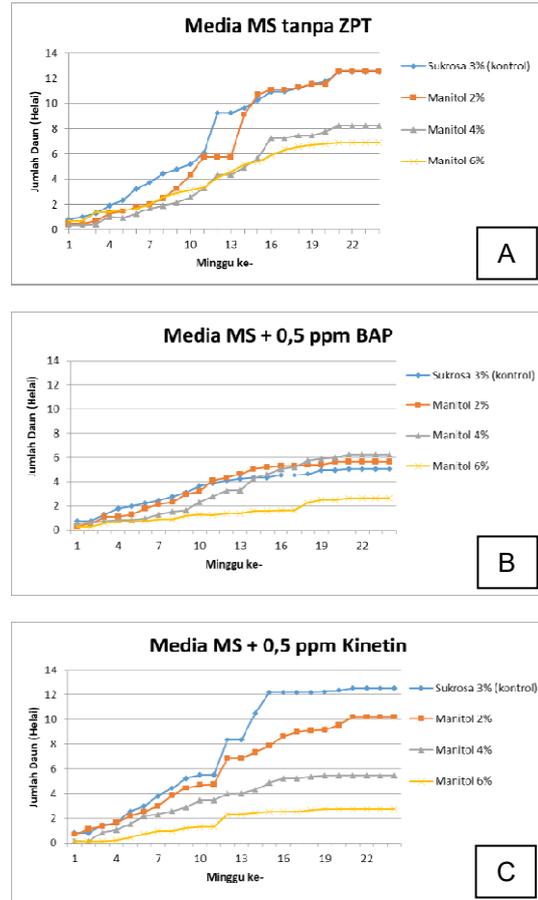
Hasil penelitian penghambatan oleh osmoregulator manitol ini juga menunjukkan hal yang sama dengan beberapa penelitian lainnya. Joshi dan Jadhav (2013) melaporkan bahwa penggunaan manitol pada konsentrasi 2 dan 4% menurunkan tinggi planlet *Spilanthes acmella* secara signifikan. Charoensub dan Phansiri (2004) juga melaporkan hasil yang serupa pada tanaman *Plumbago indica* yang menunjukkan penurunan tinggi planlet dengan penambahan manitol 2% - 6%.

Penambahan BAP pada media MS baik secara terpisah maupun dikombinasikan dengan manitol 2-6% menghambat tinggi tunas taka mulai minggu ke-1 hingga minggu ke-24 (Gambar 1B) dibandingkan

dengan pertumbuhan tinggi tunas taka pada media MS0 maupun MS + 2% manitol tanpa BAP (Gambar 1A). Pola pertumbuhan tinggi tunas taka pada media MS + 0.5 ppm BAP + 2% manitol lebih tinggi dibandingkan pada media lainnya, namun pada minggu ke-24 tinggi tunas serupa dengan media MS + 0.5 ppm BAP tanpa menambahkan manitol. Pola pertumbuhan tinggi tunas taka pada media MS + 0.5 ppm BAP + 4% manitol lebih lambat dan pola pertumbuhan tinggi tunas terendah diperoleh pada media MS + 0.5 ppm BAP + 6% manitol (Gambar 1B). Pada media MS yang mengandung kinetin, pola pertumbuhan tinggi tunas taka berbeda-beda. Penambahan manitol juga menghambat pertumbuhan tinggi tunas taka mulai minggu ke-2 (Gambar 1C). Semakin tinggi konsentrasi manitol semakin menghambat pertumbuhan tinggi tunas.

Pola penghambatan pertumbuhan jumlah daun dari minggu ke-1 hingga ke-24 berbeda-beda sesuai dengan perlakuan media (Gambar 2). Pada media MS0 dan MS + 2% manitol memberikan pola pertumbuhan yang berbeda sampai dengan minggu ke-12, selanjutnya sama hingga minggu ke-24. Pada kedua media ini tidak terdapat penghambatan pertumbuhan jumlah daun (Gambar 2A).

Sitokinin BAP menghambat pertumbuhan jumlah daun taka yang memberikan pola pertumbuhan serupa dengan tunas yang ditumbuhkan pada media MS + 0.5 ppm BAP + 2 dan 4% manitol. Peningkatan konsentrasi manitol menjadi 6% memberikan pola penghambatan pertumbuhan jumlah daun yang paling rendah (Gambar 2B).



Gambar 2. Jumlah daun *Tacca leontopetaloides* pada media MS yang mengandung 0 (A); 0.5 ppm BAP (B); dan 0.5 ppm kinetin (C) dikombinasikan dengan 0, 2, 4, dan 6% manitol pada umur 1 – 24 MST.

Kinetin yang ditambahkan pada media MS tanpa penambahan manitol menghasilkan pola pertumbuhan jumlah daun paling tinggi mulai dari minggu ke-7. Pola pertumbuhan menjadi stabil mulai minggu ke-14 hingga minggu ke-24 (Gambar 2C). Penambahan manitol memberikan pola penghambatan pertumbuhan jumlah daun. Semakin tinggi konsentrasi manitol, penghambatan jumlah daun semakin tinggi yang dimulai dari awal penanaman tunas.

Pengamatan pertumbuhan pada minggu ke-24 terhadap tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar taka menunjukkan bahwa penambahan manitol dapat menghambat

pertumbuhan tunas taka (Tabel 1). Analisis statistik menunjukkan bahwa variabel tinggi tanaman menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada media MS tanpa penambahan sitokinin dan media MS dengan penambahan 0.5 ppm kinetin terhadap penambahan konsentrasi manitol, sedangkan pada media MS tanpa penambahan sitokinin dan media MS dengan penambahan 0.5 ppm BAP, jumlah daun tidak berbeda nyata. Pengaruh penghambatan pada media yang mengandung 4 dan 6% manitol juga berbeda nyata terhadap pertumbuhan akar

pada media MS tanpa penambahan sitokinin dan media MS yang mengandung 0.5 ppm kinetin. Pada media MS tanpa penambahan sitokinin maupun dengan penambahan sitokinin BAP dan kinetin, secara umum respon pertumbuhan tunas taka terendah diperoleh pada media yang mengandung 4% dan 6% manitol. Kedua perlakuan tersebut berbeda nyata dengan media tanpa manitol atau dengan penambahan 2% manitol. Semakin tinggi konsentrasi manitol semakin tinggi pula penghambatan pertumbuhan.

Tabel 1. Tinggi tanaman, jumlah daun, dan jumlah akar *Tacca leontopetaloides* pada media MS yang mengandung 0, 0.5 ppm BAP, dan 0.5 ppm kinetin dikombinasikan dengan 0, 2, 4, dan 6% manitol pada umur 24 MST.

Kombinasi Perlakuan		Tinggi	Jumlah Daun	Jumlah Akar
Media	Osmoregulator	Tanaman (cm)	(helai)	(helai)
Media MS tanpa penambahan sitokinin	Gula 30 g/l	6.67 ± 0.63 ^a	12.50 ± 2.69 ^a	10.83 ± 2.03 ^a
	Manitol 2%	3.91 ± 0.40 ^b	12.56 ± 1.74 ^a	10.00 ± 2.54 ^a
	Manitol 4%	1.74 ± 0.30 ^{cd}	8.22 ± 3.05 ^{abc}	1.89 ± 1.11 ^{bc}
	Manitol 6%	1.69 ± 0.20 ^{cd}	6.89 ± 0.99 ^{abc}	0.89 ± 0.45 ^{bc}
Media MS + 0.5 ppm BAP	Gula 30 g/l	2.76 ± 0.37 ^{bc}	5.11 ± 0.90 ^{bc}	0.11 ± 0.11 ^c
	Manitol 2%	2.64 ± 0.44 ^c	5.67 ± 0.55 ^{bc}	0.00 ± 0.00 ^c
	Manitol 4%	1.84 ± 0.16 ^{cd}	6.22 ± 1.37 ^{bc}	0.00 ± 0.00 ^c
	Manitol 6%	1.16 ± 0.08 ^d	2.67 ± 0.93 ^c	0.00 ± 0.00 ^c
Media MS + 0.5 ppm kinetin	Gula 30 g/l	5.98 ± 0.61 ^a	12.60 ± 1.83 ^a	10.33 ± 1.55 ^a
	Manitol 2%	2.79 ± 0.29 ^{bc}	10.22 ± 1.85 ^{ab}	4.61 ± 1.05 ^b
	Manitol 4%	1.74 ± 0.20 ^{cd}	5.50 ± 1.43 ^{bc}	1.25 ± 0.43 ^{bc}
	Manitol 6%	1.20 ± 0.11 ^d	2.78 ± 0.95 ^c	0.00 ± 0.00 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada $\alpha = 5\%$.

Gambar 3 menunjukkan penghambatan pertumbuhan yang sangat nyata terhadap tunas taka pada minggu ke-24. Semakin tinggi konsentrasi manitol semakin besar pengaruh penghambatan pertumbuhannya. Penambahan manitol 6% memberikan penghambatan pertumbuhan yang sangat

tinggi (Gambar 3D, 3H dan 3L). Penambahan 0.5 ppm BAP (Gambar 3F) dan kinetin (Gambar 3J) yang dikombinasikan dengan 2% manitol memperlambat pertumbuhan secara lebih perlahan dibandingkan dengan tanpa penambahan sitokinin (Gambar 3B).



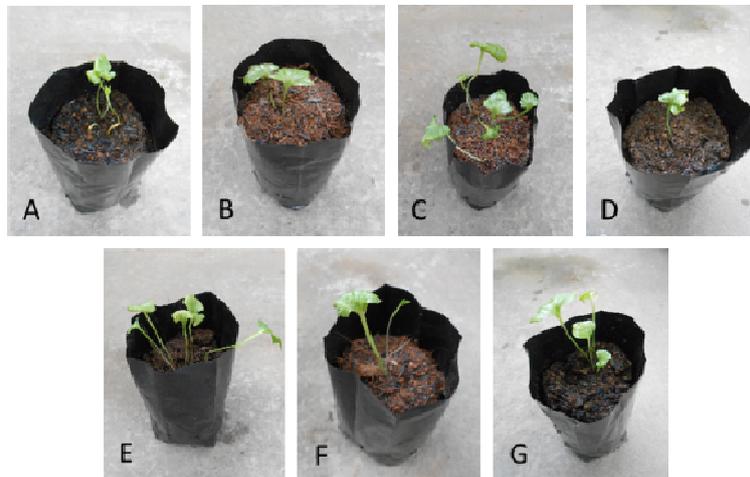
Gambar 3. Penampilan kultur tunas *Tacca leontopetaloides* pada media MS yang mengandung 0, 2, 4, dan 6% manitol (A – D); 0.5 ppm BAP dikombinasikan dengan 0, 2, 4, dan 6% manitol (E – H) dan 0.5 ppm kinetin dikombinasikan dengan 0, 2, 4, dan 6% manitol (I – L) pada umur 24 MST.

Tabel 2 menunjukkan bahwa daya hidup pada saat aklimatisasi tertinggi diperoleh pada media MS tanpa penambahan manitol baik tanpa penambahan sitokinin maupun dengan penambahan 0.5 ppm BAP. Penambahan manitol 2% masih memberikan daya hidup planlet taka cukup baik. Penambahan manitol 4 dan 6% pada media MS0 maupun MS yang

mengandung 0.5 ppm BAP menyebabkan semua planlet tidak mampu tumbuh di rumah kaca. Pada media MS yang mengandung 0.5 ppm kinetin dan 4% manitol masih mampu menghasilkan planlet yang dapat tumbuh di rumah kaca walau dengan persentase rendah (Tabel 2). Beberapa contoh planlet yang tumbuh setelah proses aklimatisasi disajikan pada Gambar 4.

Tabel 2. Persentase hidup *Tacca leontopetaloides* hasil aklimatisasi pada umur 4 MST.

Kombinasi Perlakuan		Persentase Hidup (%)
Media	Osmoregulator	
Media MS tanpa penambahan ZPT	Gula 30 g/l	83.33
	Manitol 2%	50.00
	Manitol 4%	0.00
	Manitol 6%	0.00
Media MS + 0.5 ppm BAP	Gula 30 g/l	100.00
	Manitol 2%	50.00
	Manitol 4%	0.00
	Manitol 6%	0.00
Media MS + 0.5 ppm kinetin	Gula 30 g/l	66.67
	Manitol 2%	83.33
	Manitol 4%	33.33
	Manitol 6%	0.00



Gambar 4. Penampilan *Tacca leontopetaloides* setelah diaklimatisasi (umur 4 MST) pada media MS0 (A), MS+ 2% manitol (B); MS + 0.5 ppm BAP tanpa manitol (C); MS + 0.5 ppm BAP + 2% manitol (D); MS + 0.5 ppm kinetin tanpa manitol (E); media MS + 0.5 ppm kinetin + 2% manitol (F); media MS + 0.5 ppm kinetin + 4% manitol (G).

SIMPULAN

Penambahan manitol memberikan pola penghambatan tunas *Tacca leontopetaloides* yang berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi manitol memberikan pengaruh penghambatan pertumbuhan yang semakin tinggi baik pada media MS tanpa atau dengan penambahan sitokinin BAP maupun kinetin. Penambahan kinetin memberikan pola penghambatan pertumbuhan yang rendah sehingga memberikan daya hidup planlet lebih tinggi di rumah kaca dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Planlet yang dikulturkan pada media dengan penambahan manitol 4 dan 6% tidak berhasil hidup pada tahap aklimatisasi kecuali planlet yang ditanam pada media MS yang mengandung 0.5 ppm kinetin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lutvinda Ismanjani dan Evan Maulana yang telah membantu dalam pembuatan media dan memelihara stok kultur. Penelitian ini didanai oleh DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI tahun anggaran 2015 – 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Charoensub, R. dan S. Phansiri. 2004. *In Vitro Conservation of Rose Coloured Leadwort: Effect of Mannitol on Growth of Plantlets*. Kasetsart J. (Nat. Sci.), Vol. 38: 97 – 102. <http://www.thaiscience.info/ArticleforThaiScience/Article/2/10001243.pdf> (Diakses 9 Oktober 2017)
- Dewi, N., B.S. Purwoko, I. Hanarida, A. Purwito dan I.S. Dewi. 2012. Perbanyakan dan Konservasi *In Vitro* Plasma Nutfah Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *AgroBiogen.*, Vol. 8 (3): 105-112. doi:10.21082/jbio.v8n3.2012.p.105-112.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories*. Exegetics.
- Joshi, V. dan S.K. Jadhav. 2013. *Effect of temperature and media supplements on slow growth conservation of medicinal plant Spilanthes acmella*. *Botanica Serbica*, Vol. 37 (2): 155 – 160.
- Keller, E.R.J., A. Senula, S. Leunufna dan M. Gröbe. 2006. *Slow growth storage and cryopreservation - Tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections*. *International Journal of Refrigeration*. Vol. 29 (3): 411 – 417. doi: 10.1016/j.ijrefrig.2005.07.012.
- Kunle, O.O., Y. E. Ibrahim, M.O. Emeje, S. Shaba dan Y. Kunle. 2003. *Extraction, Physicochemical and Compaction Properties of Tacca Starch – a Potential Pharmaceutical Excipient*. *Starch/Stärke.*, Vol. 55: 319 – 325. doi: 10.1002/star.200390067.
- Lestari, E.G. dan Y. Supriyati. 2001. Penyimpanan Temu Putri (*Curcuma petiolata* Roxb.) melalui Pertumbuhan Minimal. *BioSMART: Journal of Biological Science*, Vol. 3 (1): 24 – 28. <http://biosmart.mipa.uns.ac.id/index.php/biosmart/article/view/75> (Diakses 9 Oktober 2017).
- Manek, R.V., O.O. Kunle, M.O. Emeje, P. Builders, G.V.R. Rao, G.P. Lopez dan W.M. Kolling. 2005. *Physical, Thermal and Sorption Profile of Starch Obtained from Tacca leontopetaloides*. *Starch/Stärke*, Vol. 57: 55 – 61. doi: 10.1002/star.200400341.
- Martin, A.F., T.M. Ermayanti, B.W. Hapsari dan D.E. Rantau. 2012. *Rapid Micropropagation of Tacca leontopetaloides (L.) Kuntze*. The 5th Indonesia Biotechnology Conference. Hal: 240 – 251.
- Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. *A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture*. *Physiologia Plantarum*. Vol. 15: 473 – 497.
- Noorrohmah, S., A. Wulansari, A. Fadillah dan M. Ermayanti. 2015. *Preservasi Tiga Kultivar Talas (Colocasia esculenta (L.) Schott secara In Vitro dengan Perlakuan Asam Absisat pada Suhu Rendah dan Suhu Ruang*. Seminar Nasional Bioteknologi III Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Hal: 326 – 350.
- Sunarlim, N., N. Dewi dan I.R. Tambunan. 2002. *Penyimpanan Plasma Nutfah Ubi Jalar, Ubi Kayu, dan Talas secara In Vitro dengan Pertumbuhan Minimal*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balitbiogen. Hal: 244 – 255.