

# PENGARUH PENURUNAN UNSUR MAKRO DAN PEMBERIAN *ABISIC ACID* TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS TAPAK DARU (*Vinca rosea*) SECARA *IN VITRO*

Natalini Nova Kristina

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

## ABSTRAK

Penelitian pengaruh penurunan unsur makro dan pemberian Absisic Acid (ABA) pada multiplikasi tunas tapak dara (*Vinca rosea* syn. *Catharantus roseus*) telah dipelajari dari bulan April 2003 sampai Maret 2004 di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan Balitro. Metoda yang digunakan adalah pengenceran unsur makro MS,  $\frac{3}{4}$  dan  $\frac{1}{2}$  MS + sukrosa (20 dan 30) g/l + BA 0,1 mg/l dan penambahan zat penghambat ABA (1 dan 2) mg/l. Penelitian disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan tunas relatif sama pada semua konsentrasi MS sampai masa kultur 9 bulan dengan pertumbuhan 90%. Penyimpanan pada semua media perlakuan pengenceran tidak berbeda nyata untuk jumlah tunas. Penambahan ABA 1 dan 2 mg/l menghambat multiplikasi tunas dan juga menyebabkan penampilan tunas mencoklat pada umur penyimpanan 7 bulan dan yang mampu bertahan hidup hanya sekitar 40 - 60%. Dari hasil uji daya regenerasi pada semua perlakuan, daya multiplikasi tunas terbaik diperoleh dari media MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l (kontrol) yakni 8,4 tunas.

**Kata kunci :** *Vinca rosea*, konservasi, *in vitro*, unsur makro, ABA

## ABSTRACT

### Effects of reduced-macro nutrients, and ABA to shoots multiplication of periwinkle (*Vinca rosea*) *in vitro*

*Research regarding effect of reduced-macro nutrients and ABA to shoot multi-*

*plication of periwinkle (Vinca rosea) in vitro has been performed in the Laboratory of Germplasm and Breeding, Indonesian Spice and Medicinal Crops Research Institute, from April 2003 to March 2004. The culture media applied were MS,  $\frac{3}{4}$  and  $\frac{1}{2}$  MS + (20 and 30) g/l sucrose + BA 0,1 mg/l and maintained growth inhibitor ABA (1 and 2) mg/l. The experiment was design as a completely randomized with 10 replicated. Results showed that there was no significant different on the growth of shoots from all of MS medium until culture 9 months with grow up to 90%. Addition ABA 1 and 2 mg/l in media, made browning shoots until 7 months culture periods, and growing ability of 40 - 60%. Result from test of shoots regeneration showed, that MS + BA 0,1 mg/l + sucrose 30 g/l (control) were the best medium for conservation with the highest number of shoots 8,4.*

**Key words :** *Vinca rosea*, *in vitro*, conservation, macro nutrient, ABA

## PENDAHULUAN

Tapak dara (*Vinca rosea* syn. *Catharantus rosea* [L] G. Don) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang digunakan sebagai anti kanker. Tumbuhan ini berasal dari Amerika Tengah dan biasa tumbuh di tempat terbuka atau terlindung pada bermacam-macam iklim. Selain berkhasiat anti kanker, tanaman ini juga digunakan untuk peluruh kencing (diuretic), menurunkan tekanan darah (hipotensif), penenang (sedatif),

menghentikan pendarahan (hemostatis) serta menghilangkan panas dan racun. Akarnya berkhasiat sebagai peluruh haid. Tapak dara dibedakan berdasarkan warna bunga yakni merah muda, putih atau dengan bercak merah di tengah (Dalimartha, 1999).

Komponen anti kanker dari tanaman ini berupa alkaloid vincaluboblastin (Vinblastin = VLB) dan leurocristine (Vinkristin = VCR). Tapak dara putih mengandung vinkristin lebih tinggi (2,3781%) dibandingkan dengan tapak dara merah (1,5346%). Sedangkan kadar vinblastin pada tapak dara merah lebih tinggi (2,1753%) dibandingkan dengan tapak dara putih (1,986%) (Sumarsi dan Hutajulu, 2003).

Dalam upaya pelestarian plasma nutfah tumbuhan obat melalui kultur jaringan dapat dilakukan beberapa pendekatan. Melalui kultur *in vitro* biakan dapat disimpan dalam waktu lama dan dapat digunakan setiap saat. Pada penyimpanan tersebut diperlukan metoda untuk menghambat pertumbuhan jaringan tanaman. Sebagai langkah awal dapat dilakukan upaya perbanyakan tunas tapak dara pada media MS + BA 0,1 mg/l (Bermawie *et al.*, 2003) yang menghasilkan jumlah tunas rata-rata 2,3/bulan. Selanjutnya dilakukan penyimpanan serta uji daya regenerasinya setelah masa penyimpanan.

Penyimpanan dalam rangka konservasi *in vitro* dapat dilakukan dalam beberapa cara, antara lain penyimpanan dalam keadaan tumbuh yaitu pemindahan biakan secara rutin ke dalam media baru, penyimpanan

melalui pertumbuhan minimal diantaranya dengan menurunkan suhu normal (van de Houwe *et al.*, 1995), menggunakan zat penghambat tumbuh (retardan) seperti ABA dan inhibitor seperti ancymidol, cycocel atau paclobutrazol (Wither, 1983), serta penggunaan media dasar dengan pengenceran dari konsentrasi normal dari 1/2 sampai 1/10-nya (Taylor dan Dukie, 1993 *dalam* Syahid dan Bermawie, 2000), dan penyimpanan pada suhu rendah yaitu - 80°C atau dengan nitrogen cair - 196°C.

Pada penyimpanan dalam keadaan tumbuh diperlukan pemindahan rutin agar biakan tetap hidup. Pemindahan yang berulang kali dapat menyebabkan terkontaminasi serta kebutuhan yang lebih banyak di samping peningkatan biaya produksi. Pada penyimpanan dengan pertumbuhan minimal tetap diperlukan pemindahan ke media baru, akan tetapi frekuensi pemindahannya lebih rendah dari pada cara penyimpanan dalam keadaan tumbuh.

Konservasi secara *in vitro* dalam keadaan tumbuh telah dilakukan pada 23 jenis tumbuhan obat, seperti purwoceng, pulepandak, inggu, jahe, kapolaga, daun encok, adas, pegagan dan lain-lain (Bermawie dan Kristina, 2003). Penyimpanan dengan osmotikum ABA seperti pada kultur pulepandak, serta inhibitor paclobutrazol telah digunakan pada pulasari, jahe dan daun dewa (Gati dan Mariska, 1997). Pengenceran media telah dilakukan pada tanaman lili (Bonnier and van Tuyl, 1997) dan jahe

(Syahid dan Bermawie, 2000). Pada tanaman jahe, pengenceran media  $\frac{3}{4}$  MS sampai  $\frac{1}{4}$  MS yang dikombinasikan dengan BA 3 mg/l dan sukrosa 6% mampu menekan pertumbuhan biakan selama periode penyimpanan 20 minggu, dan media terbaik adalah  $\frac{1}{2}$  MS + BA 3 mg/l + sukrosa 6%.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode terbaik konservasi tapak dara secara *in vitro* dengan cara pengenceran media dan penggunaan retardan ABA.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan Balitro dari bulan April 2003 sampai dengan Maret 2004. Bahan tanaman yang digunakan adalah koleksi *in vitro* tapak dara yang telah steril. Tunas steril dipotong-potong menjadi 1 ruas dan selanjutnya dikulturkan pada media perlakuan dengan media dasar Murashige-Skoog (MS) yang mengandung unsur hara makro-mikro, vitamin, zat pengatur tumbuh, zat penghambat dengan penambahan sukrosa 30 g/l atau pengurangan sukrosa menjadi 20 g/l dengan pH media 5,8. Untuk memadatkan media ditambahkan agar-agar 8 g/l. Perlakuan yang diuji adalah :

- MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l
- $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l
- $\frac{1}{2}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l
- MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l
- $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l

- $\frac{1}{2}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l
- MS + ABA 1 mg/l
- MS + ABA 2 mg/l

Masing-masing perlakuan disusun dengan menggunakan RAL dan setiap perlakuan terdiri atas 10 ulangan. Botol-botol kultur disusun pada rak dengan intensitas cahaya 1000 lux selama 16 jam. Pengamatan dilakukan terhadap persentase tunas bertahan hidup (dalam keadaan baik), selang periode waktu penyimpanan, serta penampilan tanaman lainnya seperti jumlah tunas, tinggi tunas dan lain-lain.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan zat penghambat ABA 1 dan 2 mg/l kurang baik digunakan dalam upaya penyimpanan kultur tapak dara, bila dibandingkan dengan pengenceran unsur makro. Memasuki bulan ke tujuh, persentase tunas yang bertahan hidup pada media ABA 1 dan 2 mg/l hanya 40 dan 60%. Sedangkan tunas yang disimpan pada media dengan pengenceran unsur makro 0,  $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  dengan sukrosa 30 g/l maupun 20 g/l dapat bertahan hidup sampai 90 % selama 9 bulan (Tabel 1). Eksplan yang dikulturkan didalam media yang diencerkan unsur makronya, penurunan jumlah eksplan terjadi karena kontaminasi mikroba.

Konsentrasi pengenceran unsur makro ternyata cukup baik untuk periode penyimpanan tunas tapak dara bila dibandingkan dengan perlakuan lain. Pada metode ini tunas masih dapat

tumbuh dengan baik sampai masa penyimpanan 9 bulan dengan persentase eksplan hidup mencapai 90%.

Hal ini berbeda dengan jahe, dimana pada masa penyimpanan 5 bulan pada media tanpa pengenceran (MS penuh) telah mati, walaupun masih hidup kondisi pertumbuhannya telah menguning dan kecoklatan (Syahid dan Bermawie, 2000). Sementara pada tanaman pisang *Musa spp.* penyimpanan dengan penurunan unsur makro sampai  $\frac{1}{4}$ -nya yang dikombinasikan dengan manitol

mampu bertahan hidup sampai 6 bulan (Hoesen, 2000).

Walaupun komponen pertumbuhan pada umumnya cukup baik namun pengenceran  $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  dan MS penuh dengan sukrosa 30 g/l, pada media tumbuh sudah terlihat adanya akumulasi fenol yang ditandai dengan mulai menguningnya pucuk eksplan dan media kultur pada bulan ke-9 (Tabel 1). Menurut Gamborg (1974) dalam Hoesen (2000) bahwa kadar 2-4% sukrosa/gula dalam medium merupakan kisaran konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan dan morfogenesis jaringan.

Tabel 1. Persentase tunas tapak dara yang hidup sampai penyimpanan 9 bulan  
*Table 1. Percentage of shoots periwinkle live until 9 months storage*

No	Media tumbuh <i>Growth medium</i>	Periode simpan (bulan) <i>Storage period</i> (months)	% tunas hidup % of a live shoots	Visualisasi tunas <i>Shoots</i> <i>visualization</i>	
				Tunas segar <i>Fresh</i> <i>shoots</i> (%)	Tunas coklat <i>Browning</i> <i>shoot</i> (%)
1	MS+BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	6	80	60	20
2	MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	9	90	70	20
3	MS + ABA 1 mg/l	7	40	20	20
4	MS + ABA 2 mg/l	7	60	20	40
5	$\frac{3}{4}$ MS+BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	9	90	80	10
6	$\frac{3}{4}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	9	90	80	10
7	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	9	90	60	30
8	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	9	80	60	20

Tabel 2. Rata-rata jumlah, tinggi dan panjang tunas tapak dara pada berbagai media perlakuan

Table 2. Average of number, shoots-height and length of periwinkle on the various media

No	Media	Jumlah tunas	Tinggi tunas	Panjang tunas
No	Media	Number of shoots	Shoot height (cm)	Shoot length (cm)
1	MS + BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	8,44 a	7,22 a	1,1 a
2	MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	5,11 b	1,26 bc	0,67 a
3	MS + ABA 1 mg/l	0,5 c	1,4 c	0,65 a
4	MS + ABA 2 mg/l	0,7 c	1,2 c	0,98 a
5	$\frac{3}{4}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	4,44 b	4,6 abc	0,73 a
6	$\frac{3}{4}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	4,44 b	5,5 ab	0,98 a
7	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	5,11 b	7,16 abc	0,74 a
8	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	5,11 b	4,8 abc	0,7 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% Uji DMRT

Note : Numbers followed by the same letters in same columns, are not significantly different at 5 % level

Selain itu keberadaan sukrosa/gula dalam medium dapat berpengaruh terhadap efektivitas sitokinin endogen pada pembelahan sel jaringan dan dapat mengefektifkan pemanfaatan ion ammonium.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa jumlah tunas dan tinggi tanaman terbaik diperoleh pada media kontrol (MS + BA 0,1) mg/l yakni 8,44 selama masa penyimpanan 6 bulan. Sedangkan pada perlakuan pengenceran unsur makro, jumlah tunas menurun hampir setengah dari kontrol.

Bila dilihat dari penampilan eksplan, maka media yang terbaik untuk penyimpanan adalah  $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l dengan konsentrasi 20 g/l. Pada pemakaian MS penuh dan  $\frac{1}{2}$  MS penampilan tunas lebih pendek, jumlah tunas lebih sedikit, batang kurus dan warna daun hijau muda.

Secara umum perlakuan pengenceran unsur makro MS dapat menekan pertumbuhan biakan tapak dara karena unsur hara yang dibutuhkan oleh biakan jumlahnya berkurang dibandingkan dengan

keadaan normal. Media MS adalah media yang kaya dengan zat-zat organik  $\text{NH}_4^+$  dan  $\text{NO}_3^-$ .

Menurut Gardner *et al.* (1991), nitrogen merupakan bahan penting dalam penyusunan asam amino, amida, nukleotida dan nukleo protein, serta penting untuk pembelahan dan pembesaran sel. Berkurangnya unsur hara yang diserap oleh jaringan tanaman berpengaruh terhadap perkembangan kultur. Nyman *et al.* (1984), menyatakan bahwa tinggi rendahnya konsentrasi bahan-bahan penyusun media dapat mempengaruhi arah dan perkembangan kultur selama periode kultur *in vitro*.

Pada tanaman kapolaga penyimpanan dengan pengenceran yang dikombinasikan dengan manitol (1/2 MS + sukrosa 15 g/l + manitol 15 g/l) adalah yang terbaik dan dapat menghasilkan jumlah tunas 9 dan dapat disimpan sampai 360 hari (Babu *et al.*, 1999). Sementara pada tanaman panili penyimpanan dengan stress media pada  $\frac{3}{4}$  MS + BA 2,5 mg/l dapat bertahan sampai 24 bulan (Seswita *et al.*, 1999).

Penambahan zat penghambat ABA pada semua taraf konsentrasi, menghambat pertumbuhan tunas dan tanaman cenderung lebih banyak yang mati. Kematian tunas cukup tinggi (60%) pada konsentrasi ABA 1 mg/l dan 40% pada konsentrasi ABA 2 mg/l (Tabel 2). Penggunaan ABA baik 1 atau 2 mg/l, kurang baik digunakan untuk penyimpanan tapak dara, selain menimbulkan kematian yang cukup tinggi juga masa periode penyimpanan hanya berkisar 7 bulan. Sedangkan

pada tanaman inggu (*Ruta angustifolia*) penggunaan ABA memperlihatkan gejala daun menguning pada usia penyimpanan 9 bulan tanpa menurunkan daya multiplikasinya (Kristina *et al.*, 1995). Tetapi pada tanaman pule pandak (*Rauwolfia serpentina*) eksplan dapat bertahan hidup sampai 15 bulan dalam penyimpanan *in vitro* tanpa subkultur dan tidak menurunkan daya tumbuhnya bila ditanamkan kembali pada media regenerasi (Gati dan Mariska, 1997).

Terjadinya penguningan dan penurunan daya tumbuh dapat dipahami, karena zat penghambat ABA mempunyai efek terhadap membran plasma sel akar, menghambat sintesa protein dan mengaktifkan serta menonaktifkan gen tertentu secara khas (efek transkripsi). Akibatnya secara tidak langsung ABA menyebabkan penuaan organ lebih cepat dan mendorong naiknya produksi etilen (Salisbury and Ross, 1992).

### Uji daya regenerasi

Uji daya regenerasi dilakukan karena masa penyimpanan tunas tapak dara pada media yang ditambahkan ABA hanya sampai 7 bulan yang diiringi dengan mencoklatnya tunas. Untuk itu tunas tersebut diuji kembali pada media multiplikasi yaitu MS + BA 0,1 mg/l (Tabel 3). Dari hasil uji daya regenerasi kultur, tunas asal media pengenceran dan ABA terhambat daya multiplikasinya. Penghambatan tertinggi terlihat pada media penyimpanan ABA 1 mg/l, hal ini terjadi karena tunas memerlukan waktu untuk pulih kembali akibat kerusakan yang terjadi

pada masa penyimpanan. Dari hasil uji daya regenerasi kultur, tunas asal media pengenceran dan ABA terhambat daya multiplikasinya. Penghambatan tertinggi terlihat pada media penyimpanan ABA 1 mg/l, hal ini terjadi karena tunas memerlukan waktu untuk pulih kembali akibat kerusakan yang terjadi pada masa penyimpanan. Penyimpanan pada media pengenceran  $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l dan  $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20% memberikan daya regenerasi terbaik setelah kontrol dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Namun untuk penghematan biaya maka pada tanaman tapak dara dianjurkan untuk menggunakan media penyimpanan  $\frac{1}{2}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l.

## KESIMPULAN

Penyimpanan tapak dara terbaik dilakukan pada media  $\frac{3}{4}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l dan  $\frac{1}{2}$  MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l. Penggunaan ABA untuk penyimpanan tunas tapak dara tidak dianjurkan, selain karena daya simpan lebih singkat juga menyebabkan tunas menguning dan mati.

## DAFTAR PUSTAKA

Babu, K.N.; S.P. Geetha, D. Minoo, P.N. Ravindran and K. V. Peter, 1999. *In vitro* conservation of cardamon (*Elletaria cardamomum* Maton) germplasm. Plant Genetic

Tabel 3. Respon tunas tapak dara pada media regenerasi MS + BA 0,1 mg/l

Table 3. Respon of shoots to the regeneration medium MS + BA 0,1 mg/l

No No	Asal media penyimpanan <i>Initial conservation culture media</i>	Jumlah tunas <i>Numbers of shoot</i>
1	MS+BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	8,4 a
2	MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	3,54 bc
3	MS + ABA 1 mg/l	2,84 c
4	MS + ABA 2 mg/l	3,04 bc
5	$\frac{3}{4}$ MS+BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	5,4 b
6	$\frac{3}{4}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	5,46 b
7	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 30 g/l	5,12 bc
8	$\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + suk 20 g/l	4,16 bc
	KK/CV	26,98

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% Uji DMRT

Note : Numbers followed by the same letters, are not significantly different at 5% level

- Resources Newsletter. No. 119 : 41-45. IPGRI.
- Bermawie, N.; S.F. Syahid; O. Rostiana; L. Udarno; E. Hadipoentyanti; D. Seswita, S. Wahyuni, Hobir dan Hadad, 2003. Konservasi, Evaluasi dan Dokumentasi Plasma Nutfah Tanaman Rempah dan Obat. Laporan Akhir Tahun Balitro. Badan Litbang Departemen Pertanian. 79 h.
- Bonnier, F.J.M. and J.M. van Tuyl, 1997. Long term *in vitro* storage of lily: Effect of temperature and conservation of nutrient and sucrose. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 49: 81-87.
- Dalimartha, S., 1997. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 1. Trubus Agriwidya. h. 10.
- Gadner, F.P., R.B. Pearce and R.L. Mitchell, 1991. Fisiologi Tumbuhan Budidaya. Univ. Indonesia. Jakarta. 428 p.
- Gati, E. dan I. Mariska, 1997. Kultur *in vitro* sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. *Buletin Plasma Nutfah II* (1): 1-8.
- Herwinia, M., 1993. Pengaruh media padat dan cair serta penambahan kombinasi benzil adenin (BA) dengan adenin sulfat, air kelapa dan arang aktif terhadap organogenesis jaringan tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). Skripsi FMIPA-UNPAD, Bandung. 64 h.
- Hoesen, D.S.H., 2000. Penyimpanan plasma nutfah *Musa spp* kultivar Ambon, Raja dan Tanduk secara *in vitro* dalam medium pertumbuhan minimal. Prosiding Simposium Nasional Pengelolaan Pemuliaan dan Plasma Nutfah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Buku 2. Bogor 22-23 Agustus. Kerjasama PERIPI-Badan Litbang Pertanian-Dirjen Perkebunan dan KNP. hal.333-341.
- Kristina, N.N., D. Seswita dan A. Husni, 1995. Penyimpanan dan regenerasi tanaman obat inggu melalui kultur *in vitro*. Prosiding Evaluasi Hasil Penelitian Tanaman Industri. Puslitbangtri. Bogor. II: 25-33.
- Kristina, N.N dan N. Bermawie, 1999. Pengaruh subkultur dan lama periode kultur pada daya multiplikasi tunas lada (*Piper nigrum* L.) asal biji varietas Petaling 1. *Jurnal Litantri* 5(3):98-102.
- Nyman, L., C.J. Gonzales and J. Arditti, 1984. Salt tolerance tissue of potato :selection and constituents. In symposium of International Potato Centre (CIP), p. 132-142.
- Salisbury, F. B. and C. W. Ross, 1992. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. Hak Cipta Edisi Bahasa Indonesia. Penerbit ITB Bandung. 343 hal.
- Sumarsi dan T.F. Hutajulu, 2003. Isolasi dan analisis vinblastin dan vincristine dari tanaman tapak dara (*Catharanthus* L.) berdasarkan jarak potong tanam. Ed. Agus

- Purwanggana dkk. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII, Jakarta, 25-26 Maret. II. 403-407.
- Syahid, S.F. dan N. Bermawie, 2000. Pengaruh pengenceran media dasar terhadap pertumbuhan kultur jahe dalam penyimpanan secara *in vitro*. Jurnal Litantri V (4):115-118.
- Seswita, D., Amalia dan E. Hadipoentyanti, 2003. Konservasi *in vitro* panili (*Vanilla planifolia* Andrews) melalui pertumbuhan minimal. Buletin Littro. Vol XIV (1): 1-7.
- van deHouwe, I. D. De Smet., H. Tezenas du Monteel and R. Swennen, 1995. Variability in storage potential of banana shoot culture under medium term storage condition. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 42:269-274.
- Withers, L.A., 1983. Germplasm storage. In. S.H. Manthell and H. Smith (Ed.). Plant Biotechnology Cambridge University. Press London. 187-218.