

# Perbanyak Tanaman Pulai Pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) dengan Teknik Kultur Jaringan

Rossa Yunita<sup>\*)</sup>, Endang dan Gati Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor 16111

Diterima 14-05-2010

Disetujui 10-05-2011

## ABSTRACT

Due to over exploitation of its bark for medicinal herbs and made worse by problem in conventional breeding, *Rauwolfia serpentina* (Pulai pandak), has been considered rare and was currently reported to be an endangered species. Therefore, conservation measure is urgent to be taken. One of them is by *in vitro* propagation. In this research, *in vitro* propagation covers several activities, such as (1) shoot induction with the application of MS (Murashige and skoog) media enriched with ZPT 0.0; 0.1; 0.3 mg/l BAP combined with 0, 1, 2 mg/l 2ip, (2) shoot multiplication by using 0.0; 0.5; 1.0 mg/l BAP combined with 0.0; 0.1; 0.2 and 0.3 mg/l thidiazuron, (3) root induction IBA at the concentration of 0.0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0 mg/l, and (4) acclimatization. The result showed that the best shoot induction for calli is the *in vitro* stem by the application of MS + 0.3 mg/l BAP + 1 mg/l 2ip basic media. For shoot multiplication, the best media was MS + 0.5 mg/l BAP + 0.1 mg/l; while the best formula for root induction was MS + 1 mg/l IBA. The best media for plantlet acclimatization is compost + soil mixture in 1:1 ratio.

**Keywords:** adventif shoot, *in vitro* propagation, *Rauwolfia serpentina* (L.)

## PENDAHULUAN

*Rauwolfia serpentina*, salah satu anggota famili Apocynaceae yang merupakan tumbuhan obat potensial untuk dikembangkan, karena disamping dibutuhkan sebagai bahan baku obat tradisional juga digunakan sebagai bahan untuk fitofarmaka. Tumbuhan ini banyak diminati oleh negara-negara industri farmasi dan merupakan spesies tumbuhan yang mempunyai pasaran baik di Amerika Serikat, Jepang, Jerman, Prancis, Swiss dan Inggris, karena *R. serpentina* mengandung beberapa senyawa diantaranya reserpin, rescinamine dan ajmalin yang digunakan sebagai obat penurun tekanan darah tinggi, tranquilizer (penenang) dan gangguan pada sistem sirkulasi. Senyawa-senyawa ini belum dapat dibuat sintesisnya meskipun struktur kimianya telah diketahui (Prasetyorini 2000).

*R serpentina* merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah dinyatakan langka dan sudah terancam punah. Simplisianya diperoleh dengan cara pengumpulan langsung dari alam (hutan) oleh karena permintaan yang cukup tinggi mengakibatkan pemanenan berlebihan, sehingga mengancam kelestariannya (Zuhud *et al.* 1994 dalam Yahya 2001). Faktor lain penyebab kelangkaan *R serpentina* adalah bagian yang di dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah akar, tanaman ini sulit di perbanyak secara konvensional dan penyebarannya terbatas. Oleh karena itu perlu segera dilakukan upaya pengembangannya.

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan pengembangan suatu jenis tanaman adalah ketersediaan bibit bermutu. Penyediaan bibit melalui perbanyak tanaman secara konvensional kurang memadai, seperti yang dilaporkan oleh Sudiarto *et al.* (1985), perbanyak *R serpentina* secara konvensional menunjukkan bahwa pertumbuhan biji dan stek batang kurang dari 15%. Persentase tumbuh yang rendah di sebabkan biji bertempurung keras, sehingga daya kecambah juga sangat rendah. Salah satu teknologi yang biasa digunakan dan memberikan harapan dalam penyediaan bibit dalam jumlah besar dan waktu relatif lebih singkat adalah teknik kultur *in vitro*. Telah banyak tanaman yang berhasil di perbanyak dengan teknik kultur jaringan ini (*in vitro*) di antaranya yaitu Tebu (*Saccharum officinarum* L.) (Behera *et al.* 2009), Pisang (Lee 2010), dan phalenopsis (Kosir *et al.* 2004)

Perbanyak secara *in vitro* dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu pembentukan tunas adventif, proliferasi tunas lateral, dan embriogenesis somatik. Penelitian perbanyak tanaman *R serpentina* melalui proliferasi tunas telah dilakukan oleh Lestari dan Mariska (2011), dimana tunas apikal dan internodus yang dikulturkan pada media MS+BAP 0,8mg/l memberikan nilai multiplikasi tunas yang lebih tinggi media terbaik untuk induksi perakaran adalah MS+IBA 0,8 mg/l. Perbanyak *R serpentina* melalui embriogenesis somatik juga mampu memperbanyak bibit dalam jumlah yang relatif besar (Singh *et al.* 2009).

\*Telp: +6281210486295

Email: rossa\_yunita@yahoo.com

Akan tetapi dengan cara ini kemungkinan akan terjadi variasi somaklonal sehingga bibit yang dihasilkan tidak sama dengan induknya (Hutami *et al.* 2006). Pada penelitian ini dilakukan induksi tunas langsung dari daun atau ruas batang untuk mendapatkan tunas yang banyak akan tetapi tidak mengalami perubahan pada sifat genetiknya sehingga bibit yang di hasilkan sama dengan induknya.

Induksi tunas adventif dari eksplan ruas batang dan daun secara *in vitro*, sejauh ini belum banyak dilaporkan. Pada penelitian ini telah lakukan induksi dan multiplikasi tunas ruas batang dan daun serta induksi perakarannya. Tujuan dari penelitian ini adalah (1) Untuk mendapatkan jenis eksplan dan formulasi media yang tepat untuk induksi tunas (2) Mendapatkan formulasi media yang tepat untuk multiplikasi tunas (3) Mendapatkan Formulasi media yang tepat untuk induksi perakaran secara *in vitro* dan (4) mendapatkan media tanam yang tepat untuk aklimatisasi.

#### BAHENDAN METODE

Penelitian dilakukan bulan Januari hingga Desember 2009 di laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah biakan *in vitro* *R. serpentina* (L.) koleksi BB-Biogen

Tahapan penelitian ini terdiri atas empat kegiatan yaitu (1) penyediaan bahan eksplant (2) regenerasi tunas (3) Multiplikasi tunas (4) Induksi perakaran dan (5) aklimatisasi plantlet

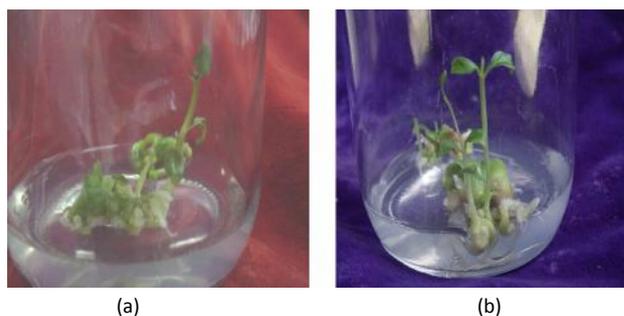
**(1) Penyediaan bahan eksplant.** Biakan *in vitro* *R. serpentina* (L.) koleksi BB-biogen, disubkultur pada media dasar MS dengan penambahan ZPT BAP 0,1mg/l untuk penyediaan eksplan. Media dasar yang digunakan adalah MS (Murashige & Skoog 1962), yang diperkaya dengan vitamin dan dilengkapi dengan sukrosa 3% (w/v), serta dibuat padat dengan menambahkan agar 0,2% (phytagel/Gelrate). Selanjutnya pH media dibuat 5,8 dengan menambahkan 1N NaOH atau 1N HCl sebelum di autoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit. Biakan di letakkan pada ruang kultur pada suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  dengan intensitas peninaran sebesar 1.000–2.000lux selama 16 jam.

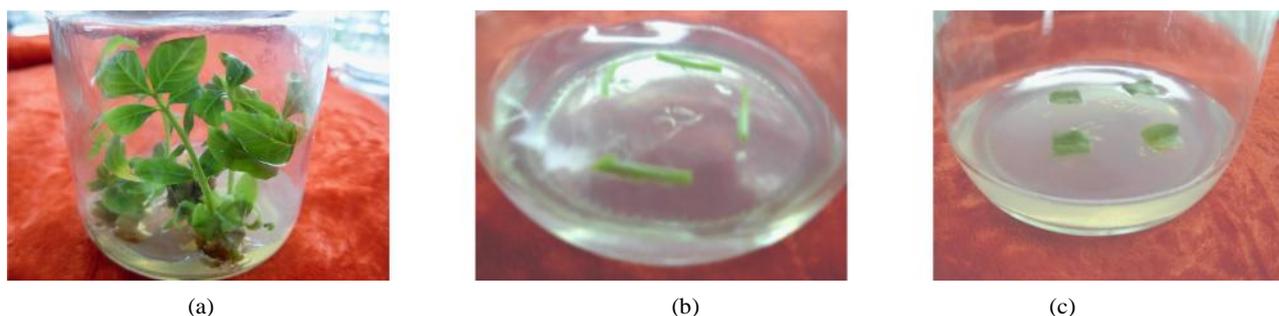
Setelah biakan berumur 2 bulan, setinggi  $\pm 5\text{cm}$  dan menghasilkan daun yang memiliki ukuran yang memadai sebagai eksplan (Gambar 1a), maka biakan siap dijadikan eksplan untuk regenerasi tunas. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan untuk regenerasi tunas adalah daun dan batang. Daun dipotong segi empat dengan ukuran  $\pm 0,7\text{cm} \times 0,7\text{cm}$  (Gambar 1 b) dan batang yang digunakan ialah internodul panjang  $\pm 0,7\text{cm}$  dan bagian nodul dibuang (Gambar 1c).

**(2) Induksi tunas tunas.** Pada kegiatan induksi tunas ini menggunakan eksplan daun dan ruas batang dari hasil kegiatan 1. media yang di gunakan adalah media dasar MS yang diperkaya dengan ZPT yaitu BAP pada konsentrasi 0,0; 0,1; 0,3, mg/l dikombinasikan dengan 2ip pada konsentrasi 0, 1, 2 mg/l. Masing perlakuan terdiri atas 30 ulangan. Peubah yang diamati adalah persentase eksplan membentuk tunas, jumlah dan tinggi tunas yang terbentuk.

**(3) Multiplikasi tunas.** Tunas yang dihasilkan pada kegiatan 2 dipindahkan ke media multiplikasi. Media untuk multiplikasi adalah media dasar MS yang diperkaya dengan BAP pada tingkatan konsentrasi 0,0; 0,5; 1mg/l dan di kombinasikan dengan Thidiazuron pada beberapa konsntrasi yaitu 0,0; 0,1; 0,2 dan 0,3 mg/l. Masing-masing perlakuan terdiri atas 30 ulangan. Peubah yang diamati meliputi jumlah tunas dan penampakan visualnya.



Gambar 2 (a) Tunas yang terbentuk dari ekplan batang (b) Tunas yang terbentuk dari eksplan daun



Gambar 1 (a) biakan *R. serpentina* *in vitro* yang digunakan sebagai eksplan untuk induksi kalus, (b) batang dan (c) daun

(4) **Induksi perakaran.** Tunas yang tingginya  $\pm 5$  cm, dipindahkan pada media perakaran. Percobaan perakaran menggunakan media MS yang diperkaya dengan auksin IBA pada beberapa tingkatan konsentrasinya yaitu 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mg/l. Masing-masing perlakuan terdiri atas 30 ulangan. Peubah yang diamati adalah jumlah akar dan panjang akar setelah berumur 8 minggu.

(5) **Aklimatisasi plantlet.** Plantlet yang memiliki akar yang telah terbentuk sempurna selanjutnya diaklimatisasi. Aklimatisasi dilakukan dengan cara biakan dikeluarkan dari botol. Biakan selanjutnya ditanam pada media yang telah di siapkan. Media tanam yang digunakan sebagai perlakuan adalah (1) Kompos, (2) tanah, (3) Kompos+pasir (perbandingan 1:1) (4) Tanah+pasir (perbandingan 1:1) (5) Tanah+kompos (6) Tanah+kompos+pasir (perbandingan 1: 1: 1). Masing-masing perlakuan terdiri atas 20 ulangan. Parameter yang diamati adalah persentase tanaman yang hidup setelah diaklimatisasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**a. Induksi tunas.** Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada umumnya eksplan yang berasal dari batang mampu membentuk tunas kecuali pada perlakuan 0,1 mg/l BAP+ 1 mg/l 2ip eksplan yang menghasilkan tunas hanya 60%. Untuk eksplan yang berasal dari daun, persentase eksplan yang terbentuk relatif lebih rendah. Bahkan untuk perlakuan 1 mg/l 2ip, 2 mg/l 2ip dan 0,1 mg/l BAP+2 mg/l 2ip tidak mampu memacu terbentuknya tunas. Pemberian 0,1 mg/l BAP dan 0,3 mg/l BA pada eksplan daun mampu menginduksi terbentuknya tunas hingga 80% sedangkan pada perlakuan 0,3 mg/l BAP + 1 mg/l 2ip dan 0,3 mg/l BAP + 2 mg/l 2ip persentase eksplan daun yang menghasilkan tunas adalah 100% (Tabel 1).

Jika dilihat pada Tabel 2, penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) 0,1 mg/l BAP pada media, mampu menginduksi terbentuknya tunas dari ekplan batang rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan sebanyak 1,4 dan ekplan daun rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan sebanyak 1,2. Bila konsentrasi BAP ditingkatkan hingga 0,3 mg/l, maka rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan oleh ekplan batang

maupun daun juga meningkat yaitu menjadi 1,6 dan 3,6 tunas. Hal yang sama juga terjadi pada tanaman melon (*Cucumis melo*) peningkatan konsentrasi BAP yang diberikan mampu meningkatkan kemampuan ekplan bertunas (Rohayati 2003). Begitu pula dengan rata-rata tinggi tanaman, peningkatan konsentrasi BAP yang diberikan hingga 0,3 mg/l cenderung meningkatkan tinggi tanaman.

Pemberian 1 mg/l dan 2mg /l 2ip pada eksplan daun mampu menginduksi terbentuknya tunas 1,2 dan 1,4, sedangkan pada eksplan batang tidak mampu menginduksi terbentuknya tunas. 2ip merupakan ZPT yang tergolong kedalam sitokinin yang berperan sebagai promotor dalam pembentukan jaringan

Eksplan daun dan batang yang di tumbuhkan pada media MS yang dikombinasikan dengan 0,3 mg/l BAP dari 2 mg/l 2ip memberikan rata-rata jumlah tunas yang lebih tinggi dari pada perlakuan lainnya yaitu 2,4 dan 7 (Tabel 2). Biakan yang di kulturkan pada media kombinasi BAP dan 2ip cenderung menghasilkan tunas yang lebih tinggi daripada perlakuan tunggal. Hal ini karena ada sifat sinergis dari kedua jenis sitokin tersebut dalam proses pembelahan dan pembesaran sel.

**B. Multiplikasi tunas.** Tunas yang terbentuk di subkultur kemedua multiplikasi yaitu media MS+0,1 mg/l BA. Tunas yang disubkultur berukuran  $\pm 1$  cm yang mengandung 2 nodus.

Pada Tabel 3, terlihat bahwa pemberian Thidiazuron secara tunggal mampu meningkatkan kemampuan tunas untuk bermultiplikasi. Peningkatan konsentrasi Thidiazuron hingga 0,3 mg/l mampu meningkatkan jumlah tunas hingga

Tabel 1 Persentase Pembentukan tunas pada formulasi media dan jenis eksplan yang beda pada minggu ke-10 setelah masa tanam

Perlakuan Media (mg/l)	Jenis eksplan	
	% ase daun bertunas	% ase batang bertunas
BAP 0,1	80	100
BAP 0,3	80	100
2ip 1	0	100
2ip 2	0	100
BAP 0,1 + 2ip 1	20	60
BAP 0,1 + 2ip 2	0	100
BAP 0,3 + 2ip 1	100	100
BAP 0,3 + 2ip 2	100	100

Tabel 2 Pengaruh formulasi media terhadap pertumbuhan biakan minggu ke – 8

Perlakuan media mg/l	Rataan jumlah tunas		Rataan tinggi tunas (cm)	
	Batang	Daun	Batang	Daun
BAP 0,1	1,4 $\pm$ 0,19	1,2 $\pm$ 0,21	0,8 $\pm$ 0,16	0,7 $\pm$ 0,08
BAP 0,3	1,6 $\pm$ 0,13	3,6 $\pm$ 0,23	1,4 $\pm$ 0,16	2,2 $\pm$ 0,14
2ip 1	0 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,23	0 $\pm$ 0	0,7 $\pm$ 0,08
2ip 2	0 $\pm$ 0,0	1,4 $\pm$ 0,19	0 $\pm$ 0	0,9 $\pm$ 0,16
BAP 0,1 + 2ip 1	0,4 $\pm$ 0,16	0,6 $\pm$ 0,17	0,2 $\pm$ 0,06	0,6 $\pm$ 0,11
BAP 0,1 + 2ip 2	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0,11	0 $\pm$ 0	0,6 $\pm$ 0,11
BAP 0,3 + 2ip 1	1,8 $\pm$ 0,18	6 $\pm$ 0,81	1,7 $\pm$ 0,14	3,6 $\pm$ 0,13
BAP 0,3 + 2ip 2	2,4 $\pm$ 0,24	7 $\pm$ 0,94	1,3 $\pm$ 0,16	3,6 $\pm$ 0,16

4,6 Tunas. Penggunaan BAP secara tunggal pada konsentrasi 0,5 dan 1 mg/l belum mampu meningkatkan kemampuan tunas bermultiplikasi seperti pada pemberian Thidiazuron secara tunggal. Keadaan yang sama juga terjadi pada taman melinjo (*Gnetum gnemon*) dimana pemberian Thidiazuron hingga 0,3 mg/l mampu meningkatkan kemampuan tunas untuk bermultiplikasi (Yunita 2004). Hal yang sama juga di temui pada tanaman *Plumbago zeylanica* L bahwa pemberian Thidiazuron hingga 0,05 mg/l mampu meningkatkan kemampuan tunas untuk bermultiplikasi. Hal ini karena Thidiazuron memiliki kemampuan untuk menginduksi terjadinya proses pembelahan sel (Syahid & Kristina 2008).

Penggunaan BAP dan thidiazuron secara bersamaan mampu meningkatkan kemampuan tunas bermultiplikasi dari pada pemberian BAP atau Thidiazuron secara tunggal. Pada percobaan ini pemberian BAP dan thidiazuron yang optimum adalah pada konsentrasi 0,5 mg/l BAP dan 0,2 mg/l Thidiazuron dimana rerata tunas yang dihasilkan adalah 7,7 tunas. Penggunaan thidiazuron pada konsentrasi rendah akan lebih efektif apabila dikombinasi dengan BA, akan tetapi peningkatan konsentrasi BAP dan Thidiazuron cenderung menurunkan kemampuan tunas untuk bermultiplikasi, hal ini juga terjadi pada tanaman *Kigelia pinnata* dimana kemampuan multiplikasinya meningkat bila diberi Thidiazuron hingga 0,5  $\mu$ M dan bila konsentrasi terus

ditingkatkan maka kemampuan tunas untuk bermultiplikasi menjadi menurun (Thomas & Puthur 2004).

**C. Induksi perakaran.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian IBA secara umum mampu menginduksi pembentukan akar pada tunas *in vitro*. Dari Tabel 4, terlihat bahwa pemberian IBA yang terbaik untuk induksi perakaran adalah pada konsentrasi 1,0 mg/l. Pada konsentrasi tersebut mampu menghasilkan akar lebih banyak dengan nilai rata-rata 4,8 dan rata-rata panjang akar 2,6 cm. Peningkatan konsentrasi IBA lebih dari 1mg/l menurunkan kemampuan tunas untuk membentuk akar di samping itu akar yang dihasilkan lebih pendek. Menurut Davies (1993), Penambahan auksin pada konsentrasi tertentu pada media biakan mampu menginduksi pembentukan akar, Tetapi bila konsentrasi yang diberikan terlalu tinggi akan menghambat pembentukan akar tersebut. Penambahan auksin eksogen dalam konsentrasi tinggi pada media biakan akan menstimulasi diferensiasi jaringan pembuluh yang cepat, sehingga akan meningkatkan jumlah dan ukuran jaringan tersebut.

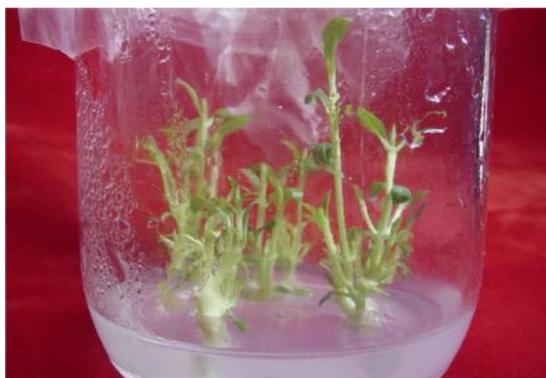
IBA merupakan ZPT jenis auksin yang umum digunakan untuk menginduksi perakaran tanaman secara *in vitro*. Pada tanaman sukun dalam waktu dua bulan eksplan yang ditanam pada WPM+3 mg/l IBA mampu membentuk akar dengan persentase perakaran 60% dan panjang akar 4,5 cm (Mariska *et al.* 2004). Pada tanaman Belimbing dewi tunas *in vitro* yang ditanam pada media  $\frac{1}{2}$  WPM+3 mg/l IBA persentase tunas yang berakar 80% dengan rerata

Tabel 3 Pengaruh formulasi media multiplikasi terhadap rerata jumlah tunas pada umur biakan minggu ke - 8

Perlakuan media (mg/l)	Rerata jumlah tunas
BAP 0 Thidiazuron 0,0	1,00 $\pm$ 0,00
BAP 0 Thidiazuron 0,1	3,50 $\pm$ 0,50
BAP 0 Thidiazuron 0,2	4,40 $\pm$ 0,48
BAP 0 Thidiazuron 0,3	4,60 $\pm$ 0,48
BAP 0,5 Thidiazuron 0,0	1,10 $\pm$ 0,30
BAP 0,5 Thidiazuron 0,1	4,70 $\pm$ 0,45
BAP 0,5 Thidiazuron 0,2	7,70 $\pm$ 0,45
BAP 0,5 Thidiazuron 0,3	7,50 $\pm$ 0,50
BAP 1, Thidiazuron 0,0	2,70 $\pm$ 0,45
BAP 1, Thidiazuron 0,1	4,80 $\pm$ 0,40
BAP 1, Thidiazuron 0,2	5,10 $\pm$ 0,30
BAP 1, Thidiazuron 0,3	4,90 $\pm$ 0,30

Tabel 4 Pengaruh konsentrasi IBA terhadap rerata jumlah akar dan rerata panjang akar umur biakan minggu ke - 8

Konsentrasi IBA (mg/l)	Rerata jumlah akar	Rerata panjang akar (cm)
0,0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
0,5	1,20 $\pm$ 0,27	1,10 $\pm$ 0,18
1,0	4,80 $\pm$ 0,16	2,60 $\pm$ 0,21
1,5	3,40 $\pm$ 0,16	2,14 $\pm$ 0,01
2,0	2,80 $\pm$ 0,16	1,92 $\pm$ 0,10
2,5	2,80 $\pm$ 0,12	1,70 $\pm$ 0,15
3,0	2,50 $\pm$ 0,20	1,64 $\pm$ 0,10



Gambar 3 Tunas yang di multiplikasi pada media MS + 0,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l Thi



Gambar 4 Akar yang dihasilkan pada media MS + 1 mg/l IBA

Tabel 5 Persentase tanaman yang hidup setelah berumur 7 minggu setelah aklimatisasi

Jenis media dasar	Persentase tanaman yang hidup
Kompos	25
Tanah	25
Kompos + Pasir	50
Tanah + Pasir	45
Kompos + Tanah	80
Kompos + tanah + pasir	40

jumlah akar 7,0 buah dan rerata panjang akar 4,2 cm (Suryati et al. 2004).

**D. Aklimatisasi tunas.** Aklimatisasi adalah suatu aktifitas atau kegiatan pemindahan tanaman dari lingkungan yang terkendali (*in vitro*) ke lingkungan mandiri (*eks vitro*). Planlet yang pertumbuhannya telah optimal dan memiliki perakaran sempurna dilakukan uji aklimatisasi pada berbagai media tumbuh.

Pada Tabel 5, dapat dilihat bahwa kemampuan planlet untuk tumbuh berkisar dari 25-80%, kemampuan tumbuh tertinggi yaitu 80%, Pada perlakuan kompos+tanah (perbandingan 1:1). Dengan menggunakan media kompos saja dan tanah saja kemampuan tumbuh tanaman sangat rendah yaitu 25%. Media aklimatisasi yang tepat untuk masing-masing tanaman hasil kultur jaringan berbeda-beda.

Semua planlet yang diaklimatisasi disungkup dengan gelas aqua plastik dengan tujuan untuk menciptakan tingkat kelembaban yang diinginkan. Kelembaban yang tinggi umumnya diperlukan bagi hampir semua tanaman yang berasal dari kultur jaringan karena lapisan kultikula pada daun masih tipis. Stomata belum berfungsi secara normal, serta hubungan jaringan pembuluh akar dan batang belum sempurna.

### SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa eksplan terbaik untuk induksi kalus adalah ruas batang *in vitro* yang dikulturkan pada media dasar MS + 0,3 mg/l BAP + 1 mg/l 2iP. Formulasi media terbaik untuk multiplikasi tunas adalah MS + 0,5 mg/l BAP + 0,1 mg/l Thidiazuron. Sedangkan untuk induksi perakaran formulasi media terbaik adalah MS + 1 mg/l IBA. Pada tahap aklimatisasi, media tanaman optimum yang di gunakan untuk proses ini adalah campuran Kompos + tanah dengan perbandingan 1:1.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih di sampaikan kepada seluruh peneliti dan teknisi di lingkup Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

### DAFTAR PUSTAKA

- Behera, K.K. & Sahoo, S.** 2009. Rapid *in vitro* micro propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) Through Callus Culture, *Nature and Science* **7(4)**: 1-10.
- Davies, P.J.** 1993. The plant hormone: their nature, occurrence and function, In: The plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology, first edition (ed. P. J. davies), kluwer acad. Pub. Pp 1-12.
- Hutami, S., Mariska, I. & Supriati, Y.** 2006. Peningkatan keragaman genetik tanaman melalui keragaman somaklonal, *Jurnal AgroBiogen* **2(2)**: 81-88.
- Kosir, P., Škof, S. & Luthar, Z.** 2004. Direct shoot regeneration from nodes of *Phalaenopsis* orchids, *Acta agriculturae slovenica* **83(2)**: 233-242.
- Lee, S.W.** 2010. Micropropagation of cavendish banana in taiwan. *FFTC Publication* . 54 pp
- Lestari, E.G. & Mariska, I.** 2011. Perbanyakan dan pentimapan tanaman *Rauwolfia serpentina* secara *in vitro*. *Buletin plasma nutfah* **7(1)**: 40-45.
- Mariska, I., Suryati, Y. & Hutami, S.** 2004. Mikropropagation sukun (*Artocarpus communis* Forst). Kumpulan makalah seminar hasil penelitian BB-biogen. BB-biogen. Bogor. 180-187.
- Murashige, T. & Skoong, F.** 1962. A revised medium for rapih growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol.Plant* **15**: 473-493.
- Prasetyorini.** 2000. *Preservasi Rauwolfia serpentina* Benth. Ex. Kurz. (Pulai Pandak) melalui teknik kultur *in vitro*. Disertasi. IPB. Bogor. 105 hal
- Rohayati.** 2003. Aplikasi organogenesis dan embriogenesis untuk perbanyakan bibit melon (*Cucumis melo* L.) cv. Japanese. Prosiding Seminar Teknologi untuk Negeri 2003.
- Sudiarto, A., Rusli, S., Chairani, F., Moko, H. & Januwati, N.M.** 1985. Tiga puluh tahun penelitian tanaman obat: Seri pengembangan 5. Departemen Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.
- Supriyati, Y., Mariska, I., Husni, A. & Hutami, S.** 2004. Inisiasi dan Perkembangan perakaran serta aklimatisasi belimbing dewi (*Averrhoa carambola* L). Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen. BB-Biogen. Bogor. 189-193.
- Singh, P. Singh, A., Shukla, A., Singh, L., Pande, V. & Nailwal, T.** 2009. Somatic embryogenesis and *in vitro* regeneration of an endangered medicinal plant sarpgandha (*Rauwolfia serpentina* L). *J.Exp Biol* **6(3)**: 74-79
- Syahid, S.F. & Kristina, N.N.** 2008. Multiplikasi tunas, aklimatisasi dan analisis mutu simplisia daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) asal kultur *in vitro* periode panjang. *Bul. Litro.* **XIX(2)**: 117-128.
- Thomas, T.D. & Puthu, J.T.** 2004. Thidiazuron induced high frequency shoot organogenesis in callus from *Kigelia pinnata* L. *Bot.Bull. Acad.Sin* **45**: 307-313.
- Yahya, A. & Fadly.** 2001. Pertumbuhan, Biomassa dan Kandungan Alkaloid Akar Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina* Benth.) Hasil Kultur *In vitro*. <http://repository.ipb.ac.id>
- Yunita, R.** 2004. Multiplikasi tunas melinjo (*Gnetum gnemon*) secara *in vitro*. *Jurnal Sagu* **3(1)**: 1-8.