

Pertumbuhan Tunas *Tacca leontopetaloides* L. Hasil Mikropropagasi Setelah Pemberian Radiasi Sinar Gamma Co₆₀ dan Hormon Tumbuh yang Berbeda

Darnia Astari Parastiti¹, Endang Kusdiyantini¹, Endah Dwi Hastuti¹, Betalini Hapsari² dan Tri Muji Ermayanti²

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Jalan Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275.

² Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), *Cibinong Science Centre*, Jalan Raya Bogor Km.46, Cibinong, Bogor 16911

ABSTRAK

Tumbuhan Taka (*Tacca leontopetaloides* L.) merupakan salah satu tumbuhan family Dioscoreaceae yang mengandung senyawa glikosida flavonoid bernama taccalin dan taccalonoides yang berpotensi sebagai antioksidan. Taka (*Tacca leontopetaloides* L.) secara spesifik belum dibudidayakan, hanya tumbuh terbatas didaerah sekitar pantai, sehingga dibutuhkan sistem perbanyakan tanaman secara vegetatif yang lebih cepat dengan hasil yang lebih banyak dengan sistem kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan tunas *Tacca leontopetaloides* L. hasil mikropropagasi setelah pemberian radiasi sinar Gamma Co₆₀ dan hormon tumbuh yang berbeda. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan 4 perlakuan dosis radiasi sinar Gamma Co₆₀ yaitu 0 Gy, 5 Gy, 20 Gy dan 30 Gy dan 3 perlakuan hormon tumbuh yaitu MSo, MSo + 0,5BAP, dan MSo + 0,5 Kinetin dengan 3 ulangan. Parameter yang diuji adalah pertumbuhan meliputi tinggi, jumlah daun, jumlah anakan, jumlah akar dan bobot basah taka. Hasil penelitian menunjukkan bahwa radiasi sinar Gamma Co₆₀ dan ZPT sitokinin berpengaruh terhadap tinggi tunas, jumlah anakan, jumlah daun, jumlah akar dan bobot basah taka.

Kata kunci: Taka (*Tacca leontopetaloides* L.), Mikropropagasi, Hormon Tumbuh.

ABSTRACT

Taca (*Tacca leontopetaloides* L.) is one of the plant family Dioscoreaceae that contain compounds glikosida flavonoid called taccalin and taccalonoides who potential as antioxidants. Taka (*Tacca leontopetaloides* L.) specifically has not been cultivated, grown only a limited area around the beach, it is necessary to plant vegetative propagation system faster with more results in tissue culture systems. This study aims to determine the growth and the antioxidant potential shoots *Tacca leontopetaloides* L. mikropropagasi results after administration of Co₆₀ Gamma ray radiation and different growth hormones. Research method uses completely randomized factorial design (RAL) with 4 treatment doses of Gamma radiation Co₆₀ is 0 Gy, 5 Gy, 20 Gy, and 30 Gy and 3 treatment of growth hormone that MSo, MSo + 0,5 BAP and MSo + 0,5 Kinetin with 3 replicates. Shoots taka from results mikropropagasi grown *in vitro* and has been irradiated with Co₆₀ Gamma rays. Parameters tested were growth of shoots, amount of leaves, till, roots and wet weight taka. The results showed that Gamma radiation Co₆₀ and plant regulator cytokinin effect on shoots taka, amount of tillers, leaf, root and wet weight taka.

Keywords: Taka (*Tacca leontopetaloides* L.), Mikropropagation, Growth Hormone.

PENDAHULUAN

Tacca leontopetaloides merupakan salah satu jenis tumbuhan berbunga yang termasuk kedalam keluarga talas-talasan. Umbi takar mengandung air sebanyak 60,59%; kulit 2,5%; pati 30,6%; dan serat 6,3%. Umbi keringnya mengandung protein sebanyak 5,1%; ether 0,2%; karbohidrat 89,4%; selulosa 2,1%; serat 8,8%; abu 3,2%; Kalsium 0,27%; dan fosfor 0,2%. Asam amino utama yang terdapat dalam umbi takar antara lain arginin, asam glutamat, asam aspartat, leusin, lisin dan valin serta senyawa pahit seperti Taccalin, stigmasterol, alkohol cerylic dan steroid sapogenin (Original : Root Crops, 2010).

Tanaman takar secara spesifik belum dibudidayakan karena masih tumbuh terbatas di daerah sekitar pantai sehingga dibutuhkan budidaya pengembangan tanaman takar, yaitu dengan kultur jaringan. Teknik kultur jaringan dengan mikropropagasi bertujuan untuk menghasilkan individu baru yang bersih dari hama dan penyakit dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif singkat, tanpa memerlukan areal yang luas sehingga biaya dapat ditekan. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *Tacca leontopetaloides* yang telah diberi radiasi sinar Gamma. Takar yang diberi perlakuan iradiasi sinar Gamma Co_{60} dan ditumbuhkan dalam kultur *in vitro*

bertujuan untuk mengetahui kemungkinan terjadinya variasi-variasi morfologi dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman yang dihasilkan. Respon tanaman terhadap efek radiasi sinar gamma tergantung pada jenis bahan tanaman yang diradiasi dan laju dosis iradiasi yang digunakan.

Selain penggunaan dosis radiasi, zat pengatur tumbuh (ZPT) juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Ali *et al.*, (2007) menyatakan bahwa konsentrasi hormon pertumbuhan pada medium kultur jaringan sangat berperan dalam morfogenesis. Jenis sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah Benzyl Amino Purine (BAP) dan kinetin, karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah. Penggunaan zat pengatur tumbuh konsentrasi rendah maka akan merangsang dan mempercepat proses pertumbuhan tanaman, dan sebaliknya bila digunakan dalam jumlah besar atau konsentrasi tinggi akan menghambat pertumbuhan bahkan dapat mematikan tanaman. Hal ini dikarenakan interaksi antar hormon dalam suatu media sangat berpengaruh dalam diferensiasi sel.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi

LIPI Cibinong Bogor pada bulan Februari-Mei 2015.

Bahan dan Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (labu Erlenmeyer, botol kultur, gelas ukur, gelas beker, dan cawan petri), pinset dan skapel, neraca analitik, *magnetic stirrer*, pipet mikro, pipet tetes, handsprayer, alat sterilisasi (autoklaf, lampu spiritus), penggaris, *laminar air flow cabinet*, pH meter, bunsen, alat tulis, kamera digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *Tacca leontopetaloides* hasil kultur jaringan yang telah diradiasi sebesar 5 Gy, 20 Gy, 30 Gy, stok media MSo, MSo + 0,5 Kinetin dan MSo + 0,5 BAP, NaOH 1M, HCl 1M, alkohol 70%, etanol 96%, spiritus, korek api, dan tisu.

Cara Kerja

Sterilisasi Bahan dan Alat

Bahan seperti akuades dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil, kemudian disterilisasi didalam autoklaf pada tekanan 1 atm, dengan suhu 121 C selama 15 menit.

Alat-alat yang digunakan pada penanaman harus dalam keadaan steril agar terbebas dari kontaminan. Sterilisasi diawali dengan pencucian semua alat menggunakan detergen dan dicuci dengan air mengalir. Setelah dikeringkan, alat-alat

seperti skapel, pinset, cawan petri dibungkus dengan menggunakan kertas dan disterilisasikan dalam autoklaf dengan suhu 121 C, pada tekanan 1 atm selama \pm 15 menit. Laminar Air Flow (LAF) dapat disterilkan menggunakan alkohol 70% dan lampu UV. Pinset dan skapel disterilkan kembali dengan menggunakan nyala api bunsen setiap kali akan digunakan dalam LAF. Ruang tanam *laminar air flow* (LAF) dan alat-alat yang akan digunakan saat bekerja disemprot dengan alkohol 70%, sinar UV harus dimatikan, dan *blower* dinyalakan 30 menit sebelum mulai bekerja di LAF.

Penanaman dan pengamatan *Tacca leontopetaloides*

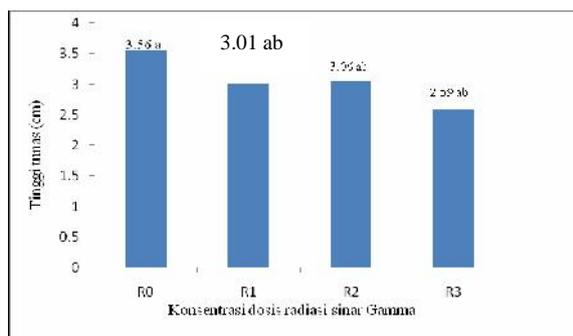
T. leontopetaloides yang digunakan merupakan hasil radiasi sinar Gamma Co₆₀ dengan konsentrasi radiasi 0 Gy, 5 Gy, 20 Gy dan 30 Gy berasal dari kultur stok tanaman taka yang telah tersedia di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman yang telah ditumbuhkan selama 4 bulan dari bulan November – Februari dan kontrol pembanding *T. leontopetaloides* yang ditumbuhkan dalam rumah kaca berasal dari biji dan hasil aklimatisasi. Tahapan penanaman *T. leontopetaloides* dilakukan dalam keadaan aseptik di *Laminar air flow* dipotong sebesar 1 cm dan diambil bagian bonggolnya. Pemotongan dilakukan diatas tisu di dalam petri steril, kemudian eksplan

ditanam dalam media MSo sebagai kontrol, sedangkan media perlakuan adalah MSo + BAP 0,5 mg/l dan MSo + Kinetin 0,5mg/l dengan 3 ulangan. Kultur disimpan didalam ruang kultur dengan cahaya lampu TL 18 watt dan suhu ruangan berkisar 24-25⁰C. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 8 minggu dengan menghitung tinggi tanaman, jumlah anakan, jumlah daun, dan jumlah akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Tunas Taka

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi radiasi sinar Gamma berpengaruh terhadap tinggi tunas Taka ($p < 0.05$), serta tidak ada interaksi antara media pertumbuhan dan konsentrasi radiasi sinar Gamma ($p > 0.05$).



Gambar 4.1. Diagram pertumbuhan tinggi tunas taka pada berbagai dosis radiasi dan hormon tumbuh yang berbeda

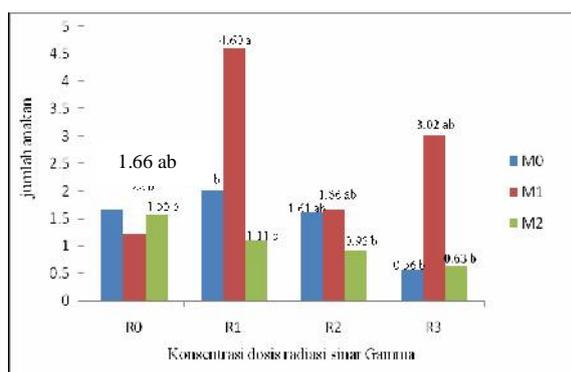
Perlakuan 0 Gy menghasilkan rerata tertinggi tinggi tunas taka yaitu sebesar 3,56 cm (Gambar 4.1), sedangkan

perlakuan 30 Gy menghasilkan rerata terendah yaitu sebesar 3.01 cm. Hasil ini sesuai dengan penelitian Napitupulu (2003) pada manggis dan Ratna *et al.*, (1998) pada kedelai, dimana biji yang mendapat iradiasi sinar Gamma menghasilkan tanaman yang lebih pendek dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan iradiasi). Pemberian dosis radiasi dapat merusak jaringan pada inisial pucuk sehingga menyebabkan terganggunya pembentukan tunas apikal serta terjadi gangguan transportasi auksin pada bagian inisial tunas yang menyebabkan proses dominansi apikal tidak berlangsung dan memacu munculnya tunas axilar. Sedangkan adanya penambahan hormon sitokinin akan merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein. Menurut Caserett (1968) dalam Hana (2002), Penggunaan dosis radiasi rendah dapat menyebabkan proses pengaktifan gen yang selanjutnya melakukan proses transkripsi mRNA. mRNA yang disintesis dari DNA telah terpolakan kode susunan asam amino yang akan membentuk protein tertentu melalui proses translasi, serta dapat mensintesis hormon pertumbuhan yang digunakan untuk pertumbuhan tanaman misalnya asam amino triptofan, yang merupakan penyusun hormon pertumbuhan auksin. Menurut Abidin (1985) dan Heddy (1983), auksin pada

tanaman dapat mendorong terjadinya pemanjangan sel melalui pengenduran dinding sel. Kerangka struktur sel yang diregangkan memungkinkan terjadinya absorpsi air dan tersimpannya deposit berupa komponen penyusun organela dan dinding sel yang lebih banyak sehingga terjadi pemanjangan sel. Selanjutnya, sel-sel meristem pada ujung batang dan akar dengan cara cepat mengembang sampai batas tertentu dan membelah diri. Kumpulan sel-sel tersebut akan membentuk jaringan, dan kemudian membentuk organ, sehingga dapat menghasilkan peningkatan tinggi tunas taka. Hal ini menyebabkan tanaman dengan dosis 0 Gy mempunyai tinggi tunas lebih baik bila dibandingkan dengan dosis radiasi 5 Gy, 20 Gy dan 30 Gy.

Jumlah Anakan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa hormon pertumbuhan berpengaruh terhadap jumlah anakan Taka ($p < 0.05$), serta terdapat interaksi antara media pertumbuhan dengan konsentrasi radiasi sinar Gamma ($p < 0.05$).



Gambar 4.2. Diagram pertumbuhan jumlah anakan taka berbagai dosis radiasi dan hormon tumbuh yang berbeda.

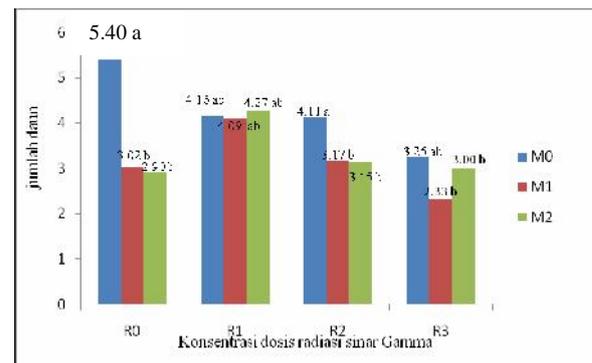
Berdasarkan Gambar 4.2. rerata tertinggi jumlah anakan pada perlakuan R_1M_0 yaitu sebesar 4,6, sedangkan rerata terendah pada perlakuan R_3M_2 yaitu sebesar 0,56. Perlakuan R_1M_1 menghasilkan jumlah anakan yang relatif lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya (Gambar 4.2). Pembentukan dan multiplikasi tunas pada media perlakuan diduga karena konsentrasi sitokinin eksogen yang ditambahkan ke dalam media kultur lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi auksin endogen yang dihasilkan oleh eksplan terlihat pada perlakuan R_1M_1 . Hal ini diperkuat oleh pernyataan Gunawan (1992) bahwa interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Jika dalam media kultur konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan dengan auksin maka akan merangsang pembentukan dan multiplikasi tunas (Hartmann dan Kester, 1959 ; Widiastoety *dkk.*, 1997). Berbeda dengan perlakuan R_2M_1 yang mengalami penurunan jumlah anakan. Penurunan jumlah anakan pada perlakuan R_2M_1 disebabkan rusaknya komponen struktural sel yaitu kromosom, mitokondria,

retikulum endoplasma, akibatnya proses biologis di dalam sel tidak dapat berlangsung secara normal seperti sintesis DNA, sintesis protein, pembentukan energi dan pembelahan sel. Radiasi menyebabkan perubahan kromosom sehingga dapat menghambat jalannya sintesis DNA dengan berkurangnya enzim yang mengatur sintesis DNA, sehingga molekul DNA tidak dapat berfungsi sebagai template dalam proses transkripsi mRNA. Sintesis mRNA yang terhambat akan menyebabkan terhambatnya sintesis protein melalui proses translasi yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penghambatan proses biologis seperti sintesis protein, enzim dan hormon pertumbuhan tidak menyebabkan kematian tanaman tetapi hanya terjadi penurunan pertumbuhan, karena sel-sel yang diradiasi masih dapat bertahan hidup dengan kecepatan laju aktivitas mitosis yang diperlambat untuk membentuk jaringan dan organ tanaman. Hal ini menyebabkan pada perlakuan R_2M_1 mengalami penurunan jumlah anakan.

Jumlah Daun

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa hormon pertumbuhan serta konsentrasi radiasi berpengaruh terhadap jumlah daun Taka ($p < 0.05$), serta terdapat interaksi antara media pertumbuhan dengan konsentrasi radiasi

sinar Gamma ($p < 0.05$). Perlakuan R_0M_1 menghasilkan jumlah daun yang relatif lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, sedangkan R_3M_2 menghasilkan jumlah daun yang paling rendah (Gambar 4.3).



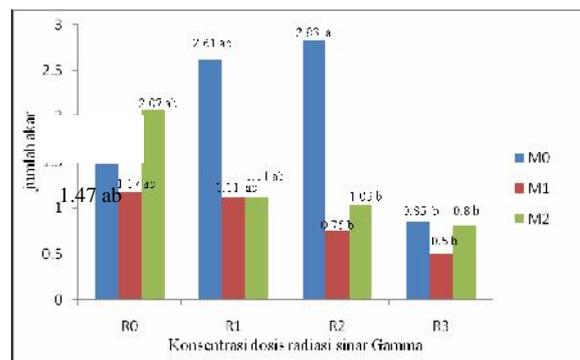
Gambar 4.3. Diagram pertumbuhan jumlah daun taka pada berbagai dosis radiasi dan hormon tumbuh yang berbeda

Gambar 4.3. menunjukkan bahwa pertumbuhan jumlah daun pada setiap perlakuan berbeda-beda. Rata-rata jumlah daun pada akhir pengamatan terbanyak adalah 5,4 helai yang dihasilkan pada perlakuan R_0M_0 , sedangkan rata-rata jumlah daun terendah yaitu sebesar 2,33 helai pada perlakuan R_3M_2 . Pertumbuhan eksplan yang lebih baik pada M_0R_0 mungkin disebabkan oleh kandungan nitrat, kalium dan amoniumnya yang tinggi (Wetter & Constabel, 2007). Menurut Caetano (2008) perbandingan NO_3^-/NH_4^+ yang seimbang (3,5/3,5) menghasilkan luas daun tertinggi, karena mendorong peningkatan sintesis klorofil daun dalam

jaringan tanaman, maka aktivitas fotosintesis semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wetterdan Constabel (1991) bahwa medium MS mempunyai kandungan nitrat, kalium dan ammonium yang layak untuk untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur *in vitro*. Kandungan ini mempengaruhi diferensiasi, pertumbuhan dan perkembangan eksplan atau pembentukan organ pada eksplan serta memperbaiki pertumbuhan vegetatif (Hoesen, 1998). Adanya penambahan hormon sitokinin dengan konsentrasi yang sama pada semua eksplan memberikan respon yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa respon yang dihasilkan tidak hanya tergantung pada konsentrasi ZPT eksogen yang diberikan, namun juga kondisi fisiologis eksplan yang berbeda-beda terkait konsentrasi hormon endogen yang ada didalam eksplan (Onuoch dan Onwubiku, 2007).

Jumlah Akar

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa media dan konsentrasi berpengaruh terhadap jumlah akar Taka ($p < 0.05$), serta terdapat interaksi antara media pertumbuhan dengan konsentrasi radiasi sinar Gamma ($p < 0.05$).



Gambar 4.4. Diagram pertumbuhan jumlah akar taka pada berbagai dosis radiasi dan hormon tumbuh yang berbeda

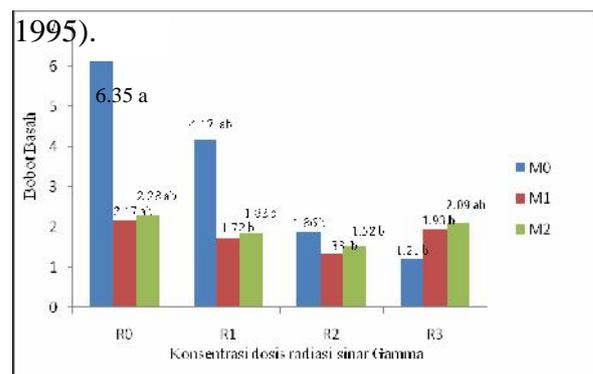
Pertumbuhan jumlah akar taka kontrol dan hasil radiasi sinar Gamma 5 Gy, 20 Gy, dan 30 Gy pada minggu ke- 8 pengamatan menunjukkan jumlah akar tertinggi sebesar 2,83 pada perlakuan R₂M₀, sedangkan jumlah akar terendah sebesar 0,5 pada perlakuan R₃M₁ (Gambar 4.4). Perakaran taka yang lebih berkembang pada media kontrol (M₀) dengan kombinasi radiasi 20 Gy (R₂) menunjukkan rata-rata jumlah akar lebih tinggi dimungkinkan karena sudah terpenuhinya nutrisi dari media budidaya jaringan atau karena hambatan senyawa fenolik dalam menyerap nutrisi lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan dengan penambahan hormon sitokinin. Awal terbentuknya akar dimulai oleh adanya metabolisme cadangan nutrisi yang berupa karbohidrat yang menghasilkan energi yang selanjutnya mendorong pembelahan sel dan membentuk sel-sel baru dalam jaringan (Kastono *dkk*, 2005).

Selain media tumbuh, perlakuan radiasi pada M₁ dan M₂ cenderung menghambat pertumbuhan taka, dalam hal ini radiasi menyebabkan perubahan kromosom yang mengakibatkan perubahan dalam susunan genetik yaitu mengganggu mitosis sel. Perubahan kromosom dapat menghambat jalannya sintesis DNA dengan berkurangnya enzim yang mengatur sintesis DNA, sehingga molekul DNA tidak dapat berfungsi sebagai template dalam proses transkripsi mRNA. Sintesis mRNA yang terhambat akan menyebabkan terhambatnya sintesis protein melalui proses translasi yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penghambatan proses biologis seperti sintesis protein, enzim dan hormon pertumbuhan tidak menyebabkan kematian tanaman tetapi hanya terjadi penurunan pertumbuhan, karena sel-sel yang diradiasi masih dapat bertahan hidup dengan kecepatan laju aktivitas mitosis yang diperlambat untuk membentuk jaringan dan organ tanaman. Hal ini menyebabkan pada perlakuan R₃M₀ mengalami penurunan jumlah akar. Penggunaan dosis radiasi yang optimal hingga 20 Gy memiliki kecenderungan dalam tingkat kerusakan sel relatif rendah bila dibandingkan penggunaan dosis radiasi lebih dari 25 Gy. Hal ini dikarenakan pada dosis hingga 20 Gy masih berpengaruh

terhadap inisiasi perakaran pada tanaman taka.

Bobot Basah

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa media berpengaruh nyata terhadap bobot basah taka ($p < 0.05$), serta adanya interaksi antara konsentrasi radiasi dan hormon tumbuh yang berpengaruh terhadap bobot basah taka ($p < 0.05$). Bobot basah tanaman merupakan berat tanaman pada waktu masih memiliki kandungan air yang ditimbang langsung setelah panen. Bobot basah tanaman dipengaruhi oleh sintesis senyawa organik dan anorganik (asimilat), penambahan organ-organ tanaman secara keseluruhan, serta kandungan air pada sel-sel tanaman yang kadarnya dipengaruhi oleh lingkungan seperti temperatur dan kelembaban udara (Sitompul dan Guridno,



Gambar 4.5. Diagram bobot basah taka pada berbagai dosis radiasi dan hormon tumbuh yang berbeda.

Hasil pengamatan terhadap bobot basah eksplan setelah umur 8 minggu menunjukkan rata-rata bobot basah tertinggi yaitu sebesar 6,35 pada perlakuan R_0M_0 , sedangkan rata-rata bobot basah terendah pada perlakuan R_3M_0 yaitu sebesar 1,21 (Gambar 4.5). Pada perlakuan R_0M_0 menunjukkan peningkatan bobot basah paling tinggi disebabkan adanya pembelahan dan diferensiasi sel-sel meristem pada akar, daun dan batang yang menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran panjang, lebar, maupun volume tanaman sehingga secara keseluruhan berat tanaman bertambah (Lakitan, 2002). Adanya hormon sitokinin juga mempengaruhi pengembangan dinding sel yang menyebabkan ikatan kimia dalam komponen dinding sel menjadi renggang. Renggangnya dinding sel akan diikuti dengan masuknya air yang menyebabkan sel membesar. Selanjutnya akan disintesis bahan-bahan penyusun dinding sel yang baru yaitu selulosa, hemiselulosa, dan pektin yang menambah berat tanaman Krishnamoorthy (1981) dalam Hana (2002). Peningkatan jumlah daun juga meningkatkan kemampuan fotosintesis daun. Selanjutnya unsur hara dan air akan digunakan untuk sintesis senyawa organik dan anorganik oleh daun sebagai organ produsen fotosintat utama yang akan menambah berat basah tanaman.

SIMPULAN

Radiasi sinar Gamma Co_{60} dan Hormon tumbuh sitokinin berpengaruh terhadap tinggi tunas, jumlah anakan, jumlah daun, jumlah akar dan bobot basah taka.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, 1985. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa, Bandung.
- Caetano, M.A.L, Gerardi, M. dan Yoneyama, T.2008. Optimal Resource Management Control for CO₂ Emission and Reduction of Green House Effect. Ecological Modelling. No. 213, hal. 119-126
- Caserett, A.P. 1969. Radiastor Biology. Prentice Inc Englewood cliffs, New Jersey.
- Gardner FP, Pearce RB, and Mitchell RL. 1991. Physiology of Crop Plants. Diterjemahkan oleh H.Susilo. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 252p.
- Harbone, JB. 1989. Metode Fitokimia. Padmawati K, Soediro I, penerjemah. Bandung. Penerbit ITB. Terjemahan dari : *Phytochemical Method*.

- Hartmann, H.T, Kester, D.E and Davies, F.T. 1990. Plant Propagation Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliff. New Jersey
- Hoesen, D.S.H., 1998. Kultur Jaringan Kunir Putih (*Kaempferia rotunda* L). *Berita Biologi*. 4(4): 175-181.
- Kastono, D., Sawitri, H., dan Siswandono. 2005. Pengaruh Nomor Ruas Stek dan Dosis Pupuk Urea Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kumis Kucing. *Jurnal Ilmu Pertanian*. 12(1):56-64
- Krisnamoorthy, H.N. 1981. Plant Growth Substance Including Application In Agriculture., Mc Graw Hill Pub.Co. Ltd., New Delhi.
- Lakitan, B. 2000. Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. PT. Raja Grafinda Persada. Jakarta.
- Onuoch, C. I. and Onwubiku, N. I. C. 2007. Micropropagation of cassava (*Mannihot esculenta* Crantz) using different concentrations of benzylaminopurine (BAP). *Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2 (7):1229-1231.
- Original Root Crops 15. 2010.http://www.appropedia.org/Original:Root_Crops_15.
- Pierik, R.I.M., 1997. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- Sitompul, S. M. dan Guritno. B. 1995. Pertumbuhan Tanaman. UGM Press. Yogyakarta.
- Wetter, L.R. dan Constabel, F. 2007. Metode Kultur Jaringan Tanaman (edisi bahasa Indonesia). Bandung: ITB
- Widiastoety, D., S. Kusumo dan Syafni. 1997. Pengaruh tingkat ketuaan air kelapa dan jenis kelapa terhadap pertumbuhan plantlet anggrek dendrobium. *Jurnal Hortikultura* 7: 768-772.