



Pengaruh Kombinasi *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan *Napthalene Acetic Acid* (NAA) terhadap Pertumbuhan Pule Pandak (*Rauvolfia Serpentine*) Secara *In Vitro*

Salwa Salsabila¹, Dinar Mindrati Fardhani^{1*}, Edhi Sandra²

¹Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

²Esha Flora Plants and Tissue Culture

*Email: dinar@unisayogya.ac.id

Abstrak

Keywords:
kultur jaringan tumbuhan tanaman obat; hormon tanaman; sitokinin; auksin

Pule pandak (Rauvolfia serpentina) merupakan spesies tumbuhan hutan tropika yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Akar pule pandak memiliki beberapa alkaloid yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Saat ini kebutuhan tanaman pule pandak terus meningkat, hal ini menyebabkan pule pandak semakin langka. Oleh karena itu diperlukan adanya upaya bioteknologi untuk memecahkan masalah ini, dengan metode kultur *in vitro*. Optimasi media dalam kultur jaringan sangat diperlukan untuk mempercepat pertumbuhan, salah satu cara untuk mengoptimasi media kultur jaringan yaitu dengan menambahkan zat pengatur tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hormon zat pengatur tumbuh Benzylaminopurine (BAP) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) yang paling optimal pada pertumbuhan tanaman pule pandak. Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan terdiri dari MS0 (Kontrol), A (BAP 0,5ml/L + NAA 0,25ml/L), B (BAP 0,5ml/L + NAA 0,5ml/L), C (BAP 1ml/L + NAA 0,25ml/L), D (BAP 1ml/L + NAA 0,5ml/L), E (BAP 1,5ml/L + NAA 0,25ml/L), F (BAP 1,5ml/L + NAA 0,5ml/L) yang diulang sebanyak tiga kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan media MS dengan pemberian hormon BAP dan NAA mampu memberikan respons terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan pule pandak dan berdasarkan hasil statistik pada penelitian ini kombinasi perlakuan berpengaruh nyata, namun tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan percobaan yang telah diujikan. Sehingga konsentrasi terbaik dalam pertumbuhan pule pandak ini juga belum diketahui karena waktu inkubasi yang singkat. Pertumbuhan tertinggi pada tinggi tanaman dihasilkan pada kombinasi perlakuan E, kemudian pertumbuhan jumlah daun pada perlakuan B dan pada pertumbuhan tunas, masing masing perlakuan responsif, hampir seluruh perlakuan dan ulangan terdapat pertumbuhan tunas namun pertumbuhannya sangat rendah.

1. PENDAHULUAN

Pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) merupakan spesies tumbuhan hutan tropika yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat [1], salah satu famili *Apocynaceae* [2]. Tanaman ini hidup secara endemik di bawah naungan pohon jati [3]. Bagian tanaman pule pandak yang sering digunakan adalah bagian akar, karena

memiliki kandungan senyawa metabolit terbanyak dibandingkan dengan bagian lainnya. Beberapa diantaranya seperti reserpine, ajmaline, ajmalicine, ajmalinine, serpentine, yohimbine, rescinnamine dan lain lain. Akar pule pandak digunakan untuk mengobati penyakit neuropsikiatri, tekanan darah tinggi, insomnia, epilepsi, kelainan jantung dan sebagai penangkal



gigitan hewan beracun seperti gigitan ular dan serangga [4]. Tanaman ini berasal dari daerah tropis dan subtropis di dunia, termasuk Eropa, Afrika, Asia, Australia, dan Amerika Tengah dan Selatan. *Rauwolfia serpentina* berasal dari hutan lembab dan gugur di Asia Tenggara, termasuk India, Burma, Bangladesh, Sri Lanka, Malaysia [5] dan juga Indonesia. Sebaran tanaman pule pandak di Indonesia terbanyak ditemukan di pulau Jawa. Budidaya pule pandak di Indonesia banyak ditemukan di kawasan hutan jati kering seperti di Kabupaten Grobogan, Blora dan Banjarnegara [6]. Tanaman ini biasanya tumbuh setinggi 60-90 cm, dengan daun hijau muda berbentuk lonjong atau lanset, panjang 7-10 cm dan lebar 3,5-5,0 cm, buahnya bulat, mengkilat, hitam atau ungu, dan bunganya kecil berwarna merah muda atau putih, serta akar menonjol dan halus dengan panjang 30-50 cm dan diameter 1,2-2,5 cm [5]. Pemanenan pule pandak biasanya dilakukan pada musim kemarau. Saat ini penghasil akar pule pandak utama dunia adalah Thailand, meskipun kualitasnya masih dibawah India dan Pakistan [6].

Pule pandak telah dinyatakan langka karena pengambilannya secara langsung dan terus menerus di habitatnya [3]. Selain itu bagian akar pada tanaman ini sulit diperbanyak secara konvensional dan persebarannya terbatas, pertumbuhan biji yang kurang dari 15% menyebabkan penyediaan bibit tanaman pule pandak menjadi terbatas. Persentase tumbuh yang rendah ini disebabkan karena biji bertempurung keras, sehingga daya kecambah juga sangat rendah [2]. Selain menggunakan biji perbanyakan secara konvensional juga dapat dilakukan melalui pencangkakan, namun pencangkakan dapat dilakukan pada umur tanam 5-7 bulan dan hanya dapat dilakukan pada tanaman yang mempunyai percabangan yang banyak [6]. Oleh karena itu diperlukan upaya bioteknologi yang dapat memecahkan masalah ini, salah satunya adalah dengan kultur jaringan *in vitro*.

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman

seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ dengan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh. Teknik kultur jaringan menekankan lingkungan yang sesuai agar eksplan dapat tumbuh dan berkembang. Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan memungkinkan perbanyakan tanaman dalam skala/jumlah yang besar dalam waktu yang relatif lebih cepat dengan hasil yang seragam, tidak membutuhkan tempat yang luas, dan tidak tergantung oleh cuaca/musim [7].

Optimasi media dalam kultur jaringan sangat diperlukan untuk mempercepat pertumbuhan tanaman. Salah satu cara untuk mengoptimasi media kultur jaringan yaitu dengan perlakuan zat pengatur tumbuh [8]. Zat Pengatur Tumbuh merupakan senyawa organik non nutrisi pada tumbuhan yang aktif bekerja dalam merangsang, menghambat dan perkembangan tumbuhan pada konsentrasi tertentu [9]. Kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas [8]. Sitokin dapat menstimulasi pembelahan sel dan mempengaruhi lintas diferensiasi, sedangkan auksin akan menstimulasi pertumbuhan sel untuk memanjang dengan mengikat reseptor di dalam membran plasma [10].

Hormon tumbuh *6-Benzylaminopurine* (BAP) merupakan salah satu dari golongan sitokinin dan mempunyai aktivitas fisiologis yang tinggi. Bersifat stabil dan tahan terhadap oksidasi karena memiliki ikatan rangkap jenuh, efektif merangsang pembentukan tunas, pembentukan kalus dan pertumbuhan tunas serta daun pada kultur eksplan [11]. Selain itu BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya yang relatif lebih murah sehingga lebih sering digunakan dibandingkan jenis sitokinin lain [12].

Naphthalene Acetic Acid (NAA) merupakan auksin sintetik yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempunyai sifat lebih stabil daripada jenis auksin lainnya, tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan



pada proses sterilisasi [13] dan jika dikombinasikan dengan hormon lain, kinerjanya tidak akan mempengaruhi kinerja hormon lain pada tumbuhan tersebut [9].

Pada penelitian Ihsan et al., (2019) [14], pemberian BAP 2mg/L dan NAA 0,75mg/L memberikan pengaruh paling baik pada pembentukan kalus pada 14 Hari setelah tanam dengan 2 jumlah kalus yang terbentuk pada eksplan tanaman. Pada penelitian ini juga bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi terbaik dengan mengkombinasikan BAP dan NAA dalam media MS pada pertumbuhan tanaman pule pandak melalui kultur *in vitro*. Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat dihasilkan pertumbuhan pule pandak yang lebih cepat sehingga menghasilkan bibit yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan bahan baku obat.

2. METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan dalam Esha Flora Plants and Tissue Culture, Bogor. Dimulai pada tanggal 18 Januari 2021 – 22 Februari 2021. Tahapan penelitian ini terdiri dari 1) Persiapan alat dan bahan, 2) Sterilisasi Alat dan Bahan, 3) Pembuatan Media, 4) Penanaman Eksplan, 5) Analisis dan Parameter Pengamatan.

2.1. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain; Autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), timbangan analitik, timbangan meja, spatula, panci, pipet, tabung ukur, gelas ukur, botol kultur/botol asi, tissue, pinset, *scalpel*, *pippet filler*, bunsen, kapas, koran, aluminium foil, plastik ukuran 10 × 10 cm, plastik ukuran 40 × 35 cm, karet dan label.

Bahan yang akan digunakan pada penelitian PKL ini antara lain; Akuades, akuades steril, eksplan pule pandak yang berasal dari koleksi laboratorium Esha Flora, hormon BAP, hormon NAA, detergen, bayclin, alkohol 70%, iodine dan, Bahan penyusun Media MS.

2.2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan media seperti botol, direndam menggunakan detergen dan bayclin pada bak yang sudah terisi air dan chlorox selama 1 jam, kemudian dicuci bersih menggunakan detergen dengan menggosokkan kayu spons, kemudian dibilas dengan air mengalir dan diletakkan dengan posisi terbalik pada autoklaf.

Peralatan penanaman yang digunakan seperti cawan petri/petridish, *scalpel* dan pinset dicuci menggunakan detergen hingga bersih, dibilas menggunakan air mengalir, dikeringkan dengan tissue, dan dibungkus dengan koran. Botol-botol dan peralatan tanam tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama ± 1 jam.

2.3. Pembuatan Media

Pada penelitian ini digunakan media MS dengan penambahan dua macam zat pengatur tumbuh, yaitu NAA dari golongan auksin dan BAP dari golongan sitokinin.

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah Media MS Stok dengan penambahan vitamin, myo inositol, agar, gula, glisin, peptone, ppm dan ZPT (BAP dan NAA), Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan antara lain:

- MS0 : Kontrol
- A : BAP 0,5ml/L + NAA 0,25ml/L
- B : BAP 0,5ml/L + NAA 0,5ml/L
- C : BAP 1ml/L + NAA 0,25ml/L
- D : BAP 1ml/L + NAA 0,5ml/L
- E : BAP 1,5ml/L + NAA 0,25ml/L
- F : BAP 1,5ml/L + NAA 0,5ml/L

Masing masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan dengan takaran masing masing kombinasi sebanyak 1 liter. Media MS dibuat sebanyak 2 liter, kemudian ditambahkan dengan kombinasi zpt dan dihomogenkan dengan dimasak/direbus menggunakan panci pada kompor hingga mendidih, setiap perlakuan masing dibagi menjadi 200 ml, media diatur pada pH netral lalu dituang dalam botol steril ± 20 ml, lalu ditutup menggunakan plastik berukuran 10 × 10 cm yang kemudian diberikan karet sebagai pengencang. Media kultur kemudian disterilkan menggunakan

autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit. Setelah di steril, media dikeluarkan dan dicek ada tidaknya plastik yang bolong, kemudian dikencangkan dan tambahkan karet untuk mengurangi kontaminasi pada media, kemudian botol-botol yang telah diisi media masukan dan disusun pada plastik yang sudah disemprotkan alkohol sebelumnya. Media disimpan dalam rak pada ruangan selama 3-7 hari untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi [15].

2.4. Penanaman Eksplan

Selanjutnya eksplan ditanam pada media, penanaman dilakukan pada LAF yang sudah steril dengan media dan peralatan yang juga sudah disterilisasi menggunakan autoklaf. Bagian eksplan yang ditanam berupa ujung/pucuk \pm 1-2 cm, kemudian eksplan diinkubasi selama 14 hari.



Gambar 1. Eksplan Pule Pandak

2.5. Analisis dan Parameter Pengamatan

Percobaan ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dianalisis menggunakan aplikasi pengolahan data RStudio berupa uji analisis satu arah (*one way ANOVA*) pada taraf signifikansi 5%, jika hasil yang didapat berbeda nyata, dilanjutkan dengan Uji Duncan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan percobaan. Perlakuan diulang sebanyak 2 kali, pengamatan dilakukan pada hari pertama tanam dan hari ke 14 setelah tanam, kemudian dihitung

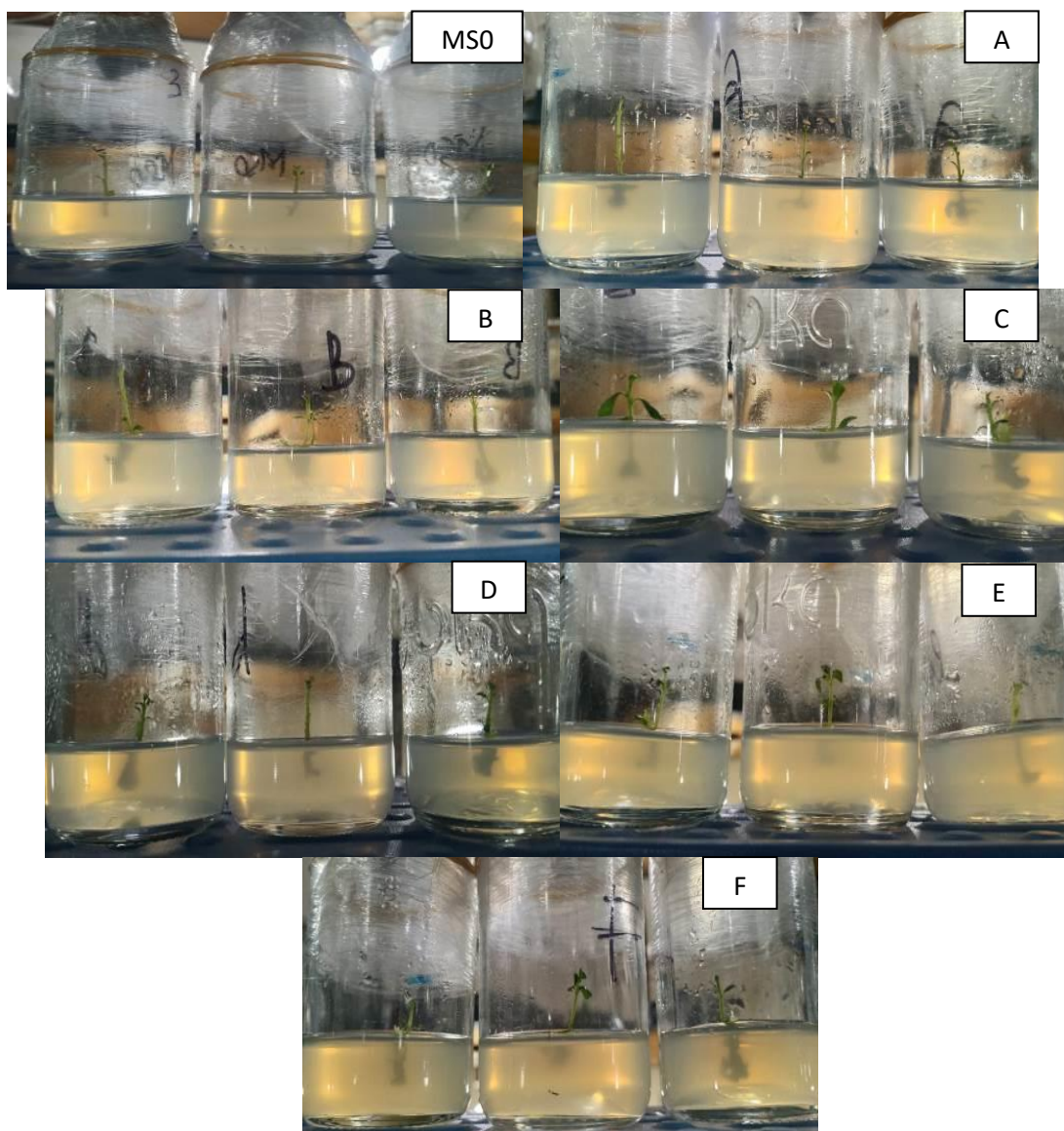
selisihnya, Parameter pengamatan yang diamati antara lain: tinggi tanaman, jumlah daun dan pertumbuhan tunas. Analisis ragam anova dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati dan ada tidaknya pengaruh interaksi antar faktor [15].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberhasilan penelitian kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh eksplan yang mati atau adanya kontaminasi. Pertumbuhan eksplan ini diamati secara visual, seperti pertambahan panjang eksplan, jumlah daun dan pertumbuhan tunas.

Menurut Basri, (2016) [16], Pertumbuhan dan perkembangan eksplan melambat ketika ruang kultur berada di bawah suhu optimum, dan di atas suhu optimum, laju respirasi yang tinggi menghambat pertumbuhan tanaman. Sedangkan kelembaban relatif dalam botol kultur berkisar antara 80-99% dan jika mulut botol ditutup agak longgar kelembabannya akan lebih rendah dari 80%. Kelembaban relatif di ruang kultur umumnya sekitar 70%, jika kelembaban di bawah 70% maka dapat mengakibatkan cepatnya penguapan dan pengeringan pada media dalam botol kultur sehingga eksplan dan planlet yang dikulturkan akan kehabisan unsur hara. Kelembaban udara yang terlalu tinggi juga menyebabkan tanaman tumbuh abnormal, seperti daunnya yang lemah, mudah patah, tanaman menjadi kerdil. Kuantitas dan kualitas cahaya, lama penyinaran dan panjang gelombang cahaya juga mempengaruhi pertumbuhan eksplan, umur eksplan juga sangat berpengaruh terhadap kemampuan eksplan tersebut untuk tumbuh dan beregenerasi.

Dari hasil inkubasi selama 14 hari (Gambar 1) pemberian media MS dengan kombinasi BAP dan NAA secara keseluruhan mampu memberikan respons terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan pule pandak.



Gambar 2. Pertumbuhan Tanaman Pule Pandak pada Media MS dengan Kombinasi BAP dan NAA

3.1 Pengaruh Hormon BAP dan NAA Terhadap Tinggi Plantlet

Tinggi tanaman adalah ukuran tanaman yang biasanya diamati sebagai parameter/indikator pengamatan, dan digunakan untuk menyesuaikan pengaruh perlakuan yang dilakukan. Selain itu juga merupakan ukuran pertumbuhan yang paling mudah dilihat. Peningkatan pertumbuhan tinggi eksplan disebabkan oleh dua proses yaitu reseksi dan elongasi [17].

Hasil analisis ragam (Tabel 1) dapat diketahui bahwa nilai p-value lebih besar dari taraf 5% atau 0,05. Sehingga

dapat diartikan bahwa perlakuan media MS dengan kombinasi BAP dan NAA tidak berbeda nyata atau tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tinggi tanaman pule pandak, sehingga tidak dilakukannya uji lanjut DMRT.

Kombinasi BAP dan NAA berpengaruh rendah terhadap tinggi tanaman pule pandak. Namun pertumbuhan tinggi tanaman yang paling baik dihasilkan pada kombinasi perlakuan E (BAP1,5+NAA0,25) yaitu dengan rata rata sebesar 0,2667. pertumbuhan tinggi tanaman yang terendah ada pada perlakuan C (BAP1+NAA0,25) dengan rata rata



sebesar 0,667.

Tabel 1. Hasil Uji Anova Pengaruh Pertumbuhan Tinggi terhadap Tanaman Pule Pandak

Sumber	Derajat	Jumlah	Kuadrat	F-Hitung	P-Value
Keagaman	Bebas (db)	Kuadrat (JK)	Tengah (KT)		
Perlakuan	6	0,07238	0,012063	1,407	0,279
Galat	14	0,12000	0,008571		
Total	20	0,19238			

Hal ini dikarenakan Auksin dalam konsentrasi rendah akan menstimulasi perbesaran dan perpanjangan sel setelah terjadinya pembelahan sel yang distimulir oleh sitokinin [18].

Menurut Hartati *et al.*, (2016) [17], Akar dapat menyerap nutrisi yang berada dalam media kultur, sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan tanaman termasuk juga pertambahan tinggi. Akar juga dapat mensintesis sitokinin sehingga kandungan sitokinin didalam tanaman menjadi meningkat. Sehingga peningkatan level sitokinin ini dapat meningkatkan pertambahan tinggi.

Kombinasi antara sitokinin dan auksin pada media MS yang digunakan sangat mempengaruhi tinggi eksplan yang dihasilkan, semakin tinggi taraf sitokinin yang diberikan juga dapat menghambat pertumbuhan eksplan. Selain itu persaingan antara auksin eksogen dan endogen untuk mendapatkan kedudukan penerima sinyal membran sel juga dapat memicu terjadinya terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan sel [19].

3.2 Pengaruh Hormon BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan Tunas

Dalam perbanyakan kultur jaringan, multiplikasi yang dilakukan bertujuan untuk perbanyakan tunas. Jumlah tunas yang tumbuh dapat diindikasikan sebagai keberhasilan dalam kegiatan kultur jaringan [19]. Pertumbuhan tunas merupakan salah satu faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur *in vitro*. Semakin banyak tunas yang terbentuk, semakin banyak peluang

didapatkannya calon tanaman baru. Eksplan yang ditanam pada media dengan masing masing konsentrasi hormon, secara keseluruhan mampu membentuk tunas baru.

Menurut Wijayani *et al.*, (2007) [20], Kombinasi perlakuan sitokinin dan auksin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Perbedaan jumlah tunas yang terbentuk pada tiap perlakuan dipengaruhi oleh kombinasi auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang berbeda. Pemberian hormon pada media kultur menyebabkan pembelahan sel pada awal mula pertumbuhan tanaman kultur berjalan lambat, akan tetapi populasi sel tetap dijaga dan kemudian jumlahnya ditingkatkan.

Hal ini juga menunjukkan bahwa eksplan yang ditanam sangat responsif terhadap perlakuan yang diberikan walaupun masa inkubasi hanya 14 hari. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gardner *et al.*, (1991) [21] yang menyatakan bahwa jaringan steril dalam media akan mulai membentuk kalus setelah berumur 2 sampai 3 minggu.

Hasil analisis ragam (Tabel 2) dapat dapat diketahui bahwa nilai P-Value lebih kecil dari taraf 5% atau 0,05. Sehingga dapat diartikan bahwa perlakuan media MS dengan kombinasi BAP dan NAA berbeda nyata atau minimal ada satu perlakuan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tunas tanaman pule pandak, sehingga harus dilakukan uji lanjut DMRT.



Tabel 2. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Pertumbuhan Tunas terhadap Tanaman Pule Pandak

Sumber Keagaman Perlakuan	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung	P-Value
Galat	6	2.476	0.4127	4.333	0.0112
Total	14	1.333	0.0952		
	20	3.809			

Tabel 3. Hasil Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) Pengaruh Pertumbuhan Tunas terhadap Tanaman Pule Pandak

NAA	BAP				DMRT
	0	0,5	1	1,5	
0	0.000 ^a	-	-	-	0.1621 0.1698
0,25	-	1.000 ^a	1.000 ^a	1.000 ^a	0.1747 0.1779
0,5	-	0.667 ^a	0.667 ^a	1.000 ^a	0.1802 0.1819

Ket: Angka angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada uji DMRT taraf 5%

Kombinasi BAP dan NAA berpengaruh rendah, pertumbuhan tunas pule pandak tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Semakin tinggi konsentrasi BAP yang digunakan, semakin cepat tunas akan terbentuk. Penambahan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi memberikan pengaruh yang baik terhadap pembentukan tunas. Sitokinin sangat berperan dalam pembelahan dan diferensiasi sel dan jaringan. BAP dapat merangsang sel dan media kultur untuk memacu menyerap air, sehingga sintesis protein dan pembelahan sel dapat bekerja secara normal. Pembentukan tunas juga sangat dipengaruhi oleh sejumlah fitohormon auksin yang terdapat pada tanaman, namun umumnya dibutuhkan dalam jumlah atau konsentrasi yang rendah [22].

Hormon sitokinin dan auksin dalam medium, serta pengaruhnya terhadap jenis tanaman dan komposisi medium yang seimbang, sangat berpengaruh terhadap pembentukan tunas yang diperoleh. Keseimbangan yang tepat antara sitokinin dan auksin akan menyebabkan pembelahan dan pembesaran sel berlangsung dengan cepat, dan akan menghasilkan sejumlah besar tunas baru [19].

3.3 Pengaruh Hormon BAP dan NAA Terhadap Jumlah Daun

Pengamatan pada daun sangat diperlukan sebagai indikator pertumbuhan, semakin banyak daun yang muncul pada eksplan, mengindikasikan pertumbuhan eksplan yang lebih baik. Hal ini berkaitan dengan kemampuan tanaman untuk melakukan proses fotosintesis dan berbagai metabolisme tubuh lainnya. Gardner et al., (1991) [21] menyatakan bahwa senyawa nitrogen yang terkandung pada sitokinin berperan dalam proses sintesis asam-asam amino dan protein yang selanjutnya digunakan untuk berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan, diantaranya untuk memacu pembentukan daun-daun. Dari hasil pengamatan selama 2 minggu, eksplan yang ditanam pada media dengan masing masing kombinasi ZPT, secara keseluruhan bersifat responsif terhadap perlakuan yang diberikan dengan hampir seluruh perlakuan dan ulangan terdapat pertumbuhan daun.

Hasil analisis ragam (Tabel 4) dapat dapat diketahui bahwa nilai P-Value lebih kecil dari taraf 5% atau 0,05. Sehingga dapat diartikan bahwa perlakuan media MS dengan kombinasi BAP dan NAA berbeda



Tabel 4. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Jumlah Daun terhadap Tanaman Pule Pandak

Sumber Keagaman Perlakuan	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung	P-Value
	6	102.48	17.079	6.405	0.00205
Galat	14	37.33	2.667		
Total	20	139,81			

Tabel 5. Hasil Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) Pengaruh Jumlah Daun terhadap Tanaman Pule Pandak

NAA	BAP				DMRT
	0	0,5	1	1,5	
0	0.333 ^b	-	-	-	2.8597 2.9965
0,25	-	5,333 ^a	1.000 ^b	0.000 ^b	3.0809 3.1380
0,5	-	5.667 ^a	0.667 ^b	1.667 ^b	3.1786 3.2083

Ket: Angka angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada uji DMRT taraf 5%

Berdasarkan Tabel 5, setelah dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf 5% hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang berbeda nyata antar perlakuan percobaan yang telah diujikan. Kombinasi BAP dan NAA berpengaruh terhadap tinggi tanaman pule pandak pada perlakuan B dengan kombinasi (BAP0,5+NAA0,5) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pertumbuhan jumlah daun yang paling tinggi dihasilkan pada kombinasi perlakuan B dengan rata rata sebesar 5,67 (BAP0,5+NAA0,25), hal ini juga dapat dikarenakan adanya bakal daun yang akan tumbuh pada eksplan sebelum proses subkultur tanaman dan pada kombinasi pertumbuhan jumlah daun terendah ada pada perlakuan E (BAP1,5+NAA0,25), tidak terdapat penambahan/pertumbuhan jumlah daun pada kombinasi ini, hal ini diduga karena kemungkinan hormon ZPT dengan konsentrasi ini tidak cocok dan tanaman kurang responsif terhadap pertumbuhan jumlah daun. Menurut Budiangga et al., (2019) [18], Peningkatan jumlah daun juga dipengaruhi karena peningkatan jumlah tunas, diduga pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi tinggi,

tanaman sudah tidak responsif. Kandungan sitokinin dalam jaringan yang sangat tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Paramartha et al., (2012) [12] Pertumbuhan jaringan dapat terhambat dikarenakan efek penambahan hormon auksin dengan konsentrasi yang tinggi, hal dikarenakan adanya persaingan dengan auksin endogen untuk mendapatkan tempat reseptor sinyal membran sel. Sehingga hormon pertumbuhan eksogen tidak mempengaruhi pertumbuhan atau perkembangan sel.

4 KESIMPULAN

Dari hasil pengamatan pada penelitian ini, dapat disimpulkan Keefektifan penggunaan kombinasi zpt yang paling efektif terhadap pemberian perlakuan terhadap tanaman pule pandak ini belum diketahui, hal ini dikarenakan waktu inkubasi yang belum cukup untuk mengamati proses pertumbuhan tanaman pule pandak.

Pada penambahan zat pengatur tumbuh pada pertumbuhan tanaman pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) ini



berpengaruh nyata dan mampu mempengaruhi pertumbuhan eksplan, namun pada hasil dari penelitian ini didapatkan tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan percobaan yang telah diujikan.

Adapun saran-saran untuk penelitian selanjutnya yaitu pada penelitian ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut, karena waktu inkubasi yang kurang selama 14 hari, penambahan waktu masa inkubasi ini agar menghasilkan multiplikasi tunas yang optimal pada media tumbuh. Kemudian perlu adanya penelitian lanjutan tentang kombinasi ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) untuk mengamati tingkat pertumbuhan tanaman agar memperoleh eksplan dengan multiplikasi terbaik dengan perlakuan penambahan kombinasi hormon BAP dan NAA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada dosen pembimbing, bapak/ibu pembimbing di Esha Flora Plants and Tissue culture atas kerja samanya dalam penelitian ini, juga para staf dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] H. Sugito, Y. Santosa, and E. Sandra, "Penggunaan Thidiazuron, 2, 4 - D dan Giberellin dalam pembentukan embrio somatik pule pandak (*Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) melalui kultur in vitro," *Media Konserv.*, vol. 11, no. 2, pp. 66–71, 2006, doi: 10.29243/medkon.11.2.%p.
- [2] R. Yunita, E. Endang, and G. Lestari, "Perbanyak Tanaman Pulau Pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) dengan Teknik Kultur Jaringan," *J. Natur Indones.*, vol. 14, no. 1, pp. 68–72, 2011, doi: 10.31258/jnat.14.1.68-72.
- [3] Sulandjari, "Hasil Akar dan Reserpina Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina* Benth.) pada Media Bawah Tegakan Berpotensi Alelopati dengan Asupan Hara," *Biodiversitas J. Biol. Divers.*, vol. 9, no. 3, pp. 180–183, 2008, doi: 10.13057/biodiv/d090306.
- [4] A. Dey *et al.*, "Methyl jasmonate and salicylic acid elicit indole alkaloid production and modulate antioxidant defence and biocidal properties in *Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz. in vitro cultures," *South African J. Bot.*, vol. 135, pp. 1–17, 2020, doi: 10.1016/j.sajb.2020.07.020.
- [5] D. Lobay, "Rauwolfia in the Treatment of Hypertension," *Integr. Med. A Clin. J.*, vol. 14, no. 3, p. 40, 2015.
- [6] W. Haryudin, "Manfaat Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina*) Sebagai Tanaman Obat," *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, vol. 19, no. 3, pp. 21–24, 2013.
- [7] V. Nofrianinda, F. Yulianti, and E. Agustina, "Pertumbuhan Planlet Stroberi (*Fragaria ananassa* D) Var. Dorit pada Beberapa Variasi Media Modifikasi In Vitro di Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO)," *J. Trop. Biol.*, vol. 1, no. 1, pp. 32–50, 2018, doi: 10.29080/biotropic.2017.1.1.32-41.
- [8] D. Widiastoety, "Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Angrek Mokara," *J. Hortik.*, vol. 24, no. 3, pp. 230–238, 2016, doi: 10.21082/jhort.v24n3.2014.p230-238.
- [9] R. Asra, R. A. Samarina, and M. Silalahi, *Hormon Tumbuhan*, vol. 53, no. 9, 2020.
- [10] I. R. Dewi, "Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman," *Makalah*, pp. 1–43, 2008.
- [11] Rustam, R. Syamsuddin, E. Soekandarsih, and D. D. Trijuno, "Studi Penggunaan Zat Tumbuh BAP terhadap Pembentukan Tunas dan Pertumbuhan Mutlak Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*, Doty)," *Pros. Sumpos. Nas. VII Kelaut. dan Perikan. 2020*, pp. 21–30, 2020.
- [12] A. I. Paramartha, D. Ermavitalini, and S. Nurfaidah, "Pengaruh Penambahan Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium Taurulinum* J.J Smith Secara In Vitro



- Aisya,” *J. Sains dan Seni ITS*, vol. 1, no. 1, pp. 40–43, 2012.
- [13] Mardhiyetti, Z. Syarif, N. Jamarun, and I. Suliansyah, “Pengaruh Benzil Adenin Purin (BAP) dan Naphthalen Acetic Acid (NAA) terhadap eksplan tanaman turi (*Sesbania grandiflora*) dalam media multiplikasi in vitro,” *Pastura*, vol. 5, no. 1, pp. 35–38, Sep. 2015, doi: 10.24843/pastura.2015.v05.i01.p13.
- [14] E. M. Ihsan, A. Aufa, and L. Chaidir, “Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Benzyl Amino Purin (BAP) Dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) Terhadap Pertumbuhan Pule Pandak (*Rauvolfia Serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) Secara In Vitro,” *Pros. Semin. Nas. Agroteknologi*, pp. 711–719, 2019.
- [15] R. Kartiman, D. Sukma, S. I. Aisyah, and A. Purwito, “Multiplikasi in vitro anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada perlakuan kombinasi NAA dan BAP,” *J. Bioteknol. Biosains Indones.*, vol. 5, no. 1, pp. 75–87, Jun. 2018, doi: 10.29122/jbbi.v5i1.2908.
- [16] A. H. H. Basri, “Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus,” *Agro Biog.*, vol. 10, no. 6, pp. 64–73, 2016.
- [17] S. Hartati, A. Budiyo, and O. Cahyono, “Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur anggrek hasil persilangan *Dendrobium biggibum* X *Dendrobium liniale*,” *Caraka Tani J. Sustain. Agric.*, vol. 31, no. 1, pp. 33–37, 2016, doi: 10.20961/carakatani.v31i1.11938.
- [18] M. P. Budiangga, E. Nurcahyani, and M. Lulus, “Kombinasi konsentrasi BAP dan NAA terhadap pertumbuhan Umbi Lili (*Lilium longiflorum* Thunb) Kultivar Tomohon Secara In Vitro,” vol. 1, pp. 1–8, 2019.
- [19] H. Lydianthy and E. Nihayati, “Pengaruh Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Presentase Tumbuh Bahan Tanam Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) secara in vitro,” *J. Produksi Tanam.*, vol. 7, no. 10, pp. 1878–1884, 2019.
- [20] Y. Wijayani, Solichatun, and W. Mudyantini, “Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi Protocorm Like Body Anggrek *Grammatophyllum scriptum* dengan Pemberian Kinetin dan NAA,” *Bioteknologi*, vol. 4, no. 2, pp. 33–40, 2007, doi: 10.13057/biotek/c040201.
- [21] F. P. Gardner, R. B. Pearce, and R. L. Mitchell, *Fisiologi tanaman budidaya*. 1991.
- [22] Mardiyah, Z. Basri, R. Yusuf, and Hawalina, “Pertumbuhan tunas anggur hitam (*Vitis vinifera* L.) pada berbagai konsentrasi Benzylamino Purin dan Indolebutyric Acid,” *J. Agrol.*, vol. 24, no. 3, pp. 181–189, May 2017.