

Pengaruh Beberapa Formulasi Sitokinin Terhadap Penyediaan Bibit dan Pertumbuhan Eksplan Tanaman Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) Secara *In Vitro*

Anita Widya Karyaningtyas¹, Ani Lestari², Edhi Sandra³

^{1,2}Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Singaperbangsa Karawang

³Esha Flora, Bogor, Jawa Barat

email : karyaningtyasa@gmail.com

ABSTRACT

*Propagation of pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz) conventionally shows growth from seeds and stem cuttings of less than 15%. The low growth percentage is due to the seeds have hard coats, so the germination of the seeds is very low. One of the technologies that can be used and provides hope in the supply of seeds in large quantities and in a relatively short time is the in vitro culture technique. The aim of this study was to determine does the several cytokinin formulations administration affected the growth of pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) plant explants. The study was conducted at Esha Flora, Bogor from April 2022 to July 2022. The experiment used a single factor Completely Randomized Design (CRD) consisting of 1 factor using 4 combinations of cytokinins (2-IP, TDZ, BAP and Kinetin) and repeated 10 times so that there are 40 experimental units for 12 weeks. The data obtained were then analyzed using the ANOVA test at a significant level of 5%. The results showed that the S1 treatment (Modified MS Media + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0.1 mg/l + BAP 0.5 mg/l and Kinetin 0.5 mg/l) was the best cytokinin formulation to produce the highest average number of shoots was 8.87 shoots, the highest explant height was 2.49 cm and the fastest average of somatic embryogenesis emergence time was 23.3 DAP. Somatic embryo phase in treatment S1, S2 and S3 experienced globular, heart and torpedo phases.*

Keywords: Cytokinine, Somatic Embryogenesis, Tissue Culture, Rauvolfia serpentina (L.) Benth. Ex Kurz

ABSTRAK

*Perbanyakkan pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz) secara konvensional menunjukkan pertumbuhan biji dan stek batang kurang dari 15%. Persentase tumbuh yang rendah disebabkan karena biji memiliki tempurung yang keras, sehingga daya kecambah biji sangat rendah. Salah satu teknologi yang bisa digunakan dan memberikan harapan dalam penyediaan bibit dalam jumlah besar dan waktu relatif singkat adalah teknik kultur in vitro. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian beberapa formulasi sitokinin terhadap pertumbuhan eksplan tanaman pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz). Penelitian dilakukan di Esha Flora, Bogor dari bulan April 2022 sampai pada bulan Juli 2022. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yang terdiri dari 1 faktor dengan menggunakan 4 kombinasi sitokinin (2-IP, TDZ, BAP dan Kinetin) dan diulang sebanyak 10 kali sehingga terdapat 40 satuan unit percobaan selama 12 minggu. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji ANOVA pada taraf signifikan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan S1 (Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0.1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0.5 mg/l) merupakan formulasi sitokinin terbaik untuk menghasilkan rerata jumlah tunas terbanyak yaitu 8.87 buah, rerata tinggi eksplan tertinggi yaitu 2.49 cm dan rerata waktu muncul embrio somatik tercepat yaitu 23.3 HSK. Fase embrio somatik pada perlakuan S1, S2 dan S3 mengalami fase globular, hati dan torpedo.*

Kata Kunci: Sitokinin, Embriogenesis Somatik, Kultur Jaringan, Rauvolfia serpentina (L.)Benth. Ex Kurz

PENDAHULUAN

Indonesia diprediksi memiliki lebih dari 9.606 jenis tumbuhan obat yang tersebar di berbagai jenis hutan, salah satunya adalah pule pandak, Pule pandak adalah tumbuhan obat Indonesia yang sangat terkenal akan khasiatnya dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit terutama hipertensi (Khisbah, 2003). Pule pandak dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang digunakan untuk pengobatan sesak nafas, nyeri perut, murus, sakit kepala dan gigitan ular. Pule pandak juga dapat digunakan sebagai obat penurun panas, penurun tekanan darah tinggi, disentri, kolera, kehilangan selera makan, radang usus dan lain – lain (Hyne, 1987 dalam Sugito, 2006).

Data menunjukkan bahwa diperkirakan penggunaan simplisia pule pandak dalam negeri pada tahun 2000 sebesar 6.898 kg dengan pertambahan sebesar 25,89% per tahun (Yahya *et al.*, 2001 dalam Sulandjari, 2008). Pule pandak dinyatakan langka karena pengambilannya secara langsung di alam yaitu dibawah naungan jati. Kunwar (2019), mengemukakan pule pandak termasuk ke dalam daftar tanaman yang terancam punah oleh *International Union of Conservation of Nature* (IUCN) dan masuk ke dalam CITES (*the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) Appendix II yaitu daftar spesies yang tidak terancam kepunahan, tetapi mungkin akan terancam punah jika terus diperdagangkan secara terus-menerus. Faktor lain penyebab terjadinya kelangkaan pule pandak yaitu karena bagian yang dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah akar, sehingga tanaman ini sulit diperbanyak secara konvensional dan penyebarannya terbatas. Sudiarto *et al.* (1985) dalam Yunita dan Lestari(2011), mengemukakan jika perbanyak pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) secara konvensional menunjukkan pertumbuhan biji dan stek batang kurang dari 15%. Persentase tumbuh yang rendah disebabkan karena biji memiliki tempurung yang keras, sehingga daya kecambah biji sangat rendah. Hal tersebut menyebabkan perbanyak tanaman pule pandak melalui

biji tidak optimal. Untuk mengimbangi laju permintaan simplisia pule pandak dan menyelamatkannya dari kepunahan, perlu dilakukannya konservasi maupun budidaya. Untuk itu perlu adanya produksi bibit secara massal. Salah satu teknologi yang bisa digunakan dan memberikan harapan dalam penyediaan bibit dalam jumlah besar dan waktu relatif singkat adalah teknik kultur *in vitro* (Yunita dan Lestari,2011).

Kultur *in vitro* adalah teknik menumbuhkan bagian-bagian tumbuhan seperti protoplas, sel, jaringan ataupun organ dalam suatu medium yang sesuai dibawah kondisi aseptik (Prasetyorini, 2019). Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah zat pengatur tumbuh (ZPT). Menurut Lestari (2011), zat pengatur tumbuh memainkan peran penting dalam mengendalikan proses biologis jaringan tanaman. Hapsoro dan Yusnita (2018) dalam Alfiana (2020), mengemukakan zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik non-hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta berperan penting dalam meningkatkan metabolisme eksplan.

Salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu kelompok sitokinin. Kelompok sitokinin yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah 2-IP (2-Isopentenyl adenine), TDZ (*Thidiazuron*), BAP (6-benzylaminopurine) dan Kinetin (6-furfurylaminopurine). Secara umum, sitokinin berfungsi untuk pembelahan sel, pembesaran sel, menghambat penuaan bunga dan buah, dan deferensiasi akar dan tunas (Heddy, 1996 dalam Budi, 2020). Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini diarahkan untuk mengkaji pengaruh beberapa formulasi sitokinin terhadap penyediaan bibit dan pertumbuhan eksplan tanaman pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Esha Flora yang terletak di Jl. Kemuning VI Jalan Raya Taman Cimanggu Blok M6 No.9 RT.02/RW.10, Kedung Waringin, Kecamatan Tanah Sareal, Kota Bogor, Provinsi Jawa Barat 16164 dengan Letak koordinat 6°33'40''S dan 106°46'40''E. Waktu pelaksanaan penelitian ini akan dilakukan selama 3 bulan dimulai pada bulan April 2022 sampai pada bulan Juli 2022.

Bahan dan Alat

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain eksplan yang berasal dari planlet tanaman *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, aquades steril, spirtus, betadine, alkohol 70%, gula, agar-agar, NaOH 4%, HCl 10%, 2-IP(2-Isopentenyl adenine), TDZ (*Thidiazuron*), BAP (6-benzylaminopurine), Kinetin (6-furfurylaminopurine) dan Giberelin (GA3) dengan konsentrasi yang telah ditentukan untuk membantu pertumbuhan eksplan tanaman pule pandak dan untuk membuat media MS (*Murashige and Skoog*) dibutuhkan bahan-bahan yaitu larutan stok A sampai F, vitamin B complex, vitamin E, myo inositol, glisin, pepton, dan kasein hidrolisat dengan konsentrasi yang telah ditentukan.

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, rak kultur, *Autoclave*, kompor, panci, timbangan analitik, gelas ukur (1000 ml, 500 ml, 100 ml), botol kultur, *sprayer*, bunsen, cawan petri, pinset, *scalpel*, mata pisau, pipet tetes, pH indikator, spatula, suntikan, karet, *aluminium foil*, plastik, kertas koran, tisu, kapas, sarung tangan, masker, penutup kepala medis, jas lab, gunting, korek api, sendok, kertas label, plastik *wrap*, sikat botol, kamera, dan alat tulis.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yang terdiri dari 1 faktor dengan menggunakan 4 kombinasi sitokinin (2-IP, TDZ, BAP dan Kinetin) dan GA3, diulang sebanyak 10 kali sehingga terdapat 40 satuan unit percobaan. Faktor sitokinin dengan menggunakan 4 kombinasi, yaitu :

S0 (Kontrol) = Media MS + Vit. B Complex 1 pil/l + Vit. E 1 pil/l + Myo inositol 100 mg/l + Glisin 5 mg/l + Pepton 100 mg/l + Kasein 100 mg/l + GA3 1 mg/l (MS Modifikasi)

S1 = Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0.5 mg/l

S2 = Media MS Modifikasi + 2-IP 4 mg/l + TDZ 0,2 mg/l + BAP 1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l

S3 = Media MS Modifikasi + 2-IP 6 mg/l + TDZ 0,3 mg/l + BAP 1.5 mg/l dan Kinetin 1.5 mg/l

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pada eksplan tanaman *Rauvolfia serpentina*(L.)Benth. ex Kurz selanjutnya akan diuji secara statistik dengan menggunakan uji F pada taraf nyata 5%. Parameter yang akan diamati antara lain waktu muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, tinggi eksplan, waktu muncul embrio somatik, diameter embrio somatik, dan fase embrio somatik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Tunas

Hasil uji LSD taraf 5% diperoleh rata-rata waktu muncul tunas sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh Pemberian Beberapa Formulasi Sitokinin Terhadap Rerata Waktu Muncul Tunas pada Eksplan *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz Selama 12 MSK

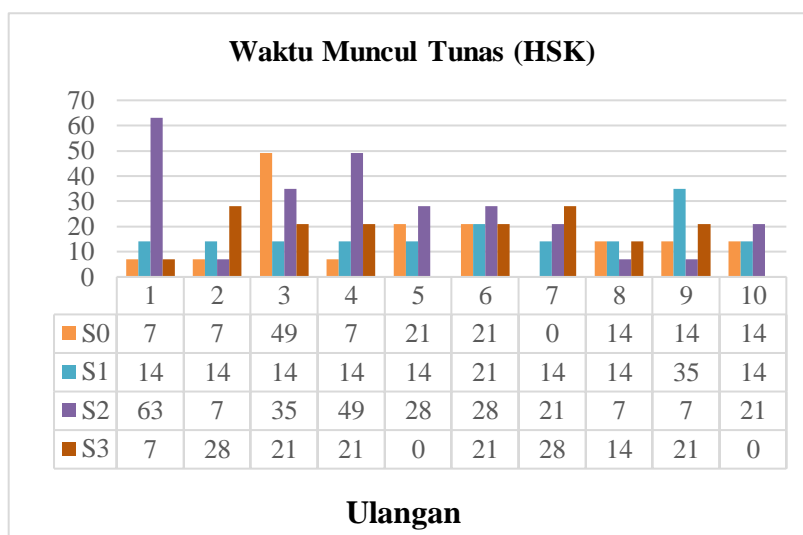
Kode	Perlakuan	Rerata Waktu Muncul Tunas (HSK)
------	-----------	---------------------------------

S0	Kontrol [Media MS + Vit. B Complex 1 pil/l + Vit. E 1 pil/l + Myo inositol 100 mg/l + Glisin 5 mg/l + Pepton 100 mg/l + Kasein 100 mg/l + GA3 1 mg/l (MS Modifikasi)]	15.4 a
S1	Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0,5 mg/l	16.8 a
S2	Media MS Modifikasi + 2-IP 4 mg/l + TDZ 0,2 mg/l + BAP 1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l	26.6 a
S3	Media MS Modifikasi + 2-IP 6 mg/l + TDZ 0,3 mg/l + BAP 1.5 mg/l dan Kinetin 1,5 mg/l	16.1 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji LSD taraf 5% HSK (Hari Setelah Kultur)

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 data menunjukkan semua perlakuan menghasilkan rerata waktu muncul tunas berkisar antara 15.4 HSK – 26.6 HSK. Perlakuan S0 diduga menghasilkan waktu muncul tunas tercepat yaitu 15.4 HSK. Munculnya tunas

merupakan salah satu faktor penting dalam kultur *in vitro*. Dengan munculnya tunas baru pada eksplan menandakan adanya pertumbuhan dan respon terhadap hormon yang digunakan. Grafik rata-rata waktu muncul tunas disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik waktu muncul tunas tanaman pule pandak semua perlakuan

Pada penelitian ini diketahui jika perlakuan S0 tidak diberikan zat pengatur tumbuh namun perlakuan S0 mampu memunculkan tunas lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan zat pengatur tumbuh sitokinin. Menurut Kartini dan Karyanti (2017), adanya hormon endogen dapat menyebabkan eksplan tumbuh secara normal atau lebih tinggi.

Pada perlakuan S0 media kultur mengandung kasein hidrolisat. Kasein hidrolisat merupakan asam amino yang berperan sebagai sumber nitrogen organik

yang mampu merangsang pertumbuhan dan perkembangan jaringan (Widiastoety dan Nurmalinda, 2010). Pada penelitian Maulidina (2020), pemberian kasein hidrolisat 150 mg/l pada eksplan tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) menunjukkan bahwa kasein hidrolisat mampu menumbuhkan tunas dengan rerata 8,6 HST (Hari Setelah Tanam) dan kasein hidrolisat 200 mg/l mampu menumbuhkan tunas dengan rerata 9.33 HST.

Kosmiatin *et al.*(2014), menyatakan bahwa ketersediaan sumber nitrogen organik

pada media kultur dapat meningkatkan akumulasi asam amino sebagai penyusun protein. Nitrogen berperan dalam proses pertumbuhan tunas dengan dua cara yaitu mengatur metabolisme nitrogen dan mengatur hormon endogen (Kartini dan Karyanti,

2017). Penambahan asam amino jenis kasein hidrolisat dalam media kultur juga dapat dilakukan untuk merangsang pertumbuhan eksplan (Istiningdyah *et al.*, 2013). Munculnya tunas disajikan pada Gambar 2.

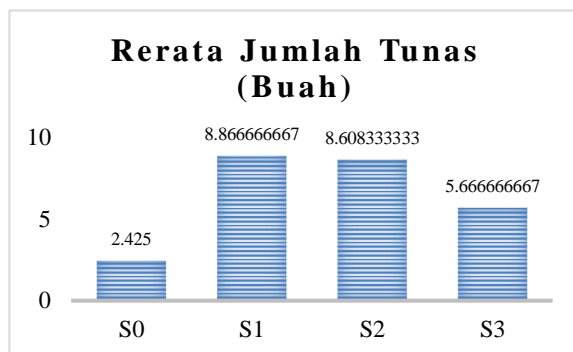


Gambar 2. Munculnya tunas pada eksplan

Jumlah Tunas

Tunas merupakan calon tanaman baru yang belum terdiferensiasi. Tanda awal terbentuknya tunas adalah dengan adanya

tonjolan pada ujung eksplan atau ketiak daun. Banyaknya tunas yang terbentuk dan tumbuh menjadi salah satu dasar utama jumlah planlet yang akan dihasilkan. Grafik rerata jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik rerata jumlah tunas tanaman pule pandak semua perlakuan

Dilihat pada Gambar 3, grafik menunjukkan perlakuan S1 (Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0,5 mg/l) diduga memiliki rerata jumlah tunas terbanyak yaitu 8.87 buah dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil penelitian Yunita dan Lestari (2011), menyatakan pemberian BAP 0.5 mg/l dan TDZ 0.2 mg/l memberikan rerata jumlah tunas yaitu 7.7 buah, lalu pemberian BAP 0.3 mg/l + 2-IP 2 mg/l juga mampu menghasilkan

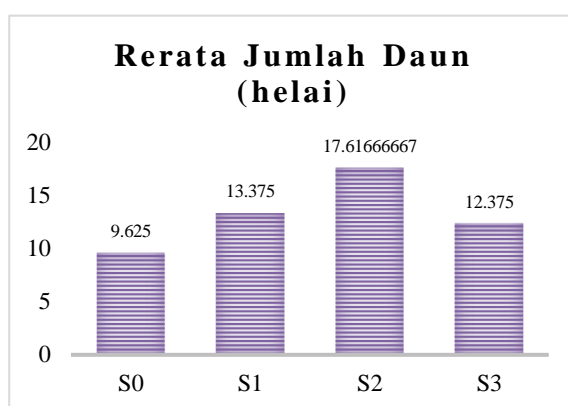
rerata jumlah tunas sebanyak 2.4 buah pada tanaman pule pandak. Selanjutnya, pada penelitian Menaga *et al.* (2021), penggunaan BAP 0.5 mg/l + Kinetin 0.5 mg/l pada tanaman *Pentatropis capensis* (L.f.) Bullock menunjukkan rerata jumlah tunas sebanyak 3.9 buah. Menurut Parzymies dan Dabski (2012) dalam Ranganatha *et al.* (2020), kombinasi sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh terbaik dalam banyak penelitian untuk induksi tunas aksila.

George dan Sherrington (1984) dalam Lestari (2015), menyatakan bahwa keberhasilan pembentukan tunas memerlukan media dengan zat pengatur tumbuh berupa kombinasi sitokinin dengan auksin yang rendah atau sitokinin tanpa auksin. Sitokinin jenis BAP aktif dalam memacu pembentukan dan penggandaan tunas lebih aktif dari pada kinetin dan 2-IP. Menurut Shinta (2017), kinetin mempunyai pengaruh untuk mempercepat induksi tunas. Pemberian BAP dan TDZ secara bersamaan dapat meningkatkan kemampuan tunas bermultiplikasi dibandingkan BAP atau TDZ secara bersamaan dapat meningkatkan

kemampuan tunas bermultiplikasi dibandingkan BAP atau TDZ secara tunggal. Sedangkan 2-IP merupakan ZPT golongan sitokinin yang berperan sebagai promotor dalam pembentukan jaringan (Yunita dan Lestari, 2011).

Jumlah Daun

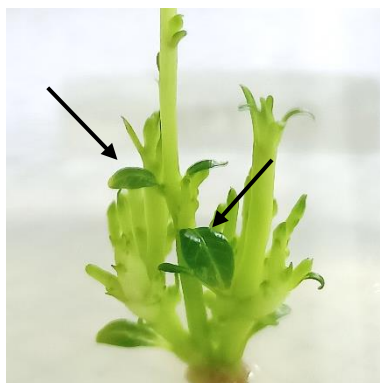
Daun muncul pada semua perlakuan. Jumlah daun yang dihitung merupakan daun yang sudah terbuka penuh dan tidak menempel pada batang. Grafik rerata jumlah daun dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik rerata jumlah daun tanaman pule pandak semua perlakuan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4 diduga menunjukkan rerata jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan S2 (Media MS Modifikasi + 2-IP 4 mg/l + TDZ 0,2 mg/l + BAP 1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l) yaitu sebanyak 17.62 helai. Hasil penelitian Mirah *et al.* (2021), pemberian BAP 1mg/l + Kinetin 1mg/l memberikan jumlah daun sebanyak 18.08 helai pada tanaman *Stevia rebaudiana* Bert. Menurut Sukma dan Artina (2014) dalam Karyanti (2017), pengaruh BAP atau kinetin terhadap pertumbuhan daun, menunjukkan bahwa BAP atau kinetin sebagai salah satu jenis sitokinin lebih berperan dalam mendorong pembentukan tunas dan menghambat pertambahan tinggi sehinggamenekan jumlah daun. Semakin

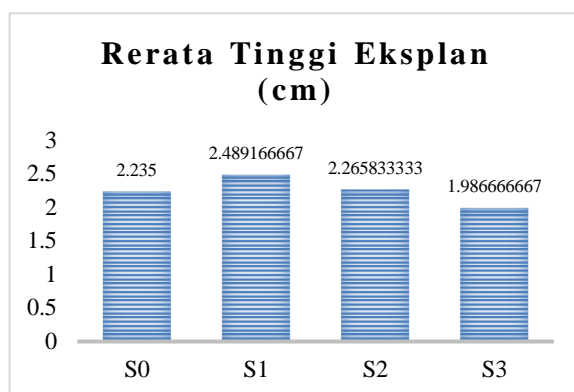
meningkat konsentrasi kinetin maka semakin meningkat pula jumlah daun (Wulansari *et al.*, 2017). Selanjutnya, pada penelitian Nurmaningrum *et al.* (2017), kombinasi BAP 0.3 mg/l + TDZ 0.9 mg/l menghasilkan rerata jumlah daun relatif banyak yaitu 1.33 helai. Hal ini dikarenakan konsentrasi TDZ pada media kultur lebih tinggi. TDZ merupakan sitokinin yang memiliki aktivitas biologi yang lebih tinggi dibandingkan BAP sehingga mampu menumbuhkan daun pada tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.). Menurut Nurana *et al.* (2017), penambahan 2-IP pada perlakuan memberikan respon pada pertumbuhan jumlah daun dan panjang daun. Daun yang tumbuh disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Daun yang tumbuh pada eksplan tanaman pule pandak

Tinggi Eksplan

Grafik rata-rata tinggi eksplan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik rerata tinggi eksplan tanaman pule pandak semua perlakuan

Berdasarkan grafik rerata tinggi eksplan pada Gambar 6, data hasil menunjukkan tinggi eksplan tertinggi terdapat pada perlakuan S1 (Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0,5 mg/l) yaitu 2.49 cm. Pada penelitian Ranganatha *et al.* (2020), pemberian NAA 0.1 mg/l + BAP 1 mg/l + 2-IP 3mg/l memberikan rerata tinggi eksplan setinggi 8 cm pada *Decalepis hamiltonii*. Selanjutnya, Menaga *et al.* (2021), menyatakan bahwa pemberian BAP2 mg/l + Kinetin 2 mg/l menunjukkan rerata tinggi eksplan setinggi 2.9 cm pada tanaman *Pentatropis capensis* (L.f.) Bullock.

Pada penelitian Yunita dan Lestari (2011), pemberian BAP 0.3 mg/l yang dikombinasikan dengan 2-IP 2 mg/l pada eksplan pule pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) memberikan rerata tinggi eksplan setinggi 1.7 cm. Pemberian BAP dan 2-IP secara

bersamaan mampu meningkatkan proses pembelahan dan pembesaran sel. 2-IP termasuk ZPT golongan sitokinin yang berperan sebagai promotor dalam pembentukan jaringan. Menurut Yeyen *et al.* (2021), pemberian IAA0,01 ml/l + BAP 4 ml/l + TDZ 0,1 ml/l + 2IP 2,5 ml/l pada eksplan pisang barangan (*Musa acuminata*) menunjukkan rerata tinggi eksplan terbaik yaitu 2.78 cm dibandingkan perlakuan lainnya. TDZ dalam kultur *in vitro* tidak hanya berperan dalam peningkatan pembentukan tunas, tetapi berperan juga dalam meningkatkan tinggi eksplan dan jumlah daun per eksplan (Supriati *et al.*, 2006 dalam Suminar *et al.*, 2017). Adanya penambahan kasein hidrolisat pada media kultur juga berpengaruh terhadap pertumbuhan tinggi eksplan. Hal ini sejalan dengan penelitian Maulidina (2020), dimana pemberian TDZ 0.2 mg/l + kasein hidrolisat

100 mg/l menghasilkan rerata tinggi eksplan tanaman porang (*Amorphophallus muelleri*

Blume) terbaik yaitu 0.51 cm. Tinggi eksplan disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Tinggi eksplan tanaman pule pandak

Waktu Muncul Embrio Somatik

Hasil uji LSD taraf 5% diperoleh rata-rata waktu muncul embrio somatik sebagai berikut (Tabel 2).

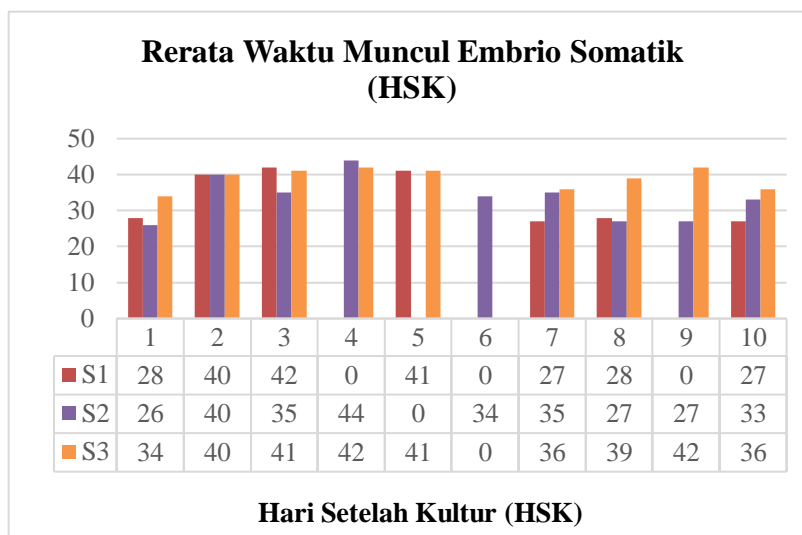
Tabel 2. Pengaruh Pemberian Beberapa Formulasi Sitokinin Terhadap Rerata Waktu Muncul Embrio Somatik pada Eksplan *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz Selama 12 MSK

Kode	Perlakuan	Waktu Muncul Embrio Somatik (HSK)
S1	Kontrol (Media MS + Vit. B Complex 1 pil/l + Vit. E 1 pil/l + Myo inositol 100 mg/l + Glisin 5 mg/l + Pepton 100 mg/l + Kasein 100 mg/l + GA3 1 mg/l (MS Modifikasi))	23.3 a
S2	Media MS Modifikasi + 2-IP 4 mg/l + TDZ 0,2 mg/l + BAP 1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l + GA3 1 mg/l	30.1 a
S3	Media MS Modifikasi + 2-IP 6 mg/l + TDZ 0,3 mg/l + BAP 1.5 mg/l dan Kinetin 1,5 mg/l + GA3 1 mg/l	35.1 a

Keterangan: HSK (Hari Setelah Kultur)

Pada penelitian ini, perlakuan yang menghasilkan embrio somatik adalah perlakuan S1, S2 dan S3 secara embriogenesis somatik tidak langsung. Embrio somatik secara tidak langsung terjadi melalui dua fase, yaitu dengan membentuk kalus dan kembali menjadi meristematik dari sel yang diferensiasi (Santos dan Paz, 2016). Berdasarkan hasil pada Tabel 2 data

menunjukkan perlakuan S1, S2 dan S3 menghasilkan rerata waktu muncul embrio somatik berkisar antara 23.3 HSK – 35.1 HSK. Perlakuan S1 diduga menghasilkan waktu muncul embrio somatik tercepat yaitu 23.3 HSK, tidak berbeda nyata dengan perlakuan S2 dan S3. Grafik rerata waktu muncul embrio somatik dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik waktu muncul embrio somatik tanaman pule pandak

Berdasarkan grafik pada gambar 8, rerata waktu muncul embrio somatik pada eksplan tanaman pule pandak tercepat ditunjukkan oleh perlakuan S1 dengan rerata waktumuncul embrio somatik yaitu 23.3HSK (Hari Setelah Kultur). Penelitian Banu *et al.* (2020), menyatakan bahwa tanaman pule pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) yang diberikan 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l Kinetin pada media kultur menunjukkan embriosomatik mulai muncul pada 6 – 8 minggu setelah kultur. Juliana *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang semakin rendah pada media kultur akan mempercepat waktu pembentukan kalus.

Penelitian Naaty *et al.* (2017), menyatakan bahwa pemberian 2 mg/l BAP +

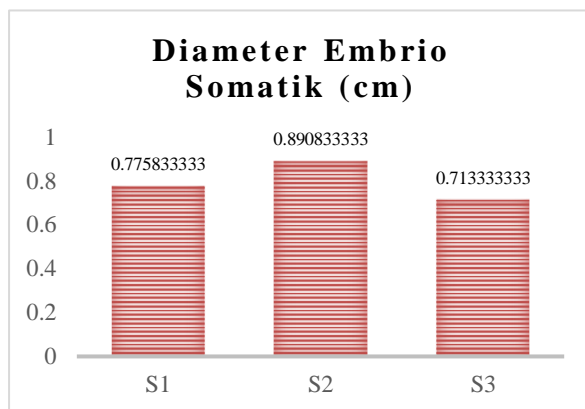
0.8 mg/l Kinetin + 0.4 mg/l NAA + 0.5 mg/l TDZ merupakan formula yang efektif untuk pembentukan embrio somatik pada tanaman Mpelepele (*Schizozygia Coffeoides* Baill.). Pemberian ZPT pada konsentrasi yang berbeda berpengaruh pada tahapanperkembangan embrio. Pada penelitian ini konsentrasi TDZ yang digunakan yaitu 0.1 – 0.3 mg/l, hal ini sejalan dengan pernyataan Lestari (2015) yang menyatakan bahwa TDZ mampu menginduksi embrio somatik jika dilakukan dengan menggunakan konsentrasi rendah, yaitu sekitar 0,1 – 0,5 mg/l. Munculnya kalus pada eksplan sebelum terbentuknya embrio somatik disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Munculnya kalus pada eksplan tanaman pule pandak

Diameter Embrio Somatik

Grafik rerata waktu muncul embrio somatik dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 10. Grafik rerata diameter embrio somatik tanaman pule pandak

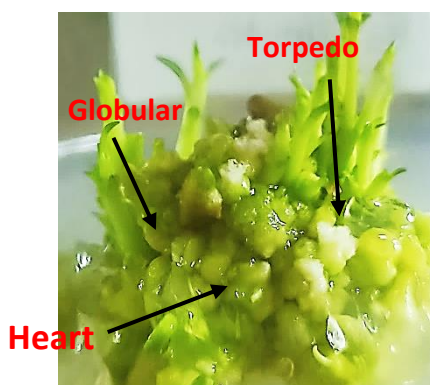
Berdasarkan grafik pada gambar 10, rerata diameter embrio somatik terbesar diduga ditunjukkan pada perlakuan S2 yaitu 0.89 cm. Pada penelitian Peeris dan Senarath (2015), pemberian 2.5 mg/l 2,4-D + 3.0 mg/l Kinetin pada media MS menghasilkan rerata diameter kalus embriogenik sebesar 3.22 cm pada eksplan tanaman cendana (*Santalum album* L.). Sedangkan, pada penelitian Toharah *et al.* (2015), pemberian 2 mg/l BAP dan 3 mg/l BAP tunggal mampu memberikan pertumbuhan kalus terbaik sehingga diperoleh diameter kalus yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian kombinasi antara BAP dan 2,4-D.

Pemberian kombinasi antara TDZ 0.5 mg/l + 2,4-D 0.1 mg/l pada eksplan tanaman anggrek lintang (*Dendrobium lineale* Rolfe) menghasilkan rerata diameter kalus yaitu 3.25 cm (Hoesen *et al.*, 2008). Menurut George *et al.* (2008) dalam Pardede *et al.* (2021), penggunaan TDZ dengan konsentrasi lebih

tinggi atau kurang dari 0,5 mg/l dapat menyebabkan proses diferensiasi embrio somatik tidak efektif. Penelitian Lubis *et al.* (2018), menyatakan bahwa pemberian 2-IP 7 ppm + IAA 2 ppm menghasilkan rerata diameter kalus pisang barangan (*Musa paradisiaca*) terbaik yaitu sebesar 1.203 cm. Gunawan (1987) dalam Sihotang *et al.* (2016), menyatakan bahwa pemberian sitokinin berpengaruh terhadap proses pembelahan sel, poliferasi kalus dan morfogenesis.

Fase Embrio Somatik

Pada penelitian ini perlakuan S1, S2 dan S3 ditemukan embrio dalam fase globular, hati dan torpedo. Sedangkan pada perlakuan S0 tidak ditemukan embrio somatik namun menghasilkan planlet. Fase embrio somatik disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Fase embrio somatik pada eksplan tanaman pule pandak

Pemberian sitokinin diperlukan pada fase awal embriogenesis somatik, guna mendorong pembelahan sel dan proliferasi kalus serta pembentukan embrio somatik pada fase globular (Nawrot-Chorabik, 2011 *dalam* Ajjiah dan Hartati, 2016). Menurut Hartati *et al.* (2018), fase globular adalah fase dimana sel berkumpul dan membentuk massa sel dengan struktur bulat. Fase hati adalah fase dimana terlihat adanya penonjolan pada kedua sisi daerah terminal, sehingga massa sel membentuk struktur seperti jantung. Sedangkan fase torpedo adalah tahap pembesaran dari fase hati.

Arnold *et al.* (2002) *dalam* Ardiyani *et al.* (2020), menyatakan bahwa cara merangsang perkembangan embrio somatik adalah dengan menambahkan sitokinin dan mengurangi atau menghilangkan penggunaan auksin. Dalam penelitian ini, pemberian kombinasi beberapa sitokinin mampu menghasilkan embrio somatik dari fase globular hingga torpedo terbanyak yaitu 17.6 helai dan rerata diameter embrio somatik terbesar yaitu 0.89 cm. Sikder *et al.* (2006) *dalam* Viola *et al.* (2017), menyatakan bahwa penggunaan media dasar dan penambahan zat pengatur tumbuh menggunakan jenis dan konsentrasi yang tepat mampu merangsang pembentukan embrio somatik.

KESIMPULAN

1. Perlakuan S1, S2 dan S3 mengalami fase embrio somatik yaitu fase globular, hati dan torpedo.
2. Terdapat pengaruh pemberian beberapa formulasi sitokinin terhadap persentase eksplan hidup, persentase eksplan membentuk embrio somatik, waktu muncul tunas, jumlah tunas dan daun, tinggi eksplan, waktu muncul embriosomatik, diameter embrio somatik dan fase embrio somatik tanaman pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) selama periode pengamatan 12 MSK.
3. Perlakuan S0 (Media MS + Vit. B Complex 1 pil/l + Vit. E 1 pil/l + Myo inositol 100 mg/l + Glisin 5 mg/l + Pepton 100 mg/l + Kasein 100 mg/l [MS Modifikasi] + GA3 1 mg/l) merupakan formulasi sitokinin terbaik untuk menghasilkan rerata waktu muncul tunas tercepat yaitu 15.4 HSK.
4. Perlakuan S1 (Media MS Modifikasi + 2-IP 2 mg/l + TDZ 0.1 mg/l + BAP 0.5 mg/l dan Kinetin 0.5 mg/l + GA3 1 mg/l) merupakan formulasi sitokinin terbaik untuk menghasilkan rerata jumlah tunas terbanyak yaitu 8.87 buah, rerata tinggi eksplan tertinggi yaitu 2.49 cm dan rerata waktu muncul embrio somatik tercepat yaitu 23.3 HSK.
5. Perlakuan S2 (MS Modifikasi + 2-IP 4 mg/l + TDZ 0.2 mg/l + BAP 1 mg/l dan Kinetin 1 mg/l + GA3 1 mg/l) merupakan formulasi sitokinin terbaik untuk menghasilkan rerata jumlah daun terbanyak yaitu 17.6 helai dan rerata diameter embrio somatik terbesar yaitu 0.89 cm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjiah, N., dan R.R.S. Hartati. 2016. Pengaruh Sitokinin, Jenis Eksplan, dan Genotipe Terhadap Embriogenesis Somatik Kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 3(2) : 71 – 82
- Alfiana, I. 2020. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW Terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schumach) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Tasikmalaya (ID). Fakultas Pertanian. Universitas Siliwangi.
- Ardiyani, F., E.S.W Utami., H. Purnobasuki., dan S.A. Paramita. 2020. Development and regeneration of somatic embryos from leaves-derived calli of *Coffea liberica*. *Biodiversitas Journal*. 21(12) : 5829 – 5834
- Kultur/Zv *In Vitro Dendrobium lineale* Rolfe. *Berita Biologi*. 9(3) : 333 – 341
- Banu, T.A., S. Khan., B. Goswami., S. Arifin., A. Habib., dan S. Akter. 2020. Indirect Organogenesis and Somatic Embryogenesis For Regeneration Of

- Rauvolfia serpentina* L. from Root Explants. *Bangladesh J. Bot.* 49(4) : 1021 – 1027
- Basri, A.H.H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia.* 10(1) : 64 – 73
- Budi, R.S. 2020. Uji Komposisi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) pada Media MS Secara *In Vitro.* *Best Journal.* 3(1) : 101 – 111
- Binish, T. 2018. Micropropagation of iron Deficiency Prevent Plant *Ceropegia spiralis.* *The Pharma Innovation Journal.* 7(11) : 400 – 404
- Faheem, M., S. Singh., B.S. Tanwer., M. Khan., dan A. Shahzad. 2011. In Vitro Regeneration of Multiplication Shoots in *Catharanthus roseus*- an Important Medicinal Plant. *Advances in Applied Science Research.* 2(1) : 208 – 213
- Febriyanti, D. D. 2015. Pengaruh konsentrasi hormon TDZ (*thidiazuron*) terhadap pembentukan somatik embriogenesis gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gigl) Domke) melalui teknik *in vitro.* [Skripsi]. Jember (ID). Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Jember.
- Hartati., H. Agani., N.S. Hartati., dan E. Sudarmonowati. 2018. Kecepatan Regenerasi Kalus Somatik Embriogenik Terung pada Beberapa Media Maturasi. *Jurnal Ilmu Dasar.* 19(2) : 125 – 134
- Hoesen, D.S.H., Witjaksono., dan L.A. Sukamto. 2008. Induksi Kalus dan Embriogenesis Somatik dari Jaringan Endosperma Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) cv Simadu. *J. Agron. Indonesia.* 42(1) : 44 – 51
- Istiningdyah, A.,Y. Tambing., dan M.U. Bustami. 2013. Pengaruh BAP dan Kasein Hidrolisat Terhadap Pertumbuhan Tunas Melon (*Cucumis melo* L.) Secara *In Vitro.* *E-J Agrotekbis.* 1(4) : 314 – 322
- Juliana, T., M.N. Isda., dan D. Iriani. 2019. Embriogenesis Somatik dari Kalus Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Asal Bengkulu dengan Pemberian BAP dan Madu Secara *In Vitro.* *Journal of Biology.* 12(1) : 8 – 17
- Kartini, M., dan Karyanti. 2017. Pengaruh Thidiazuron dan Hidrolisat Kasein Terhadap Multiplikasi Tunas Satoimo (*Colocasia esculenta* (L.) Schott Var *Antiquorum*) Secara *In Vitro.* *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 4(1) : 70 – 77
- Karyanti. 2017. Pengaruh Beberapa Jenis Sitokinin pada Multiplikasi Tunas Anggrek *Vanda douglas* Secara *In Vitro.* *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 4(1) : 36 – 43
- Khisbah, A. 2003. Potensi Tumbuhan Obat Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* Benth.) di RPH Selogender, BKP Selogender, KPH Randublatung. [Skripsi]. Bogor (ID). Fakultas Kehutanan. IPB.
- Kosmiatin, M., A. Purwito., G.A. Wattimena., dan I. Mariska. Induksi *American Journal of Plant Sciences.* 3(4) : 437 – 442
- Kunwar, B.B. 2019. Establishing In Situ Gene Bank of *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurtz in Western Nepal with a Focus on Conservation and Sustainability. *Biodiversity International Journal.* 3(4) : 134 – 143
- Lestari E.G., dan S. Hutami. 2005. Produksi Bibit Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Melalui Kultur Jaringan. *Berita Biologi.* 7(6) : 315 – 321
- Lestari, E.G. 2015. Peran Thidiazuron dalam Peningkatan Kemampuan Proliferasi Tanaman Secara *In Vitro.* *Jurnal Litbang Pertanian.* 34(2) : 87 – 93
- Lestari, N.K.D., N.W. Deswiniyanti., I.A. Astarini., dan N.L. Arpiw. 2019. *Bioteknologi In Vitro Lili.* Penerbit Deepublish, Yogyakarta
- Lubis, E., M.I. Pinem., dan R. Febrian. 2018. Contributions of IAA (*Indole Acetic Acid*) and 2-IP (*Dimethyl Allyl Amino Purine*) on Multiplication of Red Plant Banana Explants (*Musa paradisiaca*) In MS Media by *In Vitro.* Proceeding International Conference on

- Sustainable Agriculture and Natural Resources Management. Medan: 28-29 Agustus 2018. Hal. 300 – 306
- Mardiana, D.N. 2019. *Pengaruh Media Pupuk Daun terhadap Multiplikasi Pisang Barangan (Musa acuminata L.) Secara In Vitro*. [Tesis]. Bandung (ID). Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Sunan Gunung Djati.
- Mallick, S.R., R.C. Jena., dan K.C. Samal. 2012. Rapid In Vitro Multiplication of an Endangered Medicinal Plant Sarpgandha (*Rauwolfia serpentina*). 2021. In Vitro Micropropagation of *Pentatropis capensis* (L.f.) bullock (Apocynaceae). *International Journal of Botany Studies*. 6(5) : 131 – 136
- Mirah, T., Undang., Y. Sunarya., T.M. Ermayanti. 2021. Pengaruh Konsentrasi Sitokinin dan Jenis Media Terhadap Pertumbuhan Eksplan Buku Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) Tetraploid. *Media Pertanian*. 6(1) : 1 – 11
- Murthy, K.S.R., R. Kondamudi., dan T. Pullaiah. 2010. High Frequency Somatic Embryogenesis in *Ceropegia spiralis* Wight—An Endemic and Endangered Medicinal Plant. *Indian Journal of Biotechnology*. 9(1) : 414 – 418
- Naaty, B., C.M Mbithe., A.B. Nyende., P. Njenga., dan J.K. Muli . 2017. In Vitro Regeneration via Somatic Embryogenesis of *Schizogygia coffeoides* Baill (Mpelepele). *American Journal of Plant Biology*. 2(2) : 66 – 72
- Nurana, A.R., G. Wijana., dan R. Dwiyani. 2017. Pengaruh 2-ip dan NAA Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Dendrobium Hibrida pada Tahap Subkultur. *Agrotrop*. 7(2) : 139 – 146
- Nurmaningrum, D., Y. Nurchayati., dan N. Setiari. 2017. Mikropropagasi Tunas Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada Kombinasi Benzil Amino Purin (BAP) dan Thidiazuron (TDZ). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 2(2) : 211 – 217
- Oliveira, A.J.B de., V.M. de Carvalho., A. Ferreira., F.Y. Sato., M. de F.P. da S. Machado. 2003. In Vitro Multiplication of *Tabernaemontana fuchsiaefolia* L. (Apocynaceae). *Sociedade de Investigações Florestais*. 27(4) : 421 – 425
- Pant, K.K., dan S.D. Joshi. 2008. Rapid Multiplication of *Rauwolfia serpentina* Benth. ex. Kurz Through Tissue Culture. *Scientific World*. 6(6) : 58 – 62
- Pardede, Y., E. Mursyanti., dan B.R. Sidharta. 2021. Pengaruh Hormon Terhadap Induksi Embrio Somatik Kacapiring (*Gardenia jasminoides*) dan Potensi Aplikasinya Dalam Pembuatan Benih Sintetik. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 6 (3): 162 – 177
- Peeris, M.K.P., dan W.T.P.S.K. Senarath. 2015. In vitro propagation of *Santalum album* L. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 43(3) : 265 – 272
- Prasetyorini. 2019. *Kultur Jaringan*. LPPM Universitas Pakuan, Bogor
- Ranganatha, M., A. AS., A. Sharma., dan N.N. Rao. 2020. In Vitro Shoot Regeneration Of Swallow Root (*Decalepis hamiltonii*) – A Steno-Endemic Red Listed Medicinal Plant. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 13(3) : 188 – 191
- Rineksane, I.A., D. Nurjaman., dan B.H. Isnawan. 2015. Kajian Penggunaan Jenis Eksplan dan Thidiazuron untuk Multiplikasi Tunas Adventif Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry). Prosiding Seminar Nasional FKPTPI 2015. Banjarmasin: September 2015. Hal. 204 – 208
- Rusdianto, dan A. Indrianto. 2015. Peningkatan Pembentukan Embrio Somatik pada Wortel (*Daucus carota* L) Menggunakan N6-Benzylaminopurine (BAP). *Jurnal Bionature*. 16(2) : 91 – 97
- Santos, M.R.A., dan E.S. Paz. 2016. Effect of 2,4-D on Callus Induction In Leaf Explants of Peach Palm (*Bactris*

- gasipaes* H.B.K.). *International Journal of Current Research*, 8(9) : 38688 – 38691
- Saputra, N.T. 2019. Pengaruh Jenis Medium dan Konsentrasi BAP Terhadap Pertumbuhan Tunas Anggrek *Vanda tricolor*. [Skripsi]. Yogyakarta (ID). Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Shinta, D. 2017. Pengaruh BAP dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Tunas Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Bengkulu (ID). Fakultas Pertanian. Universitas Bengkulu.
- Sihotang, S., E.H. Kardhinata., dan Riyanto. 2016. Stimulasi Tunas Pisang Barangan (*Musa acuminata* L.) Secara *In Vitro* Dengan Berbagai Konsentrasi IBA (*Indole3- butyridacid*) dan BA (*Benzyladenin*). *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*. 3(1) : 18 – 30
- Sudiyanti, S., T.B. Rusbana., dan Sudiyanti. 2017. Inisiasi Tunas Kokoleceran (*Vatica bantamensis*) pada Berbagai Jenis Media Tanam dan Konsentrasi BAP (*Benzyl Amino Purine*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Agro*. 4(1) : 1 – 14
- Sugito, H. 2006. Penggunaan Thidiazuron, 2,4-D dan Giberellin dalam Pembentukan Embrio Somatik Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) Melalui Kultur *In Vitro*. [Thesis]. Bogor (ID). Sekolah Pascasarjana. IPB.
- Sulandjari. 2008. Hasil Akar dan Reserpina Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* Benth.) pada Media Bawah Tegakan Berpotensi Alelopati dengan Asupan Hara. *Jurnal Biodiversitas*. 9(3) : 180 – 183
- Sundari, L., L.A.M. Siregar., dan D.S. Hanafiah. 2015. Kajian Awal : Respon Eksplan Nodus dalam Inisiasi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) dalam Medium WPM. *Jurnal Online Agroteknologi*. 3(1) : 179 – 187
- Suminar, E., Sumadi., S. Mubarak., T. Sunarto., dan N.S.E. Rini. 2017. Percepatan Penyediaan Benih Sumber Kedelai Unggul Secara *In Vitro*. *Jurnal Agrikultura*. 28 (3) : 126 – 135
- Suwal, M. M., Lamichhane, J., & Gauchan, D. P. 2020. Regeneration Technique of Bamboo Species through Nodal Segments: A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*. 8(1) : 54 – 68
- Toharah, N.I., D.S.D. Jekti., dan L. Zulkifli. 2015. Pertumbuhan Kalus Daun Melon (*Cucumis melo*) Varietas Mai 119 dengan Pemberian BAP (*Benzyl Amino Purine*) Dan 2,4-D (*2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid*). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*. 1(2) : 38 – 48
- Ugraiyah, A., V.R. Sreelatha., P.V.K. Reddy., K. Rajasekhar., S.S. Rani., S. Karuppusamy., dan T. Pullaiah. 2011. *In Vitro* Shoot Multiplication And Conservation of *Caralluma bhupenderiana* Sarkaria - an Endangered Medicinal Plant from South India. *African Journal of Biotechnology*. 10(46) : 9328 – 9336
- Varnika., R. Sharma., A. Singh., Shalini., dan N. Sharma. 2020. Micropropagation and Screening of Phytochemicals Present Among *In Vitro* Raised and Wild Plants of *Rauvolfia serpentina*. *Walailak Journal Science & Technology*. 17(11) : 1177 – 1193
- Viola, Y.R.N., M. Roviq., dan T. Wardiyati. 2017. Pengaruh Konsentrasi BA Terhadap Pembentukan Embrio Somatik pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Secara *In Vitro*. *Plantropica Journal of Agriculture Science*. 2(1) : 10 – 17
- Widiastoety, D., dan Nurmalinda. 2010. Pengaruh Suplemen Nonsintetik terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Vanda. *J. Hort*. 20(1) : 60 – 66
- Wulansari, A., D.R. Wulandari., L. Sari., dan T.M. Ermayanti. 2017. Pengaruh Perlakuan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan *In Vitro* Talas Diploid Pontianak Dan Talas Triploid Bolang Hitam. Prosiding Seminar Nasional

- 2017 Fak. Pertanian UMJ. Bogor: 8 November 2017. Hal. 138 – 146.
- Yahya, A.F. 2001. Pertumbuhan, Biomassa dan Kandungan Alkaloid Akar Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina* Benth.) Hasil Kultur *In Vitro*. [Skripsi]. Bogor (ID). Fakultas Kehutanan. IPB.
- Yeyen, Y., T. Nopsagiarti., dan Seprido. 2021. Uji Berbagai Sitokinin pada Media Ms Terhadap Pertumbuhan Globular Eksplan Pisang Barangan (*Musa acuminata*). *Jurnal Green Swarnadwipa*. 10(2) : 176 – 184
- Yelnititis. 2020. Induksi Kalus Embriogenik dan Embrio Somatik dari Eksplan Daun Kulim (*Scorodocarpus borneensis* Becc.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 14(2) : 75 – 83
- Yunita, R., dan E.G. Lestari. 2011. Perbanyak Tanaman (*Rauwolfia serpentina* L.) dengan Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(1) : 68 – 72
- Ziraluo, Y.P.B. 2021. Metode Perbanyak Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* Poiret) dengan Teknik Kultur Jaringan atau Stek Planlet. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2(3) : 1039 – 1046